

**Az aszimmetrikus dimetilarginin szerepe a nitrogén-monoxid út  
vizsgálatában**

**Doktori (PhD) értekezés**

Dr. Németh Balázs

Doktori Iskola vezetője:

Prof. Dr. Kovács L. Gábor

Programvezető:

Prof. Dr. Kiss István

Témavezetők:

Prof. Dr. Kiss István

Dr. Ajtay Zénó



Pécsi Tudományegyetem

2019

# TARTALOMJEGYZÉK

Ábrajegyzék

Táblázatjegyzék

Rövidítések jegyzéke

I. Bevezetés	1
I.1. Általános bevezető	1
I.2. Klasszikus rizikófaktorok	2
I.2.1. Magas vérnyomás – a csendes gyilkos	2
I.2.2. Cukorbetegség - Diabetes mellitus	3
I.2.3. Dohányzás, avagy a teljesen elkerülhető kardiovaszkuláris rizikófaktor	3
I.2.4. Hiperkoleszterinémia	4
I.2.5. Fizikai inaktivitás	4
I.2.6. Elhízás	5
I.3. Rizikóbecslés	5
I.4. ADMA pathofiziológiája	8
I.4.1. ADMA kémiája	8
I.4.2. ADMA és az oxidatív stressz	9
I.4.3. Nitrogén-monoxid, az anti-aterogén molekula	10
I.4.4. Szabadgyökök és a nitrogén-monoxid	11
I.4.5. ADMA és az endotél diszfunkció	12
I.4.6. Az ADMA koncentrációjának gyógyszeres befolyásolása	14
I.5. Irodalmi áttekintés: ADMA prediktív értéke a kardiovaszkuláris betegségekben és gyulladós betegségekben	16
I.5.1. ADMA és a koronária betegség	16
I.5.2. ADMA és a szepszis	17
II. Célkitűzések	18
III. Anyagok és módszerek	19
III.1. ADMA és a szepszis	19
III.2. ADMA változása CO <sub>2</sub> kezelés hatására	20
III.3. ADMA referenciatartománymeghatározás	21
IV. Eredmények	23
IV.1. ADMA és a szepszis	23
IV.2. ADMA változása CO <sub>2</sub> kezelés hatására	28

IV.3. ADMA referenciatartomány meghatározás	30
V. Megbeszélés	34
V.1. ADMA és a szépszis	34
V.2. ADMA változása CO <sub>2</sub> kezelés hatására	35
V.3. ADMA referenciatartomány meghatározás	37
VI. Új eredmények összefoglalása	36
VII. Irodalomjegyzék	40
VIII. A dolgozat alapjául szolgáló publikációk	47
IX. Köszönetnyilvánítás	55

# ÁBRAJEGYZÉK

Szám	Oldal
1. Magyarország halálozási adatai 2014	1
2. Kockázatbecslő táblázat (SCORE)	6
3. ADMA képződése, hatásai és eliminációja	9
4. A nitrogén-monoxid fő endoteliális hatásai	11
5. A kardiovaszkuláris betegségek folyamatábrája	14
6. L-arginin és dimetilargininek monitorozása	26
7. L-arginin/ADMA arány és ADMA/SDMA arány monitorozása	27
8. A PCT és CRP koncentrációjának monitorozása szeptikus betegekben	27
9. Plazma ADMA koncentráció változásának monitorozása CO <sub>2</sub> kezelés hatására.	29
10. PRISMA folyamatábra	30
11. A bevont vizsgálatok által meghatározott plazma ADMA szintek és a kapott ADMA referencia értékek összefoglaló ábrája Forrest ploton szemléltetve	32

## Táblázatjegyzék

I. táblázat A kardiovaszkuláris rizikófaktorok megoszlása Magyarországon	5
II. táblázat. A szepszis és ADMA vizsgálatba bevont betegek klinikai karakterisztikája	23
III. táblázat A CO <sub>2</sub> és ADMA vizsgálatba bevont beteganyag klinikai karakterisztikája	29
IV. táblázat 95%-os ADMA referencia intervallum és átlag (95%-os konfidencia intervallummal) mérési módszerek típusa szerint felosztva	31

## RÖVÍDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ABPM: ambuláns vérnyomás monitorozás  
ACE: angiotenzin konvertáló enzim  
ADMA: aszimmetrikus aimetilarginin  
AMI: akut miocardialis infarktus  
ANOVA: analysis of variance  
APACHE: acute physiology and chronic health evaluation  
ARB: angiotenzin receptor blokkoló  
BMI: body mass index  
BMP: bone morphogenetic protein  
CABG: coronary artery bypass graft surgery  
CO<sub>2</sub>: szén-dioxid  
CV: kardiovaszkuláris  
DDAH: dimetilarginin-dimetilaminohidroláz  
EF: ejekciós frakció  
ELISA: enzyme linked immunosorbent assay  
ESC: European Society of Cardiology  
e-NOS: endoteliális nitrogén monoxid szintáz  
HbA1c: hemoglobin A1c  
HDL: high density lipoprotein  
HPLC: nagy teljesítményű folyadékkromatográfia  
hsCRP: magas szenzitivitású C reaktív protein  
ISH: International Society of Hypertension  
IQR: interkvartilis terjedelem  
L-arg: L-arginin  
LC/MS: folyadékkromatográfia / tömegspektrometria  
LDL: alacsony denzitású lipoprotein  
L-NMMA: L-N-monometilarginin  
MI: miokardiális infarktus  
NAD(P)H: nikotinamid-adenin-dinukleotid (foszfát)

NFB: nem fertőző betegség

NO: nitrogén-monoxid

NOS: nitrogén-monoxid szintáz

NYHA: New York Heart Association

PCI: perkután koronária intervenció

PCT: prokalcitonin

PRISMA: preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses

PRMT: protein-arginin metiltransferáz

PTCA: perkután transluminális coronaria angioplasztika

RAAS: renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer

SAPS: simplified acute physiology score

SCORE: systematic coronary risk evaluation

SD: standard deviáció

SDMA: szimmetrikus dimetilarginin

SOFA: sequential organ failure assessment

WBC: white blood cell

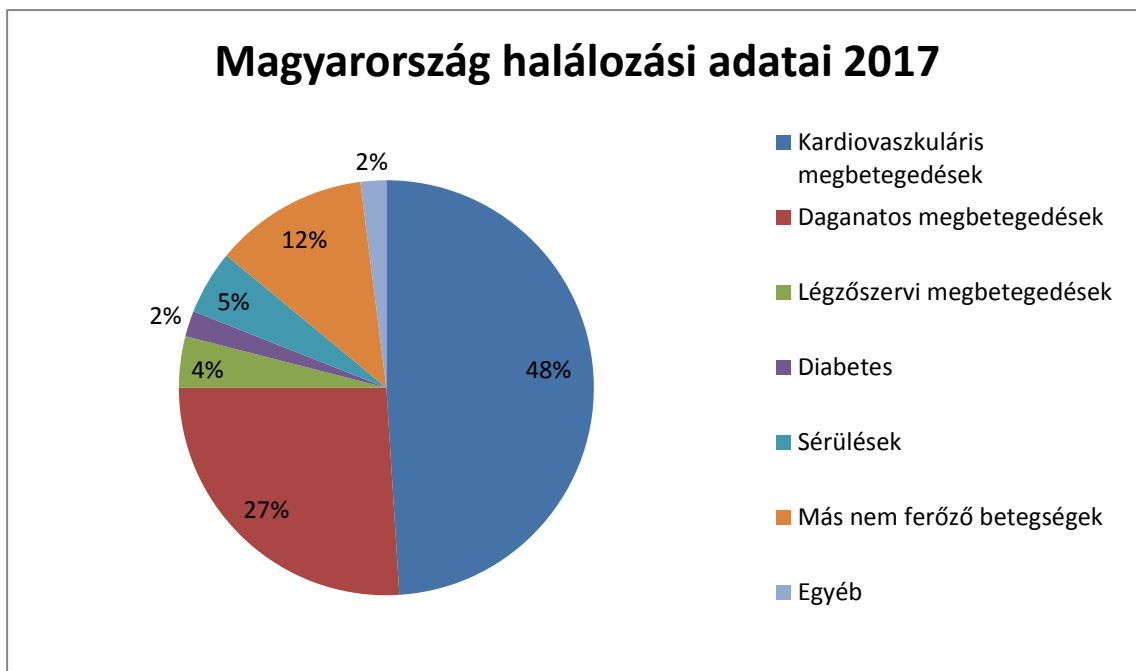
WHO: World Health Organization

# I. BEVEZETÉS

## I.1. Általános bevezető

Jól ismert tény, hogy a kardiovaszkuláris betegségek és szövődményeik felelősek a globális halálozások 1/3-ért. Ezzel együtt a fejlett országok legnagyobb egészségügyi problémáját jelentik. Nagymértékben felelősek a csökkent munkaképesség, illetve a rokkantság kialakulásáért és az ezekkel járó kórházi kezelés terheiért (1). Világviszonylatban az évi 56 millió haláleset közül 38 millió tartozik a nem fertőző betegségek csoportjába, ide soroljuk alapvetően a kardiovaszkuláris betegségeket, daganatos betegségeket, krónikus légzőszervi megbetegedéseket és a cukorbetegséget (2).

Magyarországon 100 000 főre számítva 423 halálessel a kardiovaszkuláris megbetegedések állnak az első helyen, megelőzve a daganatos megbetegedéseket. A magyarországi 2017-es évi halálozási adatokat részletesen az 1. ábra szemlélteti (3).



1. ábra Magyarország halálozási adatai 2017.



## **I.2. Klasszikus rizikófaktorok**

A szív- és érbetegségekben a rizikófaktorok fogalmát az 1948-ban indított Framingham-vizsgálat során határozták meg. A koncepció epidemiológiai bizonyítékok alapján alakult ki. A vizsgálat 246 rizikófaktorot azonosított 50 éves időtartama alatt. Ennek a vizsgálatnak köszönhetjük azt az ismeretet, hogy a szív- és érbetegségek nem véletlenszerűen alakulnak ki, hanem bizonyos rizikófaktorok megléte előrejelzi a betegség várható megjelenését.

A három legfőbb rizikófaktorot már 1956-ban azonosították. Ezek a következők: a dohányzás intenzitása, a szérumkoleszterin-szint és a vérnyomás emelkedettségének mértéke. Ez a három tényező mutatta a legszorosabb összefüggést a szív- és érbetegségek kialakulásával. E mellett mindháromnak szerepe van az ateroszklerózis kialakulásában.

Ugyancsak ez a vizsgálat tárta fel a különböző betegség alapvető okaként a helytelen életmódot. Ezalatt a helytelen táplálkozást, a mozgásszegény életmódot és az ebből következő túlsúlyt és az elhízást értjük.

A vizsgálat rávilágított továbbá a dohányzás és az akut miokardiális infarktus (AMI) és hirtelen szívhalál közötti szoros kapcsolatra. Az orvostársadalmat arra sarkallta, hogy nagyobb figyelmet fordítson a betegségek korai felismerésére és megelőzésére. E mellett mérföldkövet jelentett a krónikus nem fertőző betegségek (NFB) kutatásában is (4).

### **I.2.1. Magas vérnyomás – a csendes gyilkos**

2013-ban az Európai Kardiológiai Társaság (ESC) a World Health Organization/ International Society of Hypertension (WHO/ISH) közös irányelveit figyelembe véve meghatározta a hipertónia definícióját és osztályozását.

Hipertónia: ha a vérnyomás nyugalomban, 3 különböző (legalább egyhetes időközökkel mért) értéke  $\geq 140/90$  Hgmm.

A vérnyomás mérésére használt eszközök között eltérő normál határértéket határoztak meg;

- önvérnyomás mérésénél a normális vérnyomásérték nem nagyobb, mint 135/85 Hgmm
- ambuláns vérnyomás monitorozás (ABPM) során mért érték: nappal  $<135/85$ Hgmm, éjjel  $<120/70$ Hgmm, 24 órára  $<130/80$ Hgmm; ha a vérnyomás ezeket az értékeket eléri, vagy azt meghaladja, akkor beszélhetünk hipertóniáról.

A hipertónia megelőzésének és kezelésének fontosságát hangsúlyozza, hogy a 100 000 főre jutó hipertóniahalálozás a 35-64 éves korosztályban is eléri a 18-at, míg a 65 év felettek között ez az érték 268 (5).

### **I.2.2. Cukorbetegség - Diabetes mellitus**

Definíció szerint, ha a beteg éhomi vércukor szintje nagyobb, mint 7,0 mmol/l, diabetesről beszélünk. A diabetes mellitus klasszikus diagnosztikai módszere az orális glükóz tolerancia teszt. 7,8 mmol/l alatti glükóz koncentráció normális szénhidrát anyagcserére utal, míg a 7,8-11,1 mmol/l között csökkent glükóz toleranciáról, 11,1 mmol/l felett vércukor értékek esetén felállíthatjuk a cukorbetegség diagnózisát. A WHO ajánlás szerint amennyiben a glikált hemoglobin (HbA1c) eléri vagy meghaladja a 6,5%-ot, a diabetest diagnosztizáltnak tekinthetjük (6). 2012-ben a diabetes világszerte közvetlenül 1,5 millió halálesetért volt felelős, ezentúl további 2,2 millió halálesetben játszik valamilyen indirekt szerepet (7). A diabeteses betegek halálozásának 60%-a kardiovaszkuláris megbetegedések számlájára írható. Irodalmi adatok támasztják alá, hogy a kardiovaszkuláris (CV) események rizikója 2-3-szoros a diabeteses betegekben. Legyen szó akár I-es akár II-es típusú diabetesről. Továbbá fontos, hogy a diabetesben szenvedők prognózisa általánosságban rosszabb a CV események után, mint a diabetesben nem szenvedőké. A WHO szerint a CV rizikó párhuzamosan emelkedik a vércukorszintekkel, továbbá rontja az egyéb rizikófaktorok CV rendszerre gyakorolt negatív hatását. A diabetes korai diagnózisának és megfelelő kezelésének hiánya súlyos szövődeményekkel járhat; pl.: AMI, stroke, veseelégtelenség, végtagvesztés, vakság (7).

### **I.2.3. Dohányzás avagy a teljesen elkerülhető kardiovaszkuláris rizikófaktor**

A dohányzás az elsőszámú közreműködő faktor a szívinfarktus, stroke, hirtelen szívhalál, az aorta aneurizma és perifériás érbetegség kialakulásában. A WHO Európai régiójában legmagasabb a dohányzás prevalenciája (31%). Évente csaknem 7 millió halálesetért tehető felelőssé az aktív és a passzív dohányzás.

Nők esetében ez megfelel a globális egész évi halálozás 6%-ának, férfiak esetében 12%-ának. A dohányzás a kardiovaszkuláris halálozás megközelítőleg 10%-áért felelős (8). 50 éves időtartamú brit utánkövetéses vizsgálat rávilágított a dohányzás mielőbbi abbahagyásának

fontosságára. Megállapította, hogy akik 35 és 44 éves kor között leszoknak a dohányzásról, ugyanolyan túlélési rátával rendelkeznek, mint a nemdohányzók (9).

Magyarországon a 2011-es adatok szerint a naponta dohányzó férfiak aránya 35%, a nők között ez a szám 27%, összesen 31% (10).

#### **I.2.4. Hiperkoleszterinémia**

A lipoprotein profil részeként beszélünk alacsony denzitású lipoprotein (LDL) koleszterinről, high density lipoprotein (HDL) koleszterinről és trigliceridről. Az LDL koleszterin jól ismert kardiovaszkuláris rizikófaktor, magas szintje kulcsszerepet játszik az ateroszklerózis patogenezisében, ezen keresztül a generalizált érbetegségek kialakulásában. Az LDL koleszterin célértéke esetében rizikócsoportonként változó. (0-1 CV rizikófaktor: <4,1 mmol/l, 2 vagy több CV rizikófaktor <3,3 mmol/l, DM esetén <2,6 mmol/l) Ezzel szemben a HDL koleszterin kardiovaszkuláris szempontból protektív anyag (norm. érték férfi: 0,9-1,7 mmol/l, nő: 0,9-2,1 mmol/l). Az ún. reverz koleszterin transzport mechanizmus útján védelmet nyújt az LDL koleszterin érfalba való beépülésével szemben, így indirekt módon csökkenti annak szérumszintjét. Irodalmi adatok utalnak arra, hogy a HDL koleszterin nem csupán a reverz koleszterin transzport révén fejt ki vazoprotektív hatását, hanem képes stimulálni a nitrogén-monoxid rendszert, ezáltal javítani a vaszkuláris reaktivitást (11). Az emelkedett vér koleszterin- szint növeli a kardiovaszkuláris megbetegedések és a stroke kialakulásának rizikóját. Az emelkedett koleszterin mind a fejlett mind a fejlődő országokban az egyik legfőbb rizikófaktora az iszkémiás szívbetegségnek és a strokeknak. Világviszonylatban az iszkémiás szívbetegségek 1/3 része tulajdonítható a magas koleszterinszintnek, ezen túl 2,6 millió halálesetért tehető felelőssé (12). A WHO 2008-as adatai szerint az európai régióban a legnagyobb a hiperkoleszterinémia prevalenciája, 54% mindkét nemben. A dohányzáshoz hasonlóan a szérum koleszterinszint mielőbbi csökkentése hatékonyan csökkenti a kardiovaszkuláris rizikót (40 éves korban 10% koleszterin csökkenés 50% CV rizikó csökkenést jelent) (9).

#### **I.2.5. Fizikai inaktivitás**

Nem megfelelő fizikai aktivitásról beszélünk, ha a heti mozogás időtartama közepes intenzitású (maximum pulzus 70%-a) mozgás esetén kevesebb, mint 5x30 perc vagy magas intenzitású mozgás esetén (maximum pulzus 80%-a) kevesebb, mint 3x25perc. Megjegyzendő, hogy a nem megfelelő fizikai aktivitás a mortalitás 4. vezető rizikófaktora. A fizikailag nem megfelelően

aktív személyek 20-30%-kal magasabb rizikóval rendelkeznek az összes betegség okozta mortalitásra, mint azok, akik rendszeresen mozognak napi 30 percet. Magyarországon 2008-ban a felnőtt lakosság 28,6%-a nem végzett megfelelő fizikai tevékenységet. Holott a fizikai aktivitás a kulcs a megfelelő energia-háztartás biztosításához, ezzel az egészséges testsúly fenntartásához. Irodalmi adatok támasztják alá, hogy a fizikai aktivitás javítja az endotél funkciót, a fogyáson keresztül jótékony hatást gyakorol a szénhidrát háztartásra, továbbá elősegíti a normális vérnyomás és lipidprofil megtartását és csökkenti a stresszt. Egyszóval jótékony hatással van csaknem az összes fő kardiovaszkuláris rizikófaktorra (8,10).

### I.2.6. Elhízás

WHO 2008-as adatai szerint a világ 20 év feletti lakosságának 34%-a túlsúlyos; a férfiak 9,8%-a, a nők 13,8%-a elhízott. Az elhízás növekvő egészségügyi problémát jelent mind a fejlett, mind a fejlődő országokban. Oka az egyensúly megbomlása az energia-felvétel- és leadás között.

A fejlett országokban gyakrabban fordul elő már fiatal, sőt gyermekkorban az elhízás. Prospektív epidemiológiai vizsgálatok egyértelműen kimutatták az összefüggést a CV morbiditás, mortalitás és az elhízás között. A túlsúly és az elhízás kedvezőtlen hatással van a vérnyomásra, a lipidprofilra és az inzulin rezisztenciára. A koronáriabetegség, iszkémiás stroke és II. típusú diabetes rizikója a body mass index (BMI) növekedésével párhuzamosan és folyamatosan nő (10,12).

A magyarországi kardiovaszkuláris rizikófaktorok százalékos megoszlását összefoglalva az I. táblázat tartalmazza (13).

	férfi (%)	nő (%)	összesen (%)
Napi dohányosok aránya 2016	33	23	28
Fizikai inaktivitás 2016	35	46	41
Emelkedett vérnyomás 2015	41	33	37
Túlsúly 2006	57	56	61
Elhízás 2016	30	28	29
Emelkedett vércukorszint 2014	11	9	10

**I. táblázat** A kardiovaszkuláris rizikófaktorok megoszlása Magyarországon.

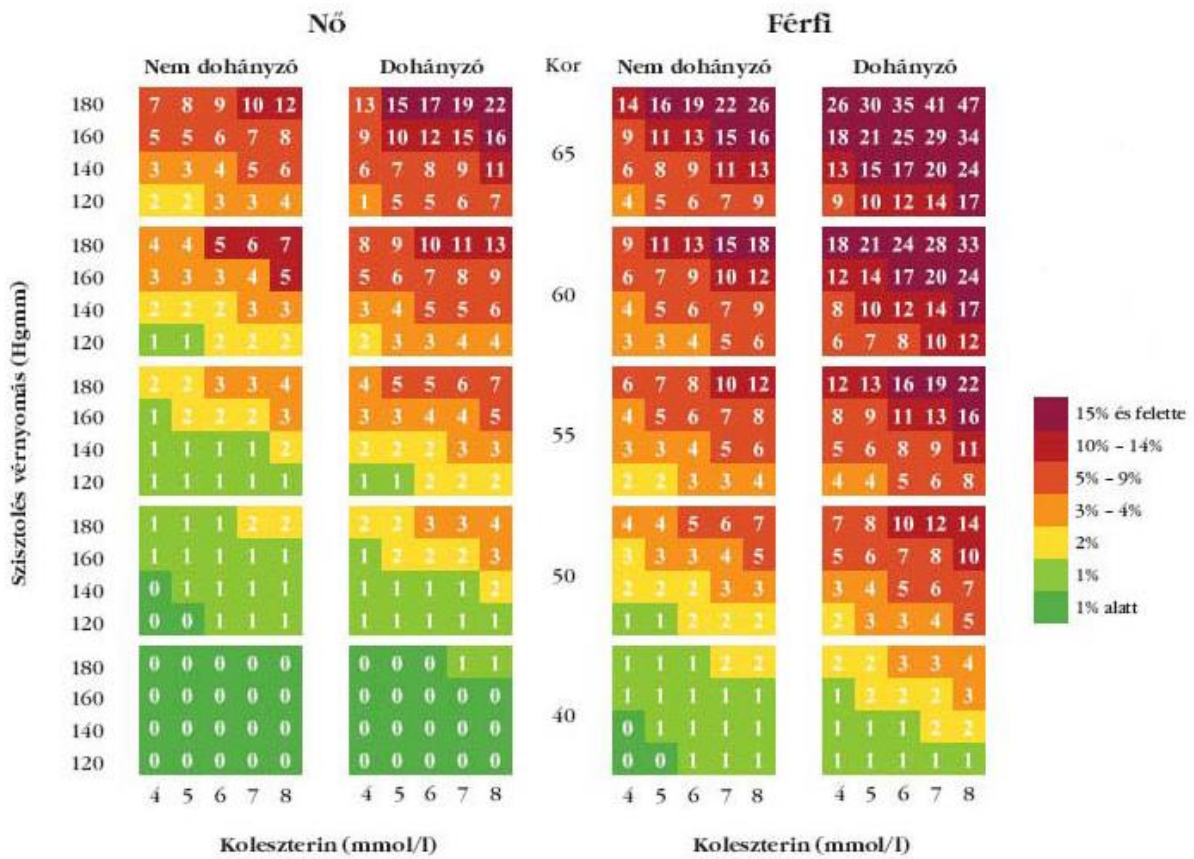
### I.3. Rizikóbecslés

A rizikófaktorokat gyakorlatban arra használjuk, hogy a kockázatot megbecsüljük. Tehetjük ezt egyéni vagy populációs szinten (14). Az ESC (European Society of Cardiology) multiplex analízissel, számos rizikótényezőt figyelembe véve beosztotta az európai országokat egy magas és egy alacsony rizikójú csoportba. Ez alapján megalkotta a napi klinikai rutinban alkalmazható, egyéni szintű kockázatbecslésre alkalmas módszerét, az ún. „systematic coronary risk evaluation” (SCORE) táblázatot. Lásd 2. ábra (14,15).

A táblázat a 10 éven belül várható végzetes szív- és érrendszeri betegség kockázatát mutatja a nem, életkor, szisztolés vérnyomás, dohányzás és szérumszénvesztés értékei alapján azok számára, akiknél nem alakult ki koszorúér vagy más betegség tünete. A relatív veszélyeztetettség az azonos életkor és paraméterek alapján egyénileg meghatározható. Mutatja továbbá, hogy ha az adott életkorú beteg valamely módosítható rizikófaktoron (vérnyomás, szérumszénvesztés, dohányzás) képes változtatni, a továbbiakban milyen rizikó kategóriába lép át. Magas rizikójúnak tekintendő az a beteg, akinél a végzetes CV esemény esélye 10 éven belül eléri az 5%-ot (15).

## KOCKÁZATBECSLŐ TÁBLA (SCORE)

Halálos szív- és érrendszeri események előfordulásának kockázata 10 éven belül



2. ábra Kockázatbecslő táblázat (SCORE).

A SCORE táblázaton kívül használatos a „Framingham Risk Score”, amely a CV betegségek 10 éven belüli kialakulásának rizikóját képes megbecsülni. A SCORE táblázathoz hasonlóan nemre specifikus, ugyanakkor az életkor, az összkoleszterin érték, a dohányzás megléte, a szisztolés vérnyomásérték mellett figyelembe veszi a cukorbetegség fennállását, a HDL koleszterin értékét, valamint azt, hogy a beteget kezelik-e magas vérnyomással. Az algoritmus a végeredményt %-os formában adja meg (16).

Egy másik szintén a 10 éven belül megjelenő CV betegségek kialakulását megbecslő pontrendszer a „Reynolds CVD”. Ez a pontrendszer a Framingham Risk Score-tól abban tér el, hogy megkívánja a high sensitive C reactive protein (hsCRP) koncentrációjának ismeretét, figyelembe veszi a családi anamnézist (miokardiális infarktus), és kizárólag egészséges egyéneknél alkalmazható. Külön algoritmust használ a nők és a férfiak esetében (17,18).

## **I.4. ADMA pathofiziológiája**

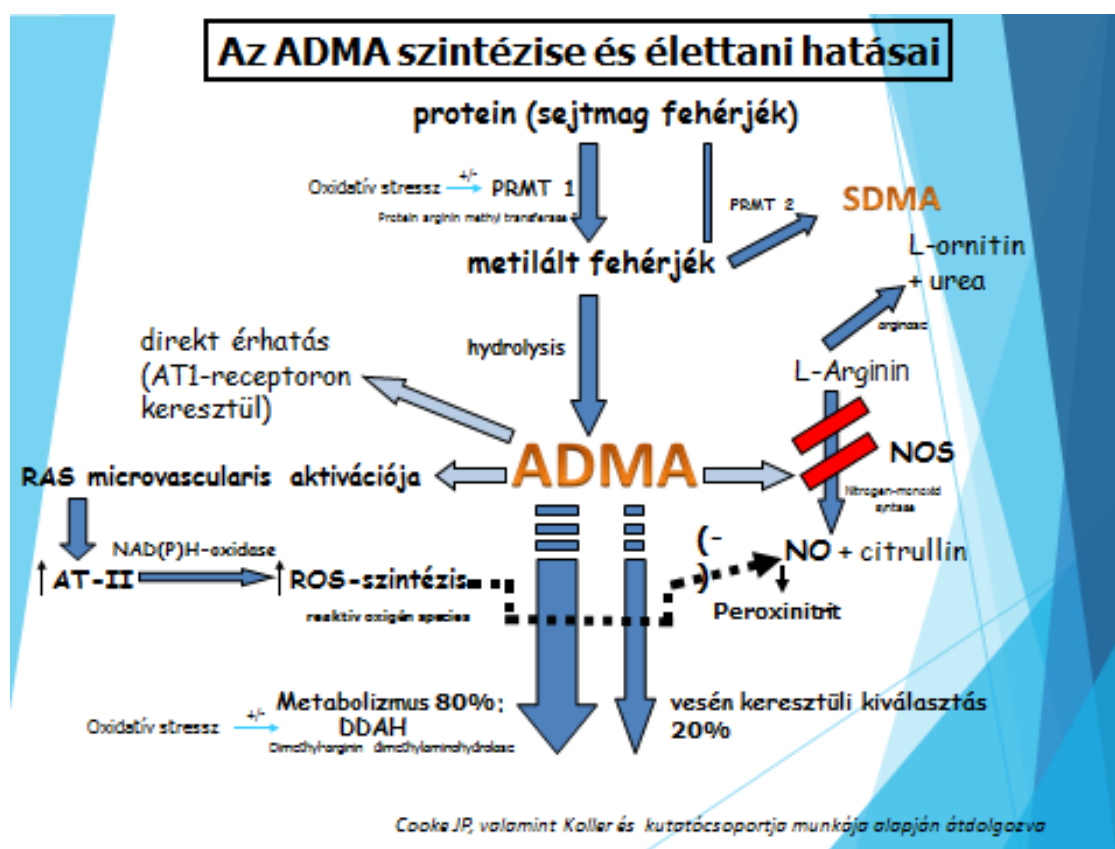
### **I.4.1. ADMA kémiája**

A fent említett rizikófaktorokon túl az iszkémiás elváltozások háttérében egyéb, a napi klinikai rutinban még nem használt „új rizikómarkerek” is fontos szerepet töltenek be. Az elmúlt 10-15 év fontos új kutatási területe a további független CV rizikófaktorok keresése. Ilyen rizikófaktor az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA), amely az emberi plazmában természetesen is megtalálható komponens. Emelkedett szintjét először Vallance és munkatársai írták le krónikus vesebetegnél (19).

Kémiai beosztás szempontjából a metilált arginin-származékok közé tartozik, ide sorolhatjuk még a szimmetrikus dimetilarginint (SDMA) és az L-N-monometilarginint (L-NMMA). Ezek a szervezet összes sejtjében termelődnek a poszttranszlációs metiláción átesett fehérjék proteolízise során. A poszttranszlációs metilációt a protein-arginin metiltransferáz (PRMT) 1 és 2 végzi. Az eukarióta sejtekben a PRMT 1 az ADMA legfőbb forrása (8). A metilcsoport donora az S-adenozil-metionin, a reakció során ekvimolárisan homocisztein keletkezik (20).

A képződött ADMA 20%-a a vesén át ürül exkrécióval, a 80%-a pedig intracellulárisan metabolizálódik. Ezt a metabolizmust a dimetilarginin-dimetilaminohidroláz (DDAH) enzim végzi, amely az ADMA-t dimetilaminra és citrullinra bontja. Fontos megjegyezni, hogy ez a bontó enzim oxidatív stresszre nagymértékben érzékeny, tehát az oxidatív stressz ezzel a

mechanizmussal indirekt módon is növeli az ADMA koncentrációját (21). Az ADMA szintézisét, hatásait és lebomlását összefoglalóan a 3. ábra szemlélteti.



3. ábra ADMA képződése, hatásai és eliminációja

#### I.4.2. ADMA és az oxidatív stressz

Az emberi szervezetben az ADMA legfőbb forrása a protein-arginin metiltransferáz 1 (PRMT1), amelynek expressziójáról bebizonyosodott, hogy „redox-szenzitív” módon regulált. Megnövekedett oxidatív stressz esetén fokozódik a PRMT1 expressziója, ezáltal nagyobb mennyiségű ADMA képződik.

Ugyanakkor, az ADMA lebontásáért felelős DDAH enzim működése az oxidatív stressz fokozódásával csökken. Összefoglalva, az oxidatív stressz hatására több ADMA képződik és kevesebb bomlik le (22). Régóta ismert az emelkedett ADMA szintek és a fokozott renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) aktiváció közötti kapcsolat. Egy nemrég megjelent kifejezetten az ADMA és a RAAS rendszer közötti összefüggéseket vizsgáló, közel 1500 beteget vizsgáló tanulmány megerősíti a korábbi eredményeket; miszerint a magasabb ADMA szintek fokozott RAAS aktivitással járnak. Az emelkedett ADMA koncentráció gátolja a



nitrogén-monoxid szintáz (NOS), ez által csökken az NO mennyisége. A kardiovaszkuláris betegségben szenvedő betegek körében jellemzően magasabb az ADMA szintje, ezáltal krónikusan gátolt a NOS működése. Az NO csökkent biológiai hozzáférhetősége miatt a renin szintje tartósan magas, így „up-regulálódik” a RAAS. Az angiotenzin II emelkedett koncentrációja direkt és indirekt módon (szabadgyök képződés) is gátolja a DDAH működését, ezáltal hozzájárul az ADMA emelkedett szintjének fenntartásához (23).

A fenti mechanizmusok alapján kijelenthető, hogy az ADMA nem csupán markere, hanem mediátora is az oxidatív stressznek.

### **I.4.3. Nitrogén-monoxid, az anti-aterogén molekula**

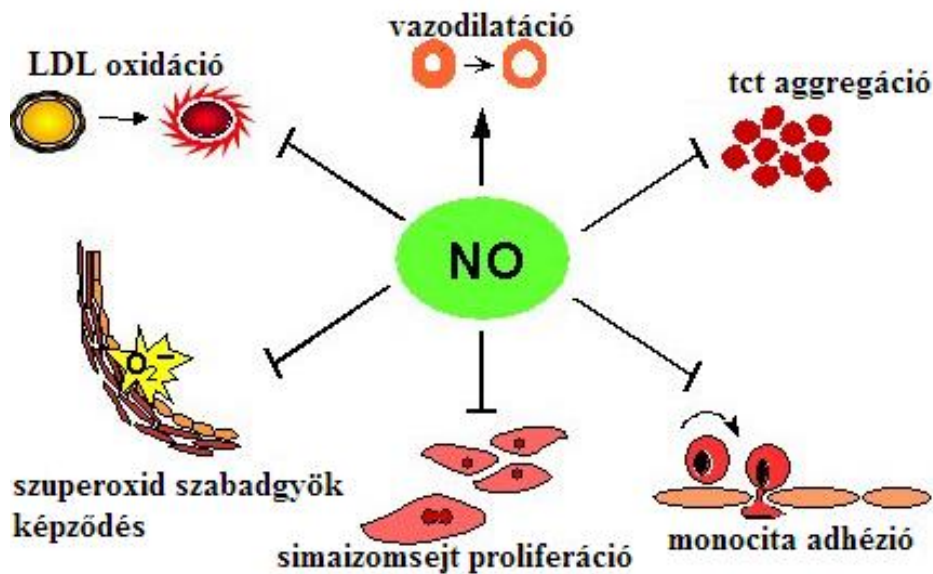
Számos kísérleti adat utal arra, hogy a vaszkuláris endotél centrális szerepet tölt be a fiziológiás értónus és struktúra fenntartásában. A nitrogén-monoxid (NO), más néven „endogén anti-aterogén molekula” egyike az egészséges endotél által termelt mediátoroknak.

Közismert erélyes vazodilatátor hatása mellett a trombocitaaggregáció endogén gátlója, megakadályozza továbbá a monocita és leukocita adhéziót, ezáltal a plakkképződés iniciálását.

Fontos funkciója ezen kívül a vaszkuláris simaizom proliferációjának gátlása és a szuperoxid szabadgyökök felszabadulásának csökkentése így az oxi-LDL képződésének csökkentése.

A megfelelő endotél funkció hatékonyan gátolja az érlemezés kialakulását, illetve lassítja a progresszióját. A nitrogén-monoxid főbb hatásait a 4. ábra szemlélteti (24).

Az NO szintézisét a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) enzim végzi, az L-arginin aminosavból (25). Az NO érrendszerben betöltött védő hatásának ismeretében belátható, hogy az NO abszolút vagy relatív csökkenése az ateroszklerózis folyamatának iniciáláshoz vagy a már megkezdődött folyamat felgyorsulásához vezet.



4.ábra A nitrogén-monoxid fő endoteliális hatásai (24).

#### I.4.4. Szabadgyökök és a nitrogén-monoxid

Fontos tényező az ateroszklerózis pathogenezisében az oxigén szabadgyökök felszaporodása (pl.: szuperoxid). Az erekből fiziológiásan is folyamatosan szabadul fel szuperoxid. Számos anyagcsere-út melléktermékeként létrejöhet, forrása lehet többek között az érfalban lévő NAD(P)H oxidáz, cytochrom P450 enzimszisztéma, ciklooxygenáz, lipooxygenáz, illetve az eNOS, amennyiben az „szétkapcsolt” állapotban van. A szabadgyökök rapidan reakcióba lépnek a nitrogén-monoxiddal és erősen reaktív peroxinitritet képeznek, amely oxidáló hatásával károsíthatja a fehérjéket, lipideket, sőt a DNS-t is.

Beckman és munkatársai szerint ez a reakció diffúziólimitált módon zajlik, tehát minél több NO áll rendelkezésre, annál nagyobb mennyiségben termelődik a peroxinitrit (26). Fontos megemlíteni, hogy az NO-on kívül nincs a szervezetben még egy olyan molekula, amely, ha megfelelő koncentrációban van jelen, felül tudja múlni a szuperoxid dizmutáz szabadgyök-semlegesítő kapacitását (27).

A szepszis, illetve a szepsztikus sokk mechanizmusában szintén fontos szerepet tölt be az NO. A szepsztikus sokk során bekövetkező hipotenzio egyik legfontosabb oka az NO túltermelése és az ennek következtében kialakuló nehezen uralható vazodilatáció megjelenése (28-30). Ezért az NO jelenléte döntően meghatározza az NO féléletidejét, ezen keresztül a kifejtett hatás erősségét. A szabadgyökökön kívül a lipid peroxidáció, a lipoprotein oxidáció és a myeloperoxidáz is modulálja az NO szintjét. Az ADMA termelésében és lebontásában

résztevő enzimekről bebizonyosodott, hogy redox-szenzitív módon reguláltak, tehát az emelkedett szuperoxid termelés következtében magas ADMA koncentrációt eredményez (16).

#### **I.4.5. ADMA és az endotél diszfunkció**

Az ADMA klinikailag legfontosabb hatása a NOS aktivitásának gátlása, így az NO koncentrációjának, ezzel jótékony hatásainak csökkentése. Egyre több irodalmi adat áll rendelkezésre, miszerint az ADMA hozzájárul az endotél diszfunkció kialakulásához. Állatkísérletes vizsgálatokban az ADMA koncentrációjának rapid emelkedését figyelték meg, miután a hiperkoleszterinémiához vezető étrendet beállították. Fontos, hogy az ateroszklerózis ekkor még makroszkóposan nem volt kimutatható az állatokban (31). Humán vizsgálatokban egyaránt megfigyelték az ADMA szintjének emelkedését azokban a csoportokban, ahol hiperkoleszterinémia vagy egyéb rizikófaktorok voltak jelen (32). Végstádiumú veseelégtelenségben szenvedőknél statisztikailag szignifikáns összefüggést találtak az intima-media megvastagodás és az ADMA koncentrációjának emelkedése között (33). Ezt az eredményt erősíti meg a Cakar és munkatársai által végzett kutatás, amely frissen diagnosztizált hipertóniás betegek körében talált korrelációt az augmentációs index és az ADMA között (34). Továbbá egy nagy, 712 beteget vizsgáló, hat éves, prospektív vizsgálat tanulságai szerint az ADMA függetlenül képes előre jelezni a carotis intima-media megvastagodását (35). Ezek alapján arra következtethetünk, hogy az ADMA az endotél diszfunkció egyik korai klinikailag releváns markere (21,25,26). Az ADMA másik fontos endotél diszfunkcióban betöltött szerepe az endoteliális oxidatív stressz növelése. Megfelelő koncentrációban az ADMA szétkapcsolja az elektrontranszportot a NOS és az L-arginin között. Ezáltal természetesen csökkenti az NO termelését és hozzáférhetőségét is (36). Az endotél diszfunkcióra jellemző: a vazokonstriktor túlsúly, az endotéldependens vazodilatáció zavara, illetve a csökkent NO szintézis és kínálat. Különböző faktorok járulnak hozzá az endotél diszfunkció kialakulásához. Ilyen a NOS csökkent aktivitása és/vagy expressziója és az ezzel párhuzamosan megjelenő vaszkuláris szabadgyökök képződésének növekedése. A csökkent NO szint legfőbb okai között szerepel az ADMA szintjének növekedése. Emelkedett plazma ADMA koncentrációt mutattak ki hipertóniás, hiperlipidémiás, hiperhomociszteinémiás betegekben, valamint coronaria betegségben és perifériás okklúzív érbetegségben szenvedőknél. Jellemzően emelkedett az ADMA szintje stroke-on átesett betegekben, végstádiumú veseelégtelenségben és pangásos szívelégtelenségben szenvedőknél (25). Az ADMA szintjének időbeli változásából

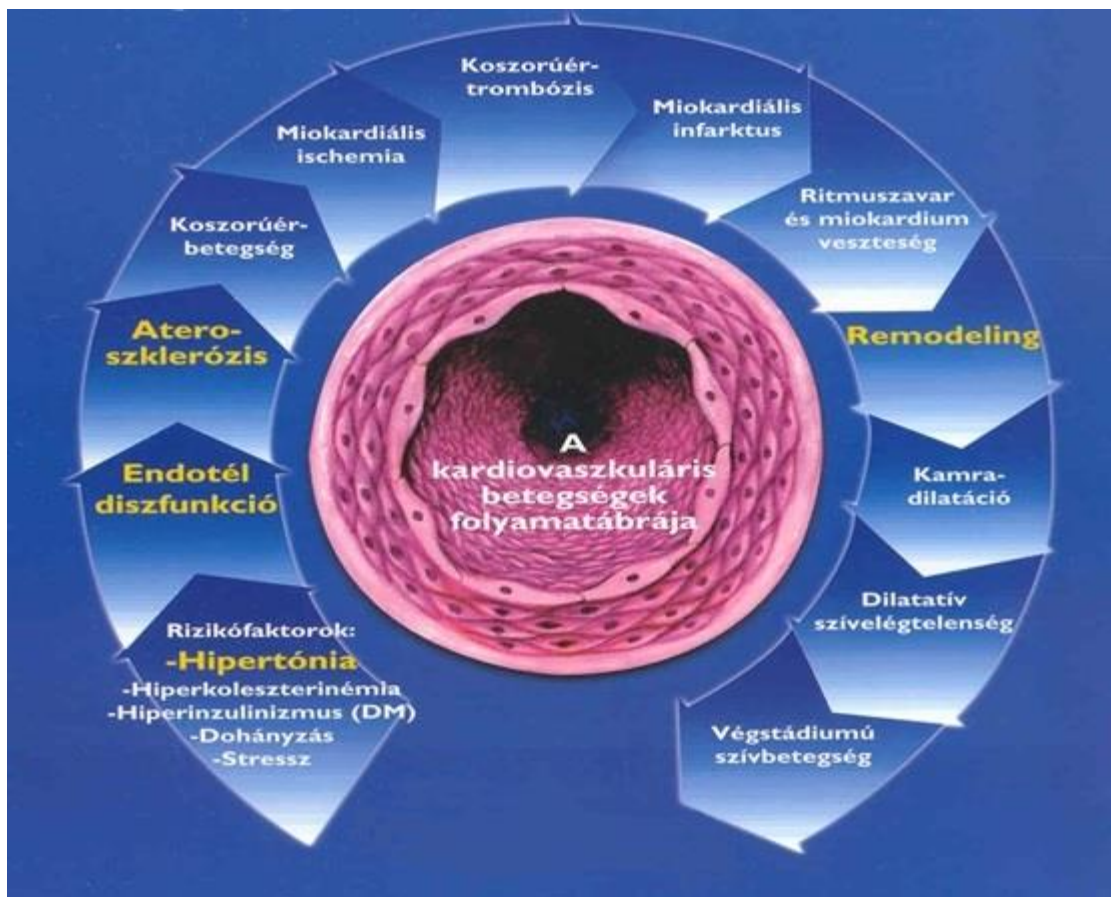
következtetni tudunk a NOS legátoltságának mértékére, ezen keresztül az endotél diszfunkció súlyosságára.

A fentiekén túl az L-arginin/ADMA arány információt ad az NO biológiai hozzáférhetőségéről, amely további indirekt információt nyújt az „endotelialis jólétről”(37). Szívelégtelen betegek körében az az L-arginin/ADMA arány a magasabb NYHA (New York Heart Association) státusszal és a pro-BMP (Bone Morphogenetic Protein) szintekkel fordított, míg a 6 perces járástávolsággal és a metabolikus ekvivalensben mért fizikai teljesítőképességgel egyenes arányosságot mutatott (38).

Ezek alapján belátható, hogy a klasszikus rizikófaktorok vazodilatáció károsító hatásukat többek között az ADMA akkumulációt serkentő hatásuk lévén fejtik ki. Fontos hangsúlyozni, hogy az ADMA szintjének növekedésével a NOS egyre jobban gátlódik, tehát az NO szintje egyre csökken. A megnövekedett ADMA koncentráció pedig előmozdítja az ateroszklerotikus plakk képződését és a már meglévő plakkok ruptúráját (20).

Az endotél diszfunkció nemcsak a coronariabetegségekben szenvedőkben gyakori, hanem a manifeszt betegség nélküli, ám rizikófaktorokkal rendelkező egyéneknél is. Irodalmi adatok támasztják alá, hogy mind a coronaria, mind a perifériás endotél funkcionális állapota fontos prognosztikai információkat szolgáltatnak a jövőbeli CV eseményekről (20,21.).

A kardiovaszkuláris betegségek alakulásának folyamatát a 4. ábra szemlélteti. Az egész folyamat iniciáló tényezője a rizikófaktorok megléte. A második lépés az endotél diszfunkció, amely az ateroszklerózis előszobájának tekinthető állapot, ennek kialakulásában és jelzésében játszik meghatározó szerepet az ADMA. A már kialakult ateroszklerózis után bizonyos „lappangás” után megjelennek a CV betegségek pl.: miokardiális infarktus, koszorúérbetegség; a folyamat végén megjelennek a különböző kompenzáló mechanizmusok, így pl.: a remodelling és szívüregek dilatációja. A kardiovaszkuláris betegségek folyamatát az 5. ábra szemlélteti.



5. ábra. A kardiovaszkuláris betegségek folyamatábrája (84).

#### I.4.6. Az ADMA koncentrációjának gyógyszeres befolyásolása

Az ADMA kardiovaszkuláris rendszerre gyakorolt hatásait ismerve felvetődött az a kérdés, hogy a jelenleg használatos hatóanyagok közül melyek képesek befolyásolni az ADMA koncentrációját.

A 2000-es évek elején elvégzett kutatások szerint a magasabb LDL koleszterin szintekkel rendelkező betegeknél jellemzően magasabb az ADMA koncentrációja (39). Több kutatás célozta meg a különböző statinok „ADMA csökkentő” hatásának kimutatását, ám ezt mindössze a rosuvastatin esetében sikerült (40) kimutatni. Ugyanakkor a legtöbb vizsgálat az ADMA-nak valamilyen terápia moduláló hatást tulajdonított. Böger és munkatársai által végzett kutatás szerint a magasabb ADMA koncentrációjú betegek esetében a simvastatin nem tudta kifejteni az endotél funkcióra gyakorolt jótékony hatását. Ezért a simvastatin kezelést orális L-arginin adásával egészítették ki, ennek hatására a magas ADMA koncentrációjú betegcsoportban javult az endotél funkció, míg az alacsonyabb ADMA szintű betegeknél nem volt érdemi változás. Ebből arra következtettek, hogy az NO rendszer megfelelő működése

elengedhetetlenül szükséges ahhoz, hogy a statinok kifejtsék az endotél funkcióra gyakorolt jótékony hatásukat (41).

A RAAS rendszerre ható gyógyszerek közül az ACE-gátlók és az angiotenzin receptor blokkolók (ARB) esetében figyeltek meg jótékony NO rendszerre gyakorolt hatást iszkémiás szívbetegségben, cukorbetegségben ill. magas vérnyomásban szenvedők körén (42). Továbbá a fent említett betegcsoportban a fenti gyógyszerek hatására ADMA koncentráció csökkenést is sikerült kimutatni (14,42). Egy eNOS knockout egereken végzett kutatás szerint az ADMA az angiotenzin I útvonal aktiválásával az NO rendszertől függetlenül is képes növelni az oxidatív stresszt, ezáltal rontani az endotél funkciót (43).

Irodalmi adatok szerint az orális antidiabetikumok közül a metformin 3 hónapos szedése 30%-os szérumszintű ADMA szint csökkenést okozott. Továbbá csökkentette az ADMA koncentrációt a fiatal, nem hipertóniás, nem elhízott policisztás ovárium szindrómában szenvedő betegek körében (43). Wakino és munkatársai állatkísérletes modellben pioglitazon adása után mind a spontán hipertóniás, mind a normotenzív patkányok esetében körülbelül 20%-os ADMA koncentráció csökkenést tapasztalt. Ennek hátterében valószínűleg a DDAH fokozott expressziója áll (44).

Az aszpirin kardioprotektív hatása miatt manapság igen széleskörűen alkalmazott gyógyszer. Böger és munkatársai endotél sejt kultúrán végzett vizsgálatai szerint az aszpirin képes sejtek öregedésének idejét késleltetni. Egyrészt csökkenti a szabadgyök terhelést, másrészt jótékonyan befolyásolja az NO utat. Megfigyeléseik szerint képes az ADMA koncentrációjának csökkentésére valószínűleg a DDAH „upregulációjának” köszönhetően (45).

## **I.5. Irodalmi áttekintés: ADMA prediktív értéke a kardiovaszkuláris betegségekben és gyulladásos betegségekben**

### **I.5.1. ADMA és a koronária betegség**

Valkonen és munkatársai 150 középkorú, nem dohányzó férfi beteget vizsgáltak eset-kontroll vizsgálatban. Betegeiket a mért ADMA koncentráció alapján 4 csoportra osztották. Kiderítették, hogy azoknak a betegeknek, akik az ADMA koncentráció alapján a felső kvartilisba tartoztak ( $ADMA \geq 0,62 \mu\text{mol/L}$ ), közel 4-szer akkora rizikójuk van az akut koronária történések kialakulására, mint azoknak, akik a többi három csoportba tartoznak. Irodalmi adatok szerint, összefüggés van a nem megfelelő nitrogén-monoxid szint és az endotél diszfunkció kialakulása között. Tekintve, hogy az emelkedett ADMA koncentráció az L-arginin-NO út hatékony gátlója és az endotél diszfunkció kiemelt mediátora, szerepet játszhat a fent említett CV rizikó növekedésben (46). A CV események hosszú távú rizikójának növekedésével, és szerepet játszhatnak a PTCA utáni resztenózis patogenezisében.

Tse-Min Lu és munkatársai az ADMA plazma koncentrációjának prediktív értékét vizsgálták 153 PCI-n átesett betegen. A plazma ADMA koncentráció mérését a beavatkozás előtt végezték el nagy teljesítményű folyadékkromatográfia (HPLC) módszerrel. A vizsgálat 16 hónapos időtartama alatt regisztrálták, hogy a vizsgált betegek között mennyi haláleset (CV vagy egyéb okokból), nem fatális miokardiális infarktusz, koronária revaszkularizáció volt. A kutatásból kiderült, hogy az emelkedett plazma ADMA koncentráció független prediktora a PCI utáni kardiovaszkuláris eseményeknek (36). Egy másik közel 2000, koronarográfián átesett beteget utánkövető vizsgálat eredménye összefüggést mutatott a magasabb ADMA-szint és a kardiovaszkuláris halálozás, illetve a miokardiális infarktusz fellépése között. A szerzők szerint kutatásuk eredményei arra engednek következtetni, hogy az ADMA koncentrációja a klasszikus rizikófaktorok által szolgáltatott információn túl önálló prognosztikai szereppel bír a kardiovaszkuláris betegségek esetén (32,47).

Böger és munkatársai 3320, a Framingham Offspring Studyban részt vevő beteg csaknem 11 évig tartó utánkövetéses vizsgálatának eredménye szerint szignifikáns pozitív összefüggés mutatható ki az ADMA-koncentráció és az „all-cause mortality” között (32,48). Ezt az eredményt megerősítette egy nemrég publikált közel 20 ezer főt vizsgáló meta-analízis, amely közel másfélszeres kardiovaszkuláris rizikót talált azon betegek körében, akik ADMA koncentrációjuk alapján a felső harmadba kerültek (32,40).

Az ADMA kardiovaszkuláris betegségek előrejelzésében betöltött szerepét tovább erősíti, hogy az ADMA független előre jelző markerként szolgált a stroke és a miokardiális infarktus tekintetében egy 24 évig tartó utánkövetéses vizsgálatban, ahol 880 nőbeteget vizsgáltak. Az ADMA 0,15  $\mu\text{mol/l}$  es növekedése esetén körülbelül 30%-os MI- és stroke-incidencia-növekedést tapasztaltak (32,41).

### **I.5.2. ADMA és a szepszis**

A gyulladással válasz kezdetben, így a szepszis, illetve a szepsztikus sokk mechanizmusában fontos szerepet tölt be az NO. A szepsztikus sokk során bekövetkező hipotenzió egyik legfontosabb oka az NO kontrollálatlan túlermelése. Ennek hátterében a NOS „upregulációja” áll, a gyulladással során az ún. indukálható NOS felelős az újonnan képződő NO nagy részéért. Az excesszív NO termelésnek szerepe van a patogének eliminációjában, ugyanakkor sok esetben ennek következtében az erek elvesztik tónusukat, így megjelenik a szepsztikus sokkra jellemző nehezen uralható vazodilatáció. Közvetve ez a vazodilatáció lehet az egyik oka a később kialakuló több szervi elégtelenségnek (29,30,32). Ezen túl a NOS enzim szétválaszolása nagy mennyiségű szabadgyök képződéséhez vezet. Korábbi vizsgálatok szerint a metilált arginin származékok fontos szerepet játszanak az NO út szabályozásában. Az ADMA bontásáért 80%-ban felelős DDAH enzim működésének csökkenése az oxidatív stressz mértékével egyenesen arányos. Az extrém gyulladással hatására működése károsodik, így az ADMA szintje nő. A károsodott vesefunkció további ADMA koncentráció emelkedéssel járhat, hiszen a csökkent vesefunkció miatt az ADMA nem tud ürülni. A megnövekedett ADMA hatékonyabban gátolja a NOS-t, így csökkentheti a vazodilatáció mértékét, ezzel hozzájárulhat a szepszis túléléséhez (21,25). Az ADMA szepszis patogenezisében játszott pontos szerepe még nem tisztázott. Koch és munkatársai egy 160 szepsztikus beteget vizsgáló tanulmányban a szérumban ADMA koncentrációt mind a rövid mind a hosszú távú túlélés független markereként azonosították (51,52).



## **II.CÉLKITŰZÉSEK**

### **II.1. ADMA és a szepszis**

Az ADMA koncentrációváltozásának vizsgálata szeptikus betegekben, továbbá összefüggés keresése az ADMA és a klinikai rutinban használt biomarkerek és „score-ok” változása között.

### **II.2. ADMA változása CO<sub>2</sub> kezelés hatására**

Az ADMA koncentrációváltozásának vizsgálata transzkután szén-dioxid (CO<sub>2</sub>) kezelésben részesülő hipertóniás betegek körében, továbbá összefüggés keresése a vérnyomáscsökkentő gyógyszerek és az ADMA változása között.

### **II.3. ADMA referenciatartomány meghatározás**

Az ADMA rizikóbecslésben betöltött fontos szerepére tekintettel célul tűztük ki, hogy a rendelkezésre álló irodalom alapján metaanalízis segítségével meghatározzuk az ADMA referencia értékét az egészséges felnőtt populációban.

### III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### III.1. ADMA és a szepszis

A szeptikus betegek mintáinak gyűjtése 2015. január és április között történt a PTE KK Intenzív Osztályán. A szepszis diagnózisát a jelenleg használatos irányelvek szerint állítottuk fel (53). A részletes bevásztási kritériumok a következők voltak: a szepszis diagnózisán túl jelentkezzen szepszis indukálta szervkárosodás vagy hipotenzió, ill. a prokalcitonin koncentrációja legyen nagyobb, mint 2ng/ml. Azon betegeket, akik az Intenzív Osztályos kezelést nem élték túl, kizártuk. Továbbá kizártuk azokat a betegeket, akik anamnézisében szívinfarktus, vesekárosodás, ill. stroke volt. A mintákat a szepszis klinikai diagnózisát követő 24 órán belül (1. napi minta), majd az azt követő 3. illetve 5. napon vettük. A szervégtelenséget a nemzetközileg használatos SOFA (sequential organ failure assessment) pontrendszerrel jellemeztük (54). Ezentúl hasonló alapbetegségekkel rendelkező nem szeptikus önkénteseket vontunk be kontroll csoportként. A kontrollok szokásos évi laboratóriumi ellenőrzésre érkeztek, ezt megelőzően a kutatásunkról tájékoztattuk őket, a beleegyező nyilatkozat aláírása után tőlük egy alkalommal vért vettünk. A vérmintákat 3,8%-os Na-citrátot tartalmazó vérvételi csöbe vettük a napi rutin vérvételek alkalmával.

A levett vérmintákból centrifugálás után ( $1,500 \times g$ , 10 min) plazmát nyertünk, amelyet az analízisig  $-70^{\circ}\text{C}$ -on tároltunk. Az ADMA, L-arginin és SDMA koncentrációt tömegspektrométer segítségével határoztuk meg (Dionex Ultimate3000 HPLC/Thermo Q Exactive setup (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)). A célmolekulák szeparációja Kinetex HILIC oszloppal történt. A detektálás fluoreszcens detektorral történt, a kiértékelés Xcalibur 2.2 Qual Browser szoftverrel (Thermo Fisher Scientific). A kvantációstartomány az ADMA és SDMA esetében  $0.073\text{-}37.5 \mu\text{M}$ , az L-arginin esetében  $1.172\text{-}150 \mu\text{M}$  volt.

A kutatási protokollt a Pécsi Tudományegyetem Regionális Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta (No.: 4327.316-2900/KK15/2011.).

A statisztikai elemzést az „IBM SPSS Statistics for Windows Version 22” programcsomag segítségével végeztük el. A normalitásvizsgálat „Shapiro-Wilk” teszttel történt. A normál eloszlást mutató változók (ADMA) esetében két csoport adatainak összehasonlítására független t-próbált és „one-way ANOVA-t” használtunk. A nem normális eloszlást mutató változók (L-

arg, SDMA) esetében non-parametrikus tesztekkel használtunk. Csoportok összehasonlítására „Mann-Whitney” U-tesztet vagy „Kruskal-Wallis” tesztet használtunk. A korrelációk kimutatására a „Pearson- féle” korrelációs tesztet alkalmaztuk. Egy eltérést akkor tekintettünk szignifikánsnak, ha a p érték kisebb volt, mint 0,05.

### **III.2. ADMA változása CO<sub>2</sub> kezelés hatására**

A vizsgálatba bevont betegek 3 hét alatt összesen 9db egyenként 35 perc időtartamú CO<sub>2</sub> kezelésben részesültek; a Fabry és munkatársai által leírt módon (a mellkas közepéig felhúzott műanyag zsákba szobahőmérsékletű, 99,9%-os tisztaságú CO<sub>2</sub> gázt töltöttük, a biztonsági és életvédelmi szabályok maximális betartásával). A CO<sub>2</sub> kezelése során a beteget a szakma szabályai szerint fekvő pozícióba helyeztük az életvédelmi szabályok teljes körű betartásával.

A CO<sub>2</sub> kezelés ADMA koncentrációra kifejtett hatását az alábbi mintavételi protokollal monitoroztuk: 0.nap (kiindulási) – első CO<sub>2</sub> kezelést megelőző napon, 1 óra – az első CO<sub>2</sub> kezelés után egy órával, 1 nap – az első CO<sub>2</sub> kezelés után 24 órával, 3 hét – az első CO<sub>2</sub> után 3 héttel. Megvizsgáltuk van-e különbség a CO<sub>2</sub> kezelés hatására bekövetkező ADMA változásban a cukorbeteg és a cukorbetegségben nem szenvedő betegek között. Megvizsgáltuk befolyásolja-e valamilyen gyógyszer az ADMA változását.

A mintavételre 2016 április és november között került sor a Zsigmondy Vilmos Harkányi Gyógyfürdőkórház „ISO 9001” akkreditált Kardiológiai Rehabilitációs Osztályon. A beválasztási kritériumok a következők voltak: hipertónia, absztinencia, dohányzás mellőzése, 55%-nál nagyobb EF. A beválasztott betegek egyike sem részesült korábban CO<sub>2</sub> kezelésben. Azon betegeket, akik az elmúlt egy év során miokardiális infarktuson, stroke-on, nyitott hasi vagy mellkasi műtéten estek át, a vizsgálatból kizártuk. Továbbá nem vehetett részt a vizsgálatban olyan beteg, akinek daganatos megbetegedése vagy vesekárosodása volt.

Kontroll ADMA érték meghatározás céljából egészséges önkénteseket vontunk be a vizsgálatba, akik CO<sub>2</sub> kezelésben nem részesültek. A kontrolloktól egy alkalommal vettünk vérmintát. A vérmintákat minden esetben 10%-os EDTA 2,7ml térfogatú véré vételi csövekbe vettük (Becton Dickinson Vacutainer), zárt rendszerű vérvétellel. Centrifugálás után (1500g, 10 perc) a plazmát az analízisig -70 °C-on tároltuk.

A plazma ADMA koncentrációkat „enzyme linked immunosorbent assay-kit” (ELISA; Gyártási szám No.: MBS264847, Mybiosorce, San Diego, USA) segítségével határoztuk meg.

A kutatási protokollt a Pécsi Tudományegyetem Regionális Kutatásetikai Bizottsága jóváhagyta (No.: 5919.).

A statisztikai elemzést az „IBM SPSS Statistics for Windows Version 22” programcsomag segítségével végeztük el. A normalitás vizsgálat „Shapiro-Wilk” teszttel történt. Az ADMA változók normál eloszlást mutattak. Az eredményeket átlag és szórás feltüntetésével szemléltettük. A betegek és a kontrollok ADMA szintjeinek összehasonlítására független t-próbát használtunk. A monitorozás során a különbségeket páros t-próbával mutattuk ki. A korrelációk keresésére a „Pearson- féle” korrelációs tesztet alkalmaztuk.

Egy eltérést akkor tekintettünk szignifikánsnak, ha a p érték kisebb volt, mint 0,05.

A statisztikai elemzést az „IBM SPSS Statistics for Windows Version 22” programcsomag segítségével végeztük el.

### **III.3. ADMA referenciatartomány meghatározás**

A vizsgálatot a 2009-ben publikált PRISMA ajánlás szerint végeztük (56).

2016. június 30-án átfogó irodalmi keresést hajtottunk végre a „PubMed” és „Web of Science” adatbázisokban az alábbi keresőszavak használatával: „asymmetric dimethylarginine” AND „healthy” NOT „animal”. A keresés és a referenciák kezeléséhez az „EndNote X7” programot használtuk (Thomson Reuters Crp. 3 Times Square, New York, New York, USA).

A „full-text” elemzésbe való bekerüléshez az azonosított közleményeknek a következő kritériumoknak kellett megfelelniük: 1., az ADMA koncentrációt emberi plazmából határozzák meg; 2., egészséges alanyok ADMA értékeit tartalmazza; 3., nyilatkozzon az ADMA meghatározás módszeréről; 4., vizsgáljon legalább 20 egyént. Az összefoglaló közleményeket és meta-analíziseket kizártuk. Azokat a kutatásokat, amelyek 18 év alatti személyeket vizsgáltak, kizártuk. A várandósság alatt kialakuló fiziológiai változások miatt a terheseket vizsgáló publikációkat szintén kizártuk.

A „full-text” elemzés során a beválogatott publikációknak az alábbi kritériumok szerint kerültek be a kvantitatív analízisbe: 1., az ADMA koncentrációját ELISA-val vagy HPLC-vel határozták meg; 2., tüntesse fel számmal az ADMA koncentrációt; 3., a beteganyag leírásánál tüntesse fel, hogy egészséges alanyokat/ kontrollokat is vizsgált; 4., az ADMA mérési módját részletezze vagy hivatkozzon korábbi irodalomra.

A statisztikai elemzés megkezdése előtt ismételten részletesen áttekintettük a beválasztott cikkeket különös tekintettel a kontrollok egészséges mivoltára és az analizált minta eredetére

(szérum, vizelet, plazma, sejt kultúra, stb.). Azon publikációk, amelyek nem teljesen egészséges egyének ADMA értékeit, illetve nem plazmából meghatározott ADMA koncentrációt írtak le, kizárásra kerültek. Az adatbázisokban való keresést, absztrakt és „full-text” elemzést két személy, egymástól függetlenül végezte. Amennyiben a fellelt publikációkban nem egyértelmű adatok szerepeltek (metodikai kérdések, minta eredete, mértékegységek, stb.), az adott közlemény levelező szerzőjénél e-mailben érdeklődtünk az adott probléma megoldásának céljából. Amennyiben a levelező szerző nem válaszolt a megkeresésünkre, a szóban forgó közleményt kizártuk.

A végső adatbázis a beválasztott közlemények adataiból következőket tartalmazza: az első szerző neve; a publikálás éve; az adott vizsgálatban résztvevők száma, neme, életkora; az ADMA meghatározáshoz használt módszer (HPLC/ELISA); dohányzók százalékos megoszlása; szisztolés és diasztolés vérnyomás; BMI; ADMA értékek  $\mu\text{mol/l}$ -ben kifejezve. A folyamatos változókat átlag + szórás vagy az átlag szórása; ill. medián + interkvartilis feljegyzésével rögzítettük.

Mind a referencia intervallum, mind az átlag kiszámításakor normál közelítést használtunk (57). Azon vizsgálatok esetében, ahol csak a median és IQR érték vagy a minimum/maximum érték volt megadva, az átlagot és a szórást a Wan és munkatársai által kidolgozott módszerrel határoztuk meg (58). Két vizsgálatot ki kellett zárunk, mert csak a 2,5-97,5% os percentilis adatokat adta meg, ebben az esetben az átlag és a szórás kiszámítására nem volt lehetőség. Az átlagra megadott konfidencia intervallumot a következőképpen számoltuk ki:  $\text{átlag} \pm 1.96 \cdot \text{SD}/n^{1/2}$ , ezeket a minden vizsgálat esetében gyémánttal jelöltük a Forest-ploton (9. ábra). A referencia intervallumot a következőképpen számoltuk ki:  $\text{átlag} \pm 1.96 \cdot \text{SD}$ .

Mind a fix, mind a random effektus alapú modellezést elvégeztük, az adatok extrém heterogenitása miatt csak a random effektus modell eredményeit tüntetjük fel. A moderátor változók hatását standard meta-regressziós módszerrel vizsgáltuk. A statisztikai analízist az R statisztikai program 3.3.2-es verziójával végeztük.

## IV. EREDMÉNYEK

### IV.1. ADMA és a szepszis

Tizenhét szeptikus beteg és tizenhat életkor és nem szerint illesztett kontroll résztvevő ADMA, L-arginin és SDMA értékeit hasonlítottuk össze továbbá kiszámoltuk az L-arginin/ADMA és az ADMA/SDMA hányadost. A szeptikus betegek közül tizenkettőnél szeptikus sokkot, a maradék ötnél szepszis indukálta szervkárosodást állapítottunk meg. A leoltás eredményei szerint két-két beteg izolált Gram-negatív ill. Gram-pozitív baktériummal, egy beteg gombával és nyolc beteg kevert kórokozókkal fertőződött meg. A maradék négy beteg esetében nem sikerült mikroorganizmus jelenétét kimutatni. A bevont betegek adatait a II. táblázat tartalmazza. A meghatározott markerek és hányadosok időbeli változását az 6. illetve 7. ábrán szemléltetjük.

	Kontroll csoport (n=16)	Szeptikus csoport (n=17)
Átlagéletkor , évek ( $\pm$ SD)	61 (13,2)	66 (15,4)
Férfi, n (%)	9 (56,1)	8 (47,1)
Diabétesz, n (%)	6 (38,6)	8 (47,3)
Hipertónia, n (%)	13 (81,4)	14 (82,8)
Sebészeti origo, n (%)	-	11 (65,2)
Nem sebészeti origo, n (%)	-	6 (35,6)
SOFA score, (IQR)	-	7 (5-9)
SAPS score, (IQR)	-	39 (34-51)
APACHE II score, (IQR)	-	16 (12-23)

### II. táblázat A szepszis és ADMA vizsgálatba bevont betegek klinikai jellemzői

#### *ADMA monitorozás*

ADMA esetében nem találtunk szignifikáns különbséget a kontrollcsoport illetve a szeptikus csoport kiindulási mintái között, ugyanakkor a betegek 3. és 5. napon mért ADMA szintjei szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll csoport ADMA értékeinél ( $p=0,001$ ) és ( $p=0,003$ ). A szeptikus csoport ADMA szintjeinek monitorozása során a kiinduláshoz képest a 3. napra az ADMA koncentrációja szignifikánsan növekedést mutatott ( $p=0,003$ ). Ezt követően az 5. napra

valamelyest csökkent, de még mindig szignifikáns különbség volt megfigyelhető az 1. és az 5. napi ADMA értékek között ( $p=0,027$ ). Továbbá megfigyeltük, hogy azon betegek esetében, akiknél legalább három szervi elégtelenséget diagnosztizáltak, szignifikánsan magasabb volt az ADMA kiindulási koncentrációja ( $0,573 \mu\text{mol/l}$  vs.  $0,425 \mu\text{mol/l}$ ,  $p=0,018$ ). Azon betegek ADMA értékei, akiknek a SOFA score-juk 10 felett volt, szignifikánsan magasabbak voltak, mint a 10-es SOFA score alatti betegeké ( $0,542 \mu\text{mol/l}$  vs.  $0,307 \mu\text{mol/l}$ ,  $p=0,004$ ). Ezentúl a kiindulási ADMA értékek korreláltak a SOFA pontrendszerrel meghatározott score-okkal ( $r=0,587$ ,  $p=0,013$ ).

#### *SDMA és akut vesekárosodás*

A szeptikus betegek SDMA koncentrációja az összes mintavételi napon szignifikánsan magasabb volt a kontroll betegekhez viszonyítva ( $p<0,001$ ). Az 1., a 3. és az 5. mintavételi napokon mért SDMA koncentrációkat összehasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget. Ugyanakkor azon betegek 1. napi SDMA koncentrációja, akiknél a bennfekvés alatt akut vesekárosodás alakult ki, szignifikánsan magasabb volt azokhoz képest, akiknél ilyen szövődmény nem jelentkezett ( $0,81 \mu\text{mol/l}$  vs.  $0,43 \mu\text{mol/l}$ ,  $p<0,001$ ). Továbbá erős korrelációt találtunk az 1. napi SDMA és az urea ( $0,732$ ,  $p<0,001$ ), valamint az 1. napi SDMA és a kreatinin között ( $0,793$ ,  $p<0,001$ ).

#### *L-arginin*

Az 1. napon az L-arginin koncentrációja a szeptikus betegekben szignifikánsan alacsonyabb volt a kontrollokhoz képest ( $p<0,001$ ). Szepszises betegek körében az L-arginin koncentrációja az 1. naphoz képest a 3. napra szignifikánsan megnőtt ( $p<0,001$ ), majd az 5. napra csökkenni kezdett, de továbbra is szignifikánsan magasabb volt, mint az első mintavételi napon ( $p<0,005$ ).

#### *L-arginin/ADMA hányados*

A kontrollcsoportba bevont betegek esetében szignifikánsan magasabb L-arginin/ADMA arányszámot találtunk, összehasonlítva a szeptikus betegekkel ( $p<0,001$ ). A szeptikus betegek esetében az 1. napról a 3. napra az L-arginin/ADMA arány szignifikánsan nőtt majd. Az 5. napra a 3. napi értékhez képest lecsökkent, de továbbra is szignifikánsan magasabb volt, mint az 1. napon. Ugyanakkor a szepszis diagnózisát követő 5. napon mért L-arginin/ADMA arány továbbra is szignifikánsan alacsonyabb maradt a kontrollokhoz képest ( $p=0,007$ ).

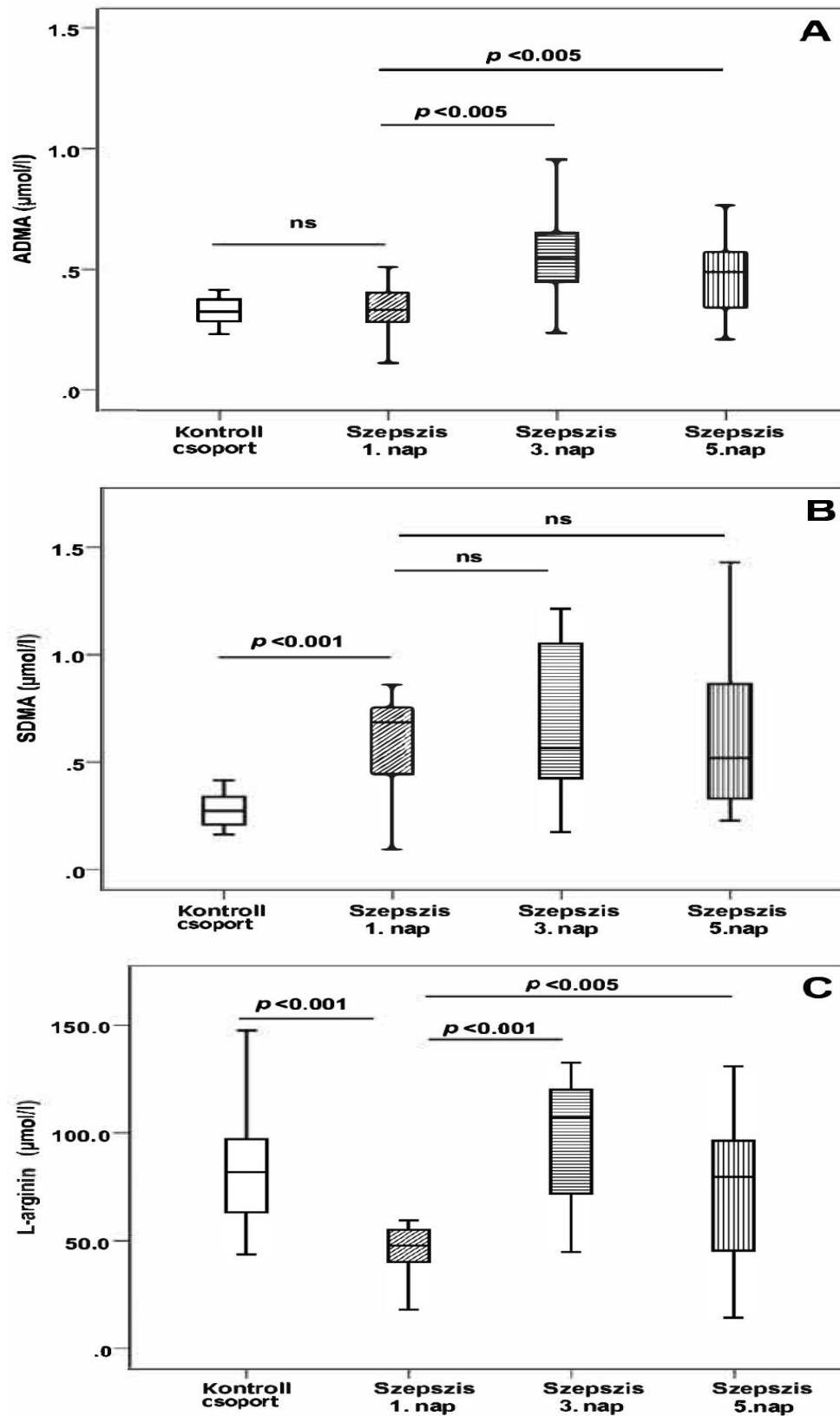
### *ADMA/SDMA hányados*

A kontrollok ADMA/SDMA hányadosa szignifikánsan magasabb volt, mint a szeptikus betegek 1. napi ADMA/SDMA hányadosa ( $p < 0,001$ ). A szeptikus betegek esetében az arány az 1. napról a 3. napra szignifikánsan nőtt ( $p < 0,005$ ), az 5. napon csökkenést mutatott, de továbbra is szignifikánsan magasabb volt az 1. napi értékhez képest ( $p < 0,005$ ).

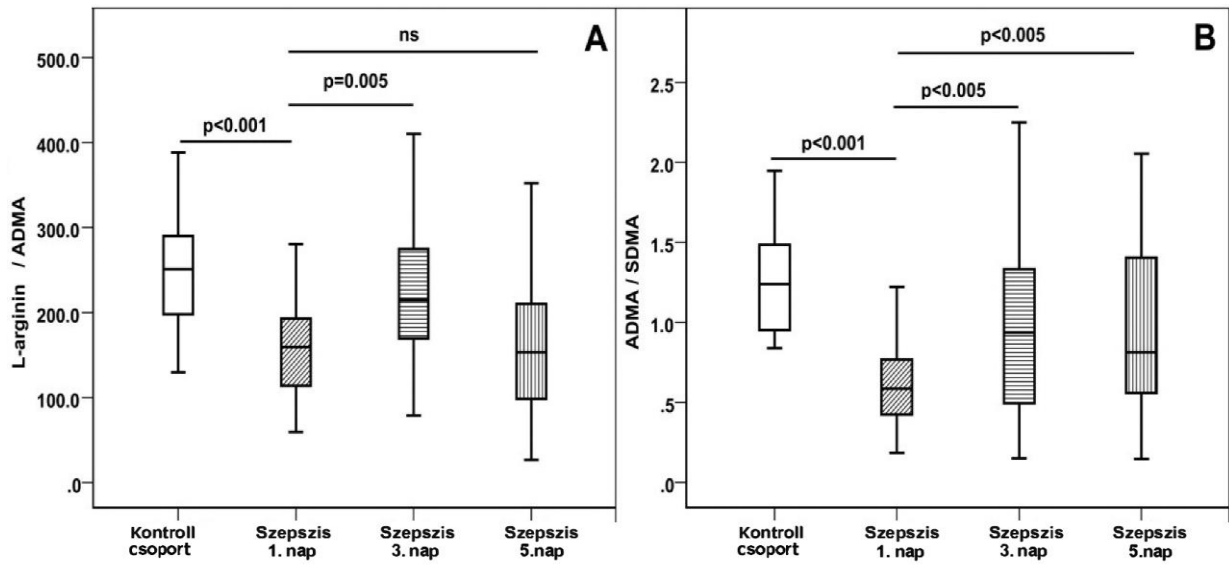
### *CRP és PCT*

Mind a CRP, mind a procalcitonin (PCT) csökkenő tendenciát mutatott. Mindkét gyulladást jelző marker szignifikánsan csökkent az 1. napról a 3. napra ( $p < 0,005$ ). Ugyanez a szignifikáns csökkenés jelentkezett a 3. napról az 5. napra ( $p < 0,005$ ). A CRP és a PCT szintek változását a 8. ábra szemlélteti.

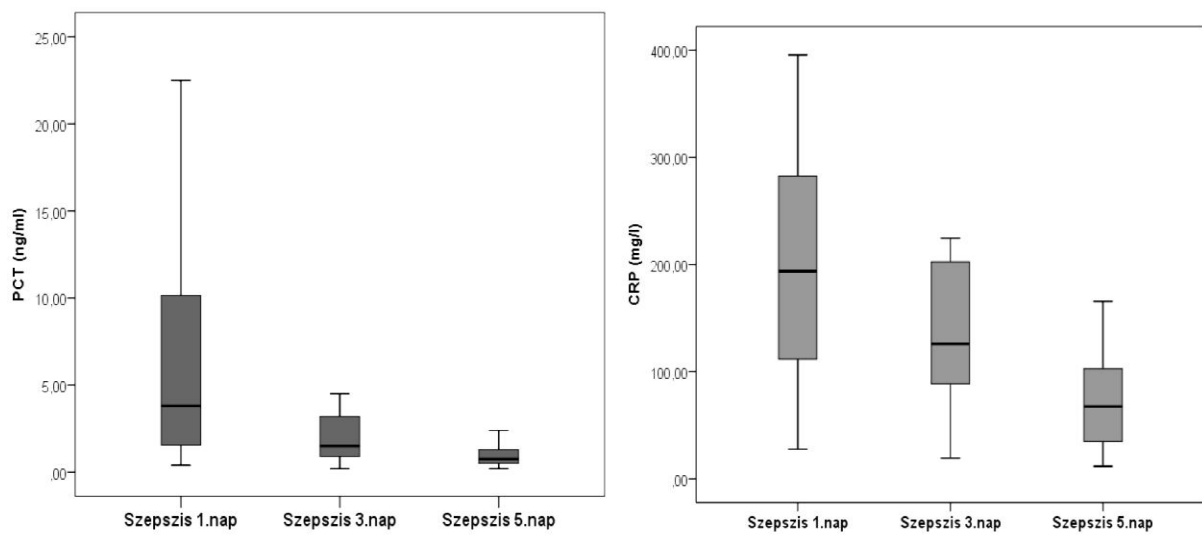




6. ábra L-arginin és dimetilargininek monitorozása. (A: ADMA, B: SDMA, C: L-arginin. ns=nem szignifikáns)



**7. ábra** L-arginin/ADMA arány és ADMA/SDMA arány monitorozása. (A: L-arginin/ADMA, B: ADMA/SDMA, ns=nem szignifikáns)



**8. ábra** A PCT és CRP koncentrációjának monitorozása septicus betegekben.

## IV.2. ADMA változása CO<sub>2</sub> kezelés hatására

Harminc egészséges kontroll személy plazma ADMA szintjét hasonlítottuk negyvenhét hipertóniás beteg plazma ADMA koncentrációjához, továbbá monitoroztuk a betegek ADMA szintjének CO<sub>2</sub> kezelés hatására bekövetkezett változását. A vizsgálatba bevont betegek klinikai jellemzőit a III. táblázat tartalmazza.

A kiindulási ADMA szintek (ADMA 0) a beteg csoportban szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll csoporthoz viszonyítva (0,35 μmol/l vs 0,41 μmol/l, p=0,018).

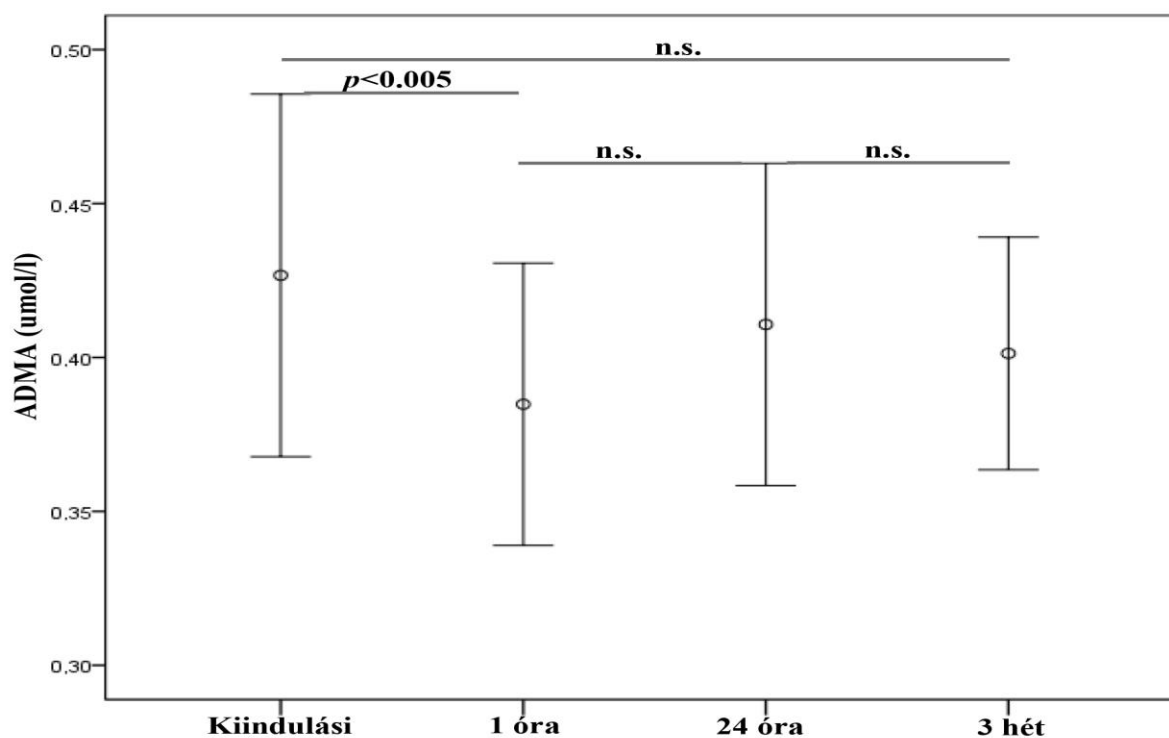
A diabéteszes betegek ADMA koncentrációja szignifikánsan magasabb volt, mint a cukorbetegségben nem szenvedőké (0,47 μmol/l vs 0,37 μmol/l, p=0,038).

Gyenge, de szignifikáns korrelációt találtunk az ADMA koncentráció és az életkor között (r=0,392, p=0,011).

A monitorozás során mért ADMA értékeket a 8. ábrán szemléltetjük. Egy órával a CO<sub>2</sub> kezelést követően az ADMA szintek a kiinduláshoz képest szignifikánsan csökkentek (p=0,003). 24 órával az első kezelést követően az ADMA koncentráció a kiindulási érték körüli szintre nő. 3 héttel az első kezelést követően az ADMA szintje nem szignifikánsan, ugyan de alacsonyabb, mint a kiindulási érték (p=0,210). Megvizsgáltuk, hogy a különböző rendszeresen szedett gyógyszerek (ACE-gátló, ARB, BB, diuretikum, PPI, H<sub>2</sub>-blokkoló) befolyásolják-e a CO<sub>2</sub> kezelés ADMA koncentrációra gyakorolt hatását. Az ACE-gátlót szedő betegek esetében szignifikánsan nagyobb mértékű ADMA csökkenést tapasztaltunk a CO<sub>2</sub> kezelést követő első órában p=0,019.

	Kontroll csoport (n=30)	Beteg csoport (n=47)	P-érték
Átlagéletkor, évek ( $\pm$ SD)	28 (8.4)	63 (8.6)	<0,001
Férfi, n (%)	13 (43)	20 (43)	0,808
Diabétesz, n (%)	-	18 (38)	-
CABG, n (%)	-	10 (21)	-
MI, n (%)	-	8 (17)	-
BMI, kg/m <sup>2</sup> ( $\pm$ SD)	25 (3,8)	29 (4,5)	0,706
FVS szám, (G/L)	6,53 (1,81)	6,12 (1,36)	0,238
ADMA 0 $\mu$ mol/L ( $\pm$ SD)	0,35 (0,07)	0,44 (0,14)	0,018
ADMA 1 óra $\mu$ mol/L ( $\pm$ SD)	-	0,37 (0,12)	-
ADMA 24 óra $\mu$ mol/L ( $\pm$ SD)	-	0,40 (0,14)	-
ADMA 3hét $\mu$ mol/L ( $\pm$ SD)	-	0,41 (0,09)	-

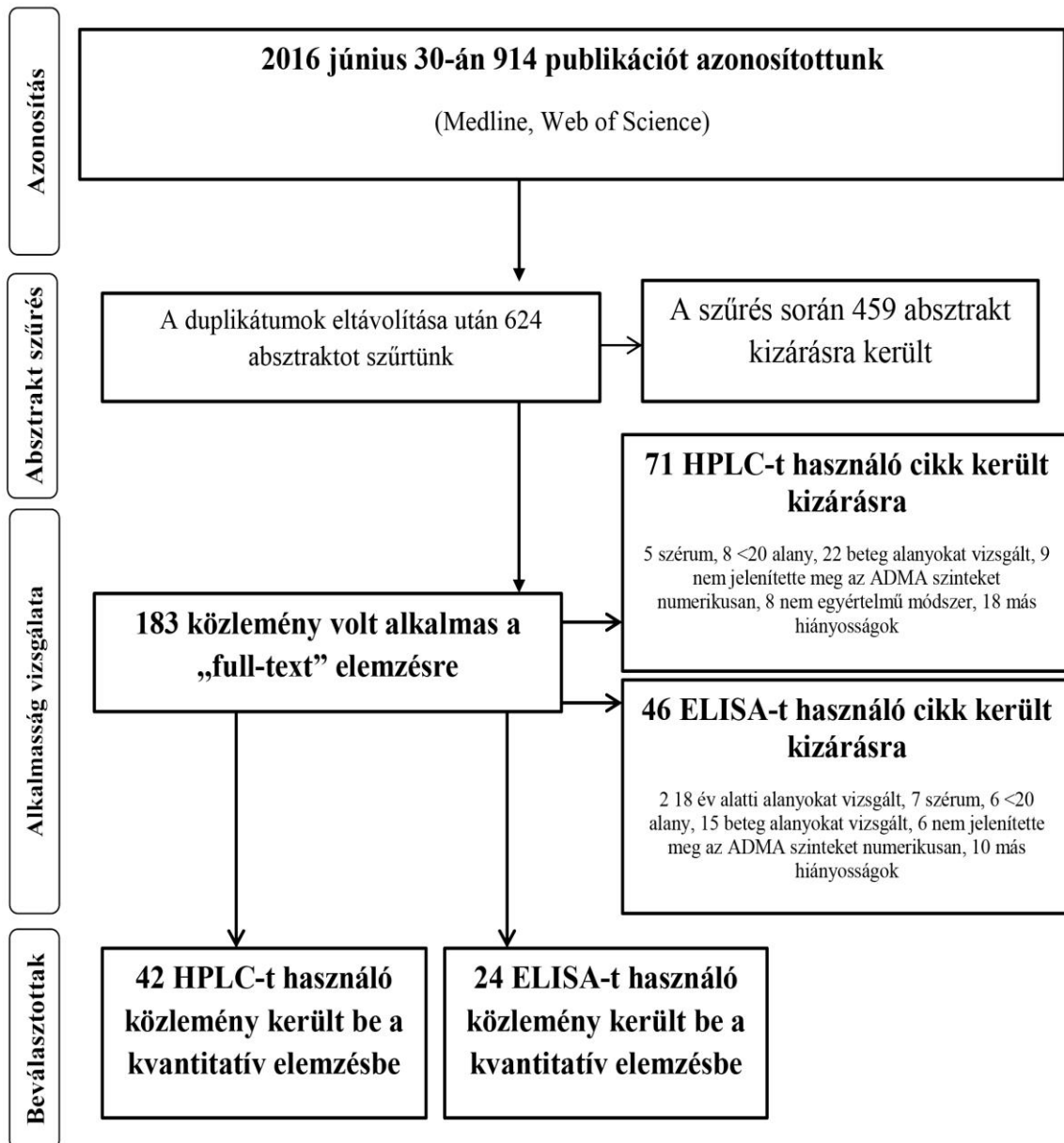
**III. táblázat.** A CO<sub>2</sub> és ADMA vizsgálatba bevont betegek klinikai jellemzői.



**9.ábra** Plazma ADMA koncentráció változásának monitorozása CO<sub>2</sub> kezelés hatására. (átlag és szórás). n.s.= non-szignifikáns

### IV.3. ADMA referenciatartomány meghatározás

A fent részletezett módszer segítségével 914 közleményt azonosítottunk a 2016. június 30.-án végzett keresés során. A duplikátumok felderítése után 642 absztraktot tekintettünk át. 183 közlemény került be a full-text kiértékelésbe. Végül 66 közlemény felelt meg a kvantitatív analízisbe való bekerülés feltételeinek, a kiválasztási procedúra folyamatábráját és a kizárások részletes okait a 9. ábra szemlélteti.



10. ábra PRISMA folyamatábra.

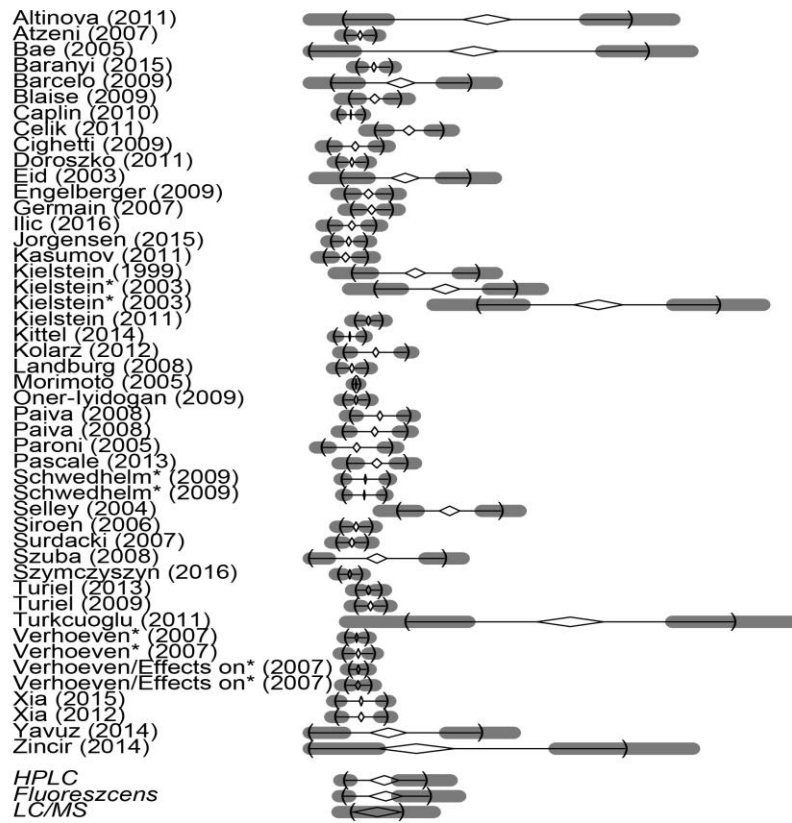
A fent részletezett kritériumok alapján mindösszesen 5528 (3178 férfi, 2350 nő, átlagéletkor:  $41,6 \pm 16,9$  év) egészséges felnőtt személy plazma ADMA koncentrációjából álló adatait vizsgáltuk. A bevont vizsgálatok zöme Európában történt (HPLC:78,7%, ELISA:93,1%). Mivel a referencia intervallum meghatározásához egészséges személyek plazma ADMA koncentrációjára volt szükség, a bevont kutatások legnagyobb része eset-kontroll vizsgálat. A 42 HPLC-t használó vizsgálatból 6 LC/MS, míg 36 fluoreszcens detekciót használ. A 24 ELISA-t használó vizsgálat közül 11 a DLD Diagnostika-tól vásárolt kitet, 12 az Immundiagnostik-tól vásárolt kitet használt. A megmaradt 1 a Schultze és munkatársai által publikált módszert használja (59). A HPLC-t használó publikációk esetében a plazma ADMA referenciatartomány  $\mu\text{mol/l}$ -ban kifejezve 0,34 (0,29-0,38) – 1,10 (0,85-1,35); átlag: 0,71 (0,57-0,85) (n=4093). Az ELISA-t használó publikációk esetében a plazma ADMA referenciatartomány  $\mu\text{mol/l}$ -ben kifejezve 0,25 (0,18-0,31) – 0,92 (0,76-1,09); átlag 0,57 (0,48-0,66) (n=1435). A különböző alcsoportok részletes eredményeit a IV. táblázatban tüntettük fel. Mindkét ADMA mérési módszer adatait együtt értékelve a plazma ADMA referencia intervallum 0,30 (0,27-0,34) – 1,03 (0,87-1,20); átlag 0,66 (0,56-0,75). A bevont vizsgálatok által meghatározott plazma ADMA szinteket, valamint a kapott ADMA referencia értékeket a 10. ábra és a IV. táblázat szemlélteti.

	HPLC		ELISA*	
	Fluoreszcens n=2852	LC/MS n=1241	DLD n=952	Immundiagnostik n=455
<b>Referencia intervallum (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	0,32 (0,28-0,37) – 1,14 (0,85-1,43)	0,41 (0,28-0,53) – 0,87 (0,56-1,18)	0,29 (0,20-0,39) – 1,03 (0,86-1,19)	0,21 (0,12-0,65) – 0,82 (0,54-1,10)
<b>Átlag (<math>\mu\text{mol/l}</math>)</b>	0,73 (0,56-0,89)	0,64 (0,42-0,87)	0,65 (0,55-0,74)	0,50 (0,34-0,65)

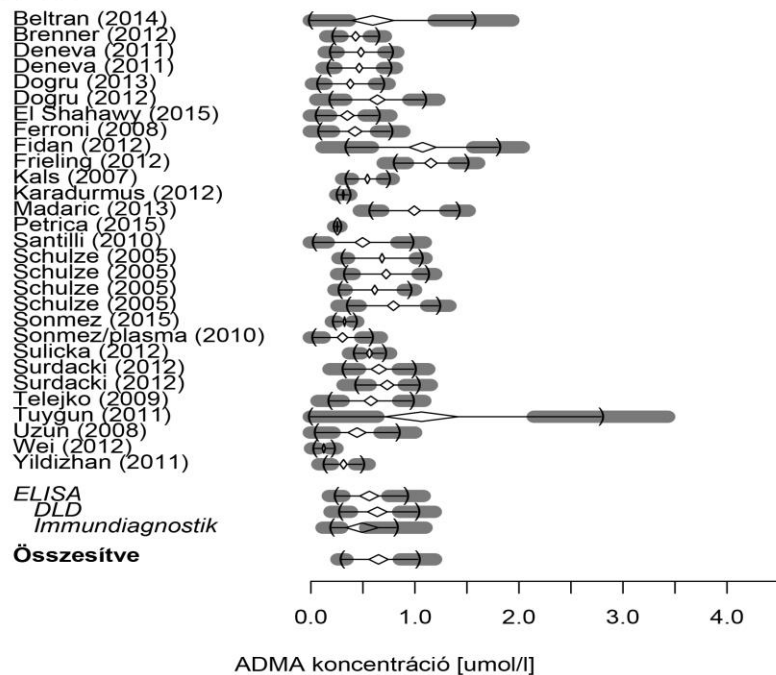
\*1 vizsgálat, amely másik módszert használ nincs feltüntetve

**IV. táblázat.** 95%-os ADMA referencia intervallum és átlag (95%-os konfidencia intervallummal) mérési módszerek típusa szerint felosztva.

## HPLC



## ELISA



**11.ábra** A bevont vizsgálatok által meghatározott plazma ADMA szintek és a kapott ADMA referencia értékek összefoglaló ábrája Forrest ploton szemléltetve

Össességében elmondható, hogy az eredmények extrém heterogenitást mutattak ( $Q=16074$ ,  $p<0,001$ ;  $\tau^2=0,1682$  ( $SE=0,0279$ );  $I^2=99,96\%$ ;  $H^2=2438$ ).

A metaregressziós analízisbe az életkort, a férfiak arányát, a BMI-t, a mérési módszer típusát (HPLC vagy ELISA) vontuk be moderátor változóként. Ezek közül egyedül a BMI befolyásolta szignifikáns mértékben az ADMA koncentrációját (minden egyes BMI „egység” növekedése  $0,1097 \mu\text{mol/l}$  ADMA csökkenéssel járt  $p=0,1097$ ). A mérési módszerek típusa nem befolyásolta az ADMA koncentrációját.



## V. MEGBESZÉLÉS

### V.1. ADMA és a szepszis

Számos kutatás vizsgálta az L-arginin és származékainak változását szeptikus betegekben. Ezen vizsgálatok közül egy esetében 24 óránál több idő telt el a szepszis diagnózisa és az első mintavétel között; következésképpen a betegség kezdeti szakában jelentkező változások vizsgálata elmaradt (60). Más vizsgálatok pedig mindössze 2 mintavételre szorítkoztak (61-64). Mindössze két olyan publikációt találtunk, amely az L-arginin, ADMA és az SDMA szintek változását egyidejűleg vizsgálta. Ezek közül az egyik pontatlan mintavételi protokollt használt (a szepszis diagnózisát követő 2-4 napon belül történt a mintavétel) (62). A másik vizsgálat nem mutatja be az L-arginin szint és az L-arginin/ADMA arány változását, ezáltal nem ad információt az NO biológiai hozzáférhetőségéről (62). Az NO-rendszer megfelelő regulációja kulcsfontosságú a szepszis túlélésének szempontjából. Irodalmi adatok szerint az NO alultermelődése károsítja az immunrendszer aktiválódását és működését. Ugyanakkor a túlzott NO termelés uralhatatlan hipotenzót okozhat, amely hipoperfúzió lévén célszerv károsodáshoz, majd halálhoz vezethet (61). Korábbi publikációk szerint az ADMA koncentráció emelkedése és a szepszis súlyossága között szoros kapcsolat van; tekintve, hogy az ADMA az NO-rendszer regulációján keresztül fontos szerepet tölt be a vaszkuláris reaktivitás, mikrocirkuláció és perfúzió fenntartásában. Tehát az emelkedett ADMA koncentráció az NO koncentrációjának csökkentése révén indirekt módon célszerv károsodáshoz vezethet (52,62,63). Ezt az összefüggést még ebben a relatíve kis beteganyagban is megfigyeltük, hiszen szignifikáns korrelációt találtunk az 1. napi ADMA és a SOFA score között. A célszerv károsodás tekintetében jelen vizsgálatunk alapján az SDMA az akut vesekárosodás korai markerének bizonyult. A vesekárosodott betegek körében talált magasabb SDMA koncentráció valószínűleg a szepszisre jellemző, beszűkült vesefunkció (csökkent exkréció) miatt történt, tekintve hogy az SDMA legnagyobb része a vizelettel távozik a szervezetből (21,66).

Az 1. napon megfigyelt alacsony L-arginin (6. ábra) koncentráció egyrészt a szepszis következtében fennálló katabolikus állapottal, másrészt a csökkent „de novo” L-arginin produkcióval magyarázható (66). A szepszis lefolyása során megfigyelt L-arginin emelkedésének oka nem teljesen tisztázott. Az egyik lehetséges magyarázat az lehet, hogy az ADMA szint kezdetben elég magas ahhoz, hogy gátolja a NOS enzimet, ezáltal csökkentse az NO szintjét, ami hozzájárul a vazoreguláció viszonylagos helyreállításához. Ugyanakkor a NOS

kezdeti gátoltsága miatt az L-arginin nem alakul át NO-vá, és így képes felhalmozódni. Természetesen mindezekhez hozzájárul az, hogy a kezelés és a speciális táplálás hatására a szervezet kezd kikerülni a fent említett katabolikus állapotból (37,66-68). Ezt erősíti az a megfigyelés is, miszerint az 5. napon, habár csökkenő tendenciával, de még mindig szignifikánsan magasabb L-arginin és ADMA értéket találtunk. Az L-arginin/ADMA arány nagyságából következtetni tudunk az NO biológiai hozzáférhetőségére. Az NO szepszisben betöltött kulcsfontosságú szerepét számos közlemény leírta (51,62,65-67).

Az L-arginin/ADMA arány a szepszis első napján szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll csoporthoz képest, ami csökkent NO termelésre/hozzáférésre utal, valószínűleg a fenn említett okokból adódó csökkent L-arginin kínálat miatt. A 3. napon megfigyelhető L-arginin/ADMA arány növekedése ismételten a fenti okokra vezethető vissza. Érdekes módon az 1. és 5. napon számolt L-arginin/ADMA hányados között nem találtunk szignifikáns különbséget. Ennek hátterében az állhat, hogy az L-arginin és az ADMA koncentrációjának változása valamint a sepsis fennállása miatt kialakuló gyulladásos állapot csökkentheti az eNOS aktivitását (37).

Az alkalmazott kezelés a szeptikus betegek esetében megfelelő volt, tekintve, hogy a vizsgálatba bevont betegek mindegyikénél az egyes mintavételi napokon mért CRP és PCT szintek napról-napra szignifikáns csökkenést mutattak. A 2. ábrán bemutatott L-arginin/ADMA arány ún. túlélési mintázatként fogható fel. Ezt a feltételezést erősíti, hogy egy korábbi vizsgálat ehhez hasonló L-arginin/ADMA mintázatot mutatott a szepszist túlélő betegek esetében, habár a mintavétel nem pontosan ugyanazokban az időpontokban történt (65). Összefoglalva elmondható, hogy a szepszis esetében az ADMA az NO koncentrációjának csökkentésével gátolja a kontrollálatlan vazodilatáció kialakulását, ezáltal koncentrációjának változása fontos faktor lehet a szepszis kimenetelében.

A vizsgálat limitációi: alacsony betegszám, egyéb oxidatív stressz paraméterek monitorozásának hiánya (maloniladehid, szérum antioxidáns kapacitás, S-glutation).

## **V.2. ADMA változása CO<sub>2</sub> kezelés hatására**

A kontrollcsoportba kizárólag fiatal egészséges önkénteseket választottunk be, hogy csökkentjük az olyan esetlegesen előforduló nem diagnosztizált betegségek jelenlétének valószínűségét, amelyeket befolyásolhatják az ADMA koncentrációt. Összhangban az irodalmi adatokkal, az általunk vizsgált beteganyagban is magasabb ADMA koncentrációt találtunk a

cukorbetegségben szenvedő betegeknel, illetve pozitív korrelációt sikerült kimutatni az ADMA és az életkor között (20,35).

Áttekintve a rendelkezésre álló irodalmat ez az első kutatás, amely a CO<sub>2</sub> kezelés ADMA koncentrációra gyakorolt hatását vizsgálta.

Az ADMA koncentráció CO<sub>2</sub> kezelés hatására bekövetkezett gyors csökkenése arra enged következtetni, hogy a CO<sub>2</sub> kezelés jótékony hatással volt az NO-rendszerre. Korábban on-pump és off-pump szívműtétek alatt mutattak ki ilyen rapid ADMA változást, amelyet a szerzők a műtét hatására bekövetkező masszív oxidatív stresszel és gyulladással magyaráztak (70). Az első kezelést követő 24. órában megfigyelt ADMA koncentráció emelkedés a CO<sub>2</sub> kezelés vazodilatátor hatásának múlásával magyarázható, esetlegesen betudható rebound hatásnak. Egy nemrég publikált kutatás szerint a CO<sub>2</sub> az oxidatív stressz univerzális inhibitora (71). A csökkent oxidatív stressz hatására hosszabb távon javul DDAH enzim határfoka, ezáltal hatékonyabban csökkenti az ADMA koncentrációt (26). Jelen kutatásunkban az összesen 9db CO<sub>2</sub> kezelés után, amelyet a betegek 3 hetes időintervallum alatt kaptak, a kiindulási ADMA koncentrációnál alacsonyabb átlag ADMA koncentrációt találtunk. Ez a statisztikailag nem szignifikáns, trendbeli különbség, valószínűleg a csökkent oxidatív stressz következménye, amelyre indirekt módon következtethetünk.

Az ACE-gátlót szedő betegek esetében szignifikánsan nagyobb mértékű ADMA csökkenést tapasztaltunk a CO<sub>2</sub> kezelést követő első órában.

Mindössze néhány vizsgálat foglalkozott az ACE-gátlók és az ADMA kapcsolatával. Veresh és munkatársai szerint az ADMA aktiválja a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszert, ami vazokonstrikcióhoz és megnövekedett oxidatív stresszhez vezet (72). Ito és munkatársai szignifikáns ADMA csökkenést találtak az ACE-gátlóval kezelt hipertóniás betegek körében (73). Napoli és munkatársai a zofenopril nevű ACE-gátló oxidatív stresszre gyakorolt hatását vizsgálták. Az ADMA és az MDA plazma koncentrációjának változását használták az oxidatív stressz mértékének megítélésére. A zofenopril kezelés hatására mind az ADMA mind az MDA koncentrációja szignifikáns csökkenést mutatott. A szerzők szerint a zofenopril jótékony hatást fejt ki az NO útra, illetve képes az oxidatív stressz csökkentésére (74). Korábbi tanulmányok szerint az ACE-gátlók bradikinin „spóroló” hatásuk miatt képesek a stimulálni az NO termelést (75,76).

Érdekes módon jelen kutatásunkban a kiindulási ADMA koncentrációban nem találtunk különbséget az ACE-gátló kezelésben részesülő és nem részesülő betegek között.

Az ADMA koncentráció  $\text{CO}_2$  kezelés hatására bekövetkezett rövid és hosszú távú csökkenéséből arra következtethetünk, hogy a  $\text{CO}_2$  jótékony hatásaiért nem egyedül a vazodilatáció a felelős, hanem képes az NO rendszer működésének befolyásolására valószínűleg az oxidatív stressz csökkentése révén. Eredményeink alapján elmondható, hogy az ACE-gátló adása a  $\text{CO}_2$  kezelés fent említett jótékony hatását képes tovább erősíteni, amelynek háttérében a RAAS aktivitás csökkenés és a vaszkuláris reaktivitás javítása állhat.

Összefoglalásképpen elmondható, hogy ez a kutatás rávilágít arra, hogy az ADMA koncentrációját nem csupán gyógyszeres úton, hanem a  $\text{CO}_2$  gáz megfelelő körülmények között történő transzktután adásával is befolyásolni tudjuk.

A vizsgálat limitációi: relatíve alacsony betegszám, a metilált arginin-származékok közül egyedül az ADMA változását monitoroztuk.

### **V.3. ADMA referenciatartomány meghatározás**

Jelen vizsgálat eredményeit összesen 5528 egészséges felnőtt személy plazma ADMA koncentrációjára alapozva kaptuk. A bevont vizsgálatok nagy része hasonló átlag ADMA értékeket produkált kis szórással, amiből arra lehet következtetni, hogy a bevont személyeknek nagyságrendileg hasonló ADMA szintjei voltak. Így azon alanyok száma, akiknél ADMA koncentrációt befolyásoló tényezők állhatnak fenn, valószínűleg alacsony. Ezek alapján kijelenthető, hogy a fent részletezett protokoll alkalmas az egészséges alanyok azonosítására. Ellentétben a Sydow és munkatársai által publikált közleménnyel, amelyben 980 egészséges felnőttet vizsgáltak és pozitív korrelációt találtak az ADMA és a BMI között, a mi vizsgálatunk minden egyes BMI „egység” növekedése esetén 0,1097  $\mu\text{mol/l}$  ADMA csökkenést mutatott. Ez az eredmény 3233 alany vizsgálatán alapult, mivel a bevont vizsgálatok 36%-a nem szolgáltatott BMI adatot. Ezentúl a BMI súlyozott szórása 2,69 volt, ami meglehetősen alacsonynak számít. A legjobb tudásunk szerint, ezt megelőzően nem volt olyan kutatás, amely ilyen nagyszámú egészséges felnőttél vizsgálta az ADMA és a BMI viszonyát.

A kutatás fő célja egy felnőttek esetében használható plazma ADMA referenciatartomány megadása volt.

Ugyanakkor az adatok magas heterogenitása miatt a kapott eredményeket körültekintően kell értelmezni és használni. A HPLC-t használó közlemények esetében a magas heterogenitás

háttérben a következők állhatnak: pre-analitikai hibák, eltérő laboratóriumi eszközök és anyagok felhasználása, eltérő kiértékelő szoftverek használata (77,78).

Néhány bevont vizsgálat a többihez hasonlítva észrevehetően magasabb ADMA koncentrációkat talált. Az egyik ilyen a Zincir és munkatársai által elvégzett kutatás, amelynek esetében az ADMA mérésére használt HPLC-s módszer megfelelő elválasztó képessége megkérdőjelezhető, ugyanakkor az SDMA és ADMA értékeket külön-külön tünteti fel (79). Turkuoglu és munkatársai közel kétszer akkora plazma ADMA koncentrációkat kaptak vizsgálataik során, mint amekkorát az általuk használt HPLC-s módszer maximális értéknek jelölt; azt, hogy ennek mi volt az oka illetve, hogy miért tartották elfogadhatónak, a szerzők nem diszkutálták (80). Annak ellenére, hogy az említett vizsgálatok esetében felmerült a metodikai hiba lehetősége, a meta-analízis végső statisztikai elemzéséből nem kerültek kizárásra, mivel a vizsgálat beválasztási kritériumainak megfeleltek. Így néhány „kilógó” adatot szolgáltató vizsgálat is bekerült a végső adatbázisba, a statisztikai analízist e kilógó adatok nélkül is elvégeztük, amely alig kimutatható heterogenitás csökkenéshez és elhanyagolható átlag, szórás és referenciatartomány változáshoz vezetett.

Érdekes módon annak ellenére, hogy az ELISA egy sokkal zártabb protokollal dolgozó, kevésbé „rugalmas” analitikai módszer, a fent említett magas heterogenitás ennél a módszernél is megfigyelhető volt. Hovatovább ez a heterogenitás még egyazon gyártók által előállított ELISA-kitek esetén is megfigyelhető volt.

Korábbi összehasonlító vizsgálatok szerint egyazon minta lemérése esetén az ELISA magasabb plazma ADMA koncentrációkat mér a HPLC-hez képest (81-83). Ezen összehasonlító vizsgálatok közül a legjelentősebb a 2007-ben Horowitz és munkatársai által készített munka, amely 2371 egészséges személy ADMA értékeit elemzi (83). Azonban ez egy „non-szisztematikus” áttekintő vizsgálat, tehát nem előre meghatározott protokoll alapján két független személy által áttekintve vonták be a közleményeket. Továbbá a plazma minták mellett szérumot is vizsgált. A legfontosabb különbség az, hogy a munka fő célja a különböző mérési módszerek analitikai szempontú összehasonlítása. A fent említett okok miatt belátható, hogy eredményeit a mi meta-analízisünkkel összehasonlítani nem célszerű. A legjobb tudásunk szerint ez az első szisztémás áttekintő vizsgálat és meta-analízis, amely egészséges felnőttek plazma ADMA koncentrációját vizsgálta. Érdekes módon az eddigi adatokhoz képest éppen ellenkező eredményeket kaptunk a plazma ADMA szintek HPLC-vel és ELISA-val történt meghatározásnak kérdésében.

Kutatásunk eredményei összhangban vannak a Leong és munkatársai által végezett 880 nőt vizsgáló 24 éven át tartó utánkövetés adatait feldolgozó tanulmány eredményeivel. Az említett utánkövetésből kiderült, hogy azon személyek esetében, akiknek a plazma ADMA szintje 0,75  $\mu\text{mol/l}$  felett volt, jelentősebb kardiovaszkuláris rizikóval kell számolni, mint azoknál a egyéneknél, akiknek az ADMA koncentrációja kisebb volt, mint 0,75  $\mu\text{mol/l}$  (50). A jelen meta-analízis által megadott egészségesekben mért átlag plazma ADMA koncentráció alacsonyabb volt, mint 0,75  $\mu\text{mol/l}$ .

Eredményeink rámutatnak, hogy bizonyos mérés technikai tényezők hogyan nehezíthetik meg a különböző vizsgálatok összehasonlíthatóságát; továbbá számos ADMA mérés technikai kérdést vet fel, amelyre a terület vezető kutatói találhatják meg a választ. Ahhoz, hogy az ADMA a mindennapi klinikai rutinba bekerülhessen, szükség lenne egy „gold-standard” mérési módszerre. Mindaddig szükséges marad az egészes kontrollok klinikai vizsgálatokba való bevonása.

A vizsgálat limitációi: ahhoz, hogy teljesen egészséges vizsgálati populációt kapjunk, azokat a csoportokat, amelyekben akár egy beteg is volt, teljes számban ki kellett zárunk, így néhány beteg személy miatt relatíve sok egészséges alanyt is „elvesztettünk”.

Továbbá, számos vizsgálatot kisebb hiányosságok vagy hibák miatt kellett kizárunk, amelyet a szerzők megkeresésünk ellenére sem korrigáltak (pl.: a szövegben és a táblázatban más adatokat jelenít meg, nem hivatkozik/ részletezi a használt mérési módszert, nem egyértelmű a használt minta eredete, nyomdahibák).

## VI. ÚJ EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA

### 1. ADMA és a szepszis

- szeptikus betegek L-arginin, ill. SDMA és ADMA időbeli változásának monitorozására a diagnózist követő 1. 3. és 5. napon
- sikerült azonosítanunk egy úgynevezett ADMA/L-arginin „túlélési mintázatot”. A szeptikus betegek esetében az L-arginin/ADMA arány szignifikánsan nőtt az 1. napról a 3. napra majd az 5. napra az arány ismét lecsökkent az 1. napi szinthez képest nem volt szignifikáns különbség.

### 2. ADMA változása CO<sub>2</sub> kezelés hatására

- monitoroztuk az ADMA koncentráció CO<sub>2</sub> kezelés hatására bekövetkező változását (az első CO<sub>2</sub> kezelést megelőző, a CO<sub>2</sub> kezelést követő 1. és 24. órában, valamint 3hét múlva vett vérminták segítségével)
- 1 órával a CO<sub>2</sub> kezelés után szignifikáns ADMA csökkenést mutattunk ki,
- 3 héttel az első CO<sub>2</sub> kezelés után az ADMA szintje nem szignifikánsan ugyan, de alacsonyabb, mint a kiindulási érték,
- az ACE-gátlót szedő beteg esetében szignifikánsan nagyobb az ADMA csökkenés mértéke.

### 3. ADMA referenciatartomány meghatározás

- áttekintettük a 2016. július óta az „ADMA” ÉS „egészséges” NEM „állat” kulcsszóra adott EMBASE és Web of Science adatbázisban található közleményeket
- meghatároztuk a plazma ADMA referenciatartományát külön HPLC és külön ELISA módszerrel történt vizsgálatokból. ). A HPLC-t használó publikációk esetében a plazma ADMA referenciatartomány  $\mu\text{mol/l}$ -ban kifejezve 0,34 (0,29-0,38) – 1,10 (0,85-1,35). Az ELISA-t használó publikációk esetében a plazma ADMA referenciatartomány  $\mu\text{mol/l}$ -ben kifejezve 0,25 (0,18-0,31) – 0,92 (0,76-1,09),
- rámutattunk az azonos laboratóriumi módszereket (HPLC vagy ELISA) használó vizsgálatok ADMA értékeinek magas heterogenitására.

## VII. IRODALOMJEGYZÉK

1. JA, Whitworth & World Health Organization, I. S. 2003 World Health Organization (WHO)/International Society of Hypertension (ISH) statement on management of hypertension. *J Hypertens* 2003 21(11):1983-92.
2. WHO. Global Status Report on NCDs 2014: Chapter 1 – pp.9-11. Letöltés dátuma: 2017.05.10. forrás: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/148114/1/9789241564854_eng.pdf)
3. Központi Statisztikai Hivatal. Demográfiai Évkönyv, 2017. Letöltés dátuma: 2019.05.21. forrás: <https://www.ksh.hu/epolc/>
4. I. Préda István. Kardiológia Alapok és irányelvek Szív és érbetegségek kockázati tényezői. 2010 pp. 6-10. Budapest: Medicina Könyvkiadó Zrt.
5. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension *European Heart Journal* 2013 34, 2159–2219.
6. WHO. Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus Letöltés dátuma: 2017.05.10. forrás: [http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c\\_2011.pdf](http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c_2011.pdf)
7. Leon MB, Maddox MT. Diabetes and cardiovascular disease: Epidemiology, biological mechanisms, treatment recommendations and future research. *World Journal of Diabetes* 2015 6(13): 1246-1258.
8. World Health Organization. Global health risks: Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva, WHO, 2009. Letöltés dátuma: 2017.05.10. forrás: [http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/GlobalHealthRisks\\_report\\_full.pdf](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/GlobalHealthRisks_report_full.pdf).
9. Doll R, Peto R, Boreham J, et al. Mortality in relation to smoking: 50 years' observations on male British doctors. *British Medical Journal* 2004 328(7455):1519.
10. WHO; Federation, World Heart; Organization, World Stroke. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Letöltés dátuma: 2017.05.10. forrás: [http://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/publications/atlas\\_cvd/en/](http://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/atlas_cvd/en/).
11. Kontush. HDL-mediated mechanisms of protection in cardiovascular disease. *Cardiovascular Research* 2014 103:341-349.



12. WHO. Global Health Observatory (GHO) data. Letöltés dátuma: 2017.05.10. forrás: [http://www.who.int/gho/ncd/risk\\_factors/cholesterol\\_text/en/](http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/cholesterol_text/en/).
13. WHO. Noncommunicable diseases and mental health . Letöltés dátuma: 2017.05.10. forrás: [http://www.who.int/nmh/countries/hun\\_en.pdf](http://www.who.int/nmh/countries/hun_en.pdf).
14. Préda István, Czuriga István, Édes István, Merkely Béla Kardiológia alapok és irányelvek 2010. Budapest: Medicina Könyvkiadó Zrt.
15. Kockázatbecslő tábla. Magyar Nemzeti Szívalapítvány. Letöltés dátuma: 2017.05.10. forrás: <http://www.mnsza.hu/szivbeteg/adattar/rizikotabla.htm>
16. D'Agostino RB Sr, Vasan RS, Pencina MJ et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2008 117(6): 743.
17. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, et al. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *JAMA* 2007 297(6): 611.
18. Ridker PM, Paynter NP, Rifai N, et al. C-reactive protein and parental history improve global cardiovascular risk prediction: the Reynolds Risk Score for men. *Circulation* 2008 118(22): 2243.
19. Vallance P, Leone A, Calver A, et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992 339: 572–575.
20. Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Über marker? *Circulation* 2004 109(15):1813–1818.
21. Sibal L, Agarwal SC, Home DP and Boger RH: The role of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Curr Cardiol Rev* 2010 6: 82-90.
22. Morales Y, Nitzel DV, Price OM. Redox Control of Protein Arginine Methyltransferase 1 (PRMT1) Activity. *J Biol Chem* 2015 290(24): 14915-1426.
23. Zelzer S, Enko D, Pilz S. Myeloperoxidase, asymmetric dimethyl-arginine and the renin-angiotensin-aldosterone-system in cardiovascular risk patients: Cross-sectional findings from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clin Biochem*. 2017 pii: S0009-9120 (16): 30684-1.
24. Böger RH. The emerging role of asymmetric dimethylarginine as a novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc Res* 2003 59(4): 824-833.
25. Sydow K, Münzel T. ADMA and oxidative stress. *Atheroscler Suppl* 2003 4(4): 41-51.

26. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Ogawa T and Cooke JP: Novel mechanism for endothelial dysfunction: dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* 1999 99:3092-3095.
27. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am. J. Physiol* 1996 271(5 Pt 1): 1424–1437.
28. Veselá A, Wilhelm J. The role of carbon dioxide in free radical reactions of the organism. *Physiol. Res* 2002 51(4): 335–339.
29. Lowenstein CJ, Michel T. What's in a name? eNOS and anaphylactic shock. *J. Clin. Invest.* 2006 116(8): 2075–2078.
30. Szabó C, Thiernemann C.: Invited opinion: role of nitric oxide in hemorrhagic, traumatic, and anaphylactic shock and thermal injury. *Shock* 1994 2(2): 145–155.
31. Yu XJ, Li YJ, Xiong Y. Increase of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in serum of high cholesterol fed rabbits. *Life Sci* 1994 54: 753–758.
32. Németh B, Kustán P, Németh Á, Lenkey Zs, Cziráki A, Kiss I, Sulyok E, Ajtay Z. Aszimmetrikus dimetilarginin: a cardiovascularis betegségek prediktora? *Orvosi Hetilap* 2016 157:(13) 483-487.
33. Zoccali C, Benedetto FA, Maas R. Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002 13(2): 490-496.
34. Cakar, M., Bulucu, F., Karaman, M., et al.: Asymmetric dimethylarginine and augmentation index in newly diagnosed patients with hypertension. *Angiology* 2015 66(1): 43–48.
35. Furuki, K., Adachi, H., Enomoto, M.: Plasma level of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a predictor of carotid intima-media thickness progression: Six-year prospective study using carotid ultrasonography. *Hypertens. Res* 2008 31(6): 1185–1189.
36. Tse-Min LuYu-An DingShing-Jong LinWen-Shin Lee Ho-Charng Tai. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *European Heart Journal* 2003 24 (21): 1912-1919.
37. Bode-Böger SM, Scalera F, Ignarro LJ. The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio. *Pharmacol Ther* 2007 114(3): 295-306.
38. Seljeflot I, Nilsson BB, Westheim AS. The L-arginine-asymmetric dimethylarginine ratio is strongly related to the severity of chronic heart failure. No effects of exercise training. *J Card Fail* 2011 17(2): 135-142.

39. Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998 98(18): 1842-1847.
40. Lu TM, Ding YA, Leu HB, et al. Effect of rosuvastatin on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004 15; 94(2): 157-161.
41. Böger GI, Rudolph TK, Maas R, et al. Asymmetric dimethylarginine determines the improvement of endothelium-dependent vasodilation by simvastatin: Effect of combination with oral L-arginine. *J Am Coll Cardiol* 2007 49(23): 2274-2282.
42. Asymmetric dimethylarginine produces vascular lesions in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice: involvement of renin-angiotensin system and oxidative stress.
43. Suda O, Tsutsui M, Morishita T, et al. Asymmetric dimethylarginine produces vascular lesions in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice: involvement of renin-angiotensin system and oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004 24(9): 1682-1688.
44. Wakino S, Hayashi K, Tatematsu S, et al. Pioglitazone lowers systemic asymmetric dimethylarginine by inducing dimethylarginine dimethylaminohydrolase in rats. *Hypertens Res* 2005 28: 255–262.
- Ozgurtas T, Oktenli C, Dede M, et al. Metformin and oral contraceptive treatments reduced circulating asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Atherosclerosis* 2008 200(2): 336-344.
45. Bode-Böger SM, Martens-Lobenhoffer J, Täger M, et al. Aspirin reduces endothelial cell senescence. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 334(4): 1226-1232.
46. Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* 2001 358: 212-228.
47. Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, et al. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with coronary artery disease: results from the Athero-Gene Study. *Circ. Res* 2005 97(5): e53–e59.
48. Böger, R. H., Sullivan, L. M., Schwedhelm, E., et al. Plasma asymmetric dimethylarginine and incidence of cardiovascular disease and death in the community. *Circulation* 2009 119(12): 1592–1600.
49. Willeit P, Freitag DF, Laukkanen JA, Chowdhury S, Gobin R, Mayr M, et al. Asymmetric dimethylarginine and cardiovascular risk: systematic review and meta-analysis of 22 prospective studies. *J Am Heart Assoc.* 2015 4(6): e001833

50. Leong, T., Zylberstein, D., Graham, I., et al.: Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women: 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008 28(5): 961–967.
51. Brenner T, Fleming TH, Rosenhagen C, et al. L-arginine and asymmetric dimethylarginine are early predictors for survival in septic patients with acute liver failure. *Mediators Inflamm* 2012 2012: 210454.
52. Koch A, Weiskirchen R, Bruensing J, et al. Regulation and prognostic relevance of symmetric dimethylarginine serum concentrations in critical illness and sepsis. *Mediators Inflamm* 2013 2013:413826..
53. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS: 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003 31: 1250-1256.
54. Vincent JL, Mendonça D, Cantraine F, et al. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: Results of a multicenter, prospective study. *Crit Care Med* 1998 26: 1793-1800.
55. Fabry R, Monnet P, Schmidt J, et al. Clinical and microcirculatory effects of transcutaneous CO<sub>2</sub> therapy in intermittent claudication. Randomized double-blind clinical trial with a parallel design. *Vasa* 2009 38 213-224.
56. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, et al. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS Med* 2009 6(7): e1000097.
57. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999 8(2): 135-160.
58. Wan X, Wang W, Liu J, Tong T. Estimating the sample mean and standard deviation from the sample size, median, range and/or interquartile range. *BMC Med Res Methodol* 2014 14: 135.
59. Schulze F, Wesemann R, Schwedhelm E, et al. Determination of asymmetric dimethylarginine (ADMA) using a novel ELISA assay. *Clin Chem Lab Med* 2004 42(12): 1377-1383.
60. Luiking YC, Poeze M, Ramsay G, et al. Reduced citrulline production in sepsis is related to diminished de novo arginine and nitric oxide production. *Am J Clin Nutr* 2009 89(1): 142-152.

61. Böger RH. Live and let die: asymmetric dimethylarginine and septic shock. *Crit Care* 2006 10(6): 169.
62. Davis JS, Darcy CJ, Yeo TW, et al. Asymmetric dimethylarginine, endothelial nitric oxide bioavailability and mortality in sepsis. *PLoS One* 2011 6(2): 1-6.
63. O'Dwyer MJ, Dempsey F, Crowley V, et al. Septic shock is correlated with asymmetrical dimethyl arginine levels, which may be influenced by a polymorphism in the dimethylarginine dimethylaminohydrolase II gene: a prospective observational study. *Crit Care* 2006 10(5): R139, 2006.
64. Gough MS, Morgan MAM, Mack CM, et al. The Ratio of Arginine to Dimethylarginines is Reduced and Predicts Outcomes in Patients with Severe Sepsis. *Crit Care Med* 2012 39(6): 1351-1358.
65. Iapichino G, Umbrello M, Albicini M, et al. Time course of endogenous nitric oxide inhibitors in severe sepsis in humans. *Minerva Anestesiol* 2010 76(5): 325-333.
66. Davis JS, Anstey NM. Is plasma arginine concentration decreased in patients with sepsis? A systematic review and metaanalysis. *Crit Care Med* 2011 39(2): 380-385.
67. Kalil AC, Danner RL. L-Arginine supplementation in sepsis: beneficial or harmful? *Curr Opin Crit Care* 2006 12(4): 303-308.
68. Luiking YC, Poeze M, Ramsay G, et al. The role of arginine in infection and sepsis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2005 29(1): 70-74.
69. Brenner T, Fleming TH, Rosenhagen C, et al. L-arginine and asymmetric dimethylarginine are early predictors for survival in septic patients with acute liver failure. *Mediators Inflamm* 2012 2012 Article ID 210454, 11 oldal
70. Cziráki A, Ajtay Z, Németh Á, et al. Effects of coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass on plasma levels of asymmetric dimethylarginine. *Coron Artery Dis* 2011 22: 245-252.
71. Bolevich S, Kogan AH, Zivkovic V, Protective role of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) in generation of reactive oxygen species. *Mol Cell Biochem* 2016 411: 317-330.
72. Veresh Z, Debreczeni B, Hamar J, et al. Asymmetric dimethylarginine reduces nitric oxide donor-mediated dilation of arterioles by activating the vascular renin-angiotensin system and reactive oxygen species. *J Vasc Res* 2012 49: 363-372.

73. Ito A, Egashira K, Narishige T, et al. Renin-angiotensin system is involved in the mechanism of increased serum asymmetric dimethylarginine in essential hypertension. *Jpn Circ J* 2001 65: 775-778.
74. Napoli C, Sica V, de Nigris F, et al. Sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibition induces sustained reduction of systemic oxidative stress and improves the nitric oxide pathway in patients with essential hypertension. *Am Heart J* 2004 148: e5.
75. Hartman JC. The role of bradykinin and nitric oxide in the cardioprotective action of ACE inhibitors. *Ann Thorac Surg* 1995 60(3): 789-792.
76. Zhang X, Xie Y-W, Nasjletti A, et al. ACE inhibitors promote nitric oxide accumulation to modulate myocardial oxygen consumption. *Circulation* 1997 95: 176-182.
77. Kaushik N, Green S. Pre-analytical errors: their impact and how to minimize them. *MLO Med Lab Obs* 2014 46(5): 22, 24, 26. Letöltés dátuma: 2017.05.18. forrás : <http://www.mlo-online.com/pre-analytical-errors-their-impact-and-how-to-minimize-them.php>.
78. Sakyi AS, Laing EF, Ephraim RK, et al. Evaluation of analytical errors in a clinical chemistry laboratory: A 3 year experience. *Annals of Medical and Health Sciences Research* 2015 5(1): 8-12.
79. Zincir S, Zincir SB, Doruk A, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and treatment response relationship in male patients with first-episode schizophrenia: a controlled study. *Psychiatry Res* 2014 220(1-2): 76-80.
80. Turkcuoglu I, Engin-Ustun Y, Turan F, et al. Evaluation of asymmetric dimethylarginine, nitric oxide levels and associated independent variables in obese and lean patients with polycystic ovarian syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2011 27(9): 609-614.
81. Martens-Lobenhoffer J, Westphal S, Awiszus F, et al. Determination of asymmetric dimethylarginine: liquid chromatography-mass spectrometry or ELISA? *Clin Chem* 2005 51(11): 2188-2189.
82. Sirok R, Trefil L, Rajdl D, et al. Asymmetric dimethylarginine--comparison of HPLC and ELISA methods. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007 850(1-2): 586-587.
83. Horowitz JD, Heresztyn T. An overview of plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in health and disease and in clinical studies: methodological considerations. *J Chromatogr B* 2007 851(1-2): 42-50.
84. Dzau JV. Tissue Renin-Angiotensin System in Myocardial Hypertrophy and Failure. *Arch Intern Med.* 1993;153(8):937-942.

## VIII. A DOLGOZAT ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ PUBLIKÁCIÓK

1. Balázs Németh, István Kiss, Iván Péter, Zénó Ajtay, Ádám Németh, László Márk, Attila Csorba, Tamás Kőszegi, Diána Mühl, Péter Kustán.  
Monitoring of L-arginine and Endogenous Dimethylarginines in Survivor Septic Patients – A Pilot Study. **In vivo** 30:(5) pp. 663-669 (2016) Q2; IF=0,953
2. Péter Iván, Jagicza Anna, Ajtay Zénó, Kiss István, Németh Balázs.  
A psoriasis és az oxidatív stressz. **Orvosi Hetilap** 157:(45) pp. 1781-1785. (2016) Q3; IF=0,349
3. Németh Balázs, Kustán Péter, Németh Ádám, Lenkey Zsófia, Cziráki Attila, Kiss István, Sulyok Endre, Ajtay Zénó.  
Aszimmetrikus dimetilarginin: a cardiovascularis betegségek prediktora? **Orvosi Hetilap** 157:(13) pp. 483-487. (2016) Q3 IF=0,349
4. Balázs Németh, István Kiss, Tímea Jencsik, Iván Péter, Zita Kreska, Tamás Kőszegi, Attila Miseta, Péter Kustán, Zénó Ajtay.  
Angiotensin converting enzyme inhibition improves the effectiveness of transcutaneous carbon dioxide treatment. **In vivo** 31:(3) pp. 425-428 (2017) Q2 IF=1,116
5. Balázs Németh, Zénó Ajtay, László Hejjel, Tamás Ferenci, Edit Murányi, István Kiss.  
The issue of plasma asymmetric dimethylarginine reference range – a systematic review and meta-analysis. **PLOS ONE** 12: (5) p. e0177493. (2017) Q1 IF= 2,766

## TOVÁBBI PUBLIKÁCIÓK

Kustán Péter, Horváth-Szalai Zoltán, Németh Balázs, Török Csaba, Ragán Dániel, Kőszegi Tamás, Mühl Diána. A szepszis diagnózisa napjainkban. **Magyar Epidemiológia** 12:(1-2) pp.59-66. (2016)

Németh Balázs, Kiss István, Ajtay Zénó. EKG paraméterek szerepe a hirtelen szívhalál előrejelzésében. **Magyar Epidemiológia** 12:(1-2) pp. 39-44 (2016)

Balázs Németh, Lóránd Kellényi, István Péterfi, Tamás Simor, Diána Ruzsa, Holczer Lőrinc, István Kiss, Iván Péter, Zénó Ajtay. New Validated Signal-averaging-based Electrocardiography Method to Determine His-ventricle Interval. **In vivo** 30: 899-903 (2016) (Q2; IF=0,953)

Kustán Péter, Szirmay Balázs, Kőszegi Tamás, Ludány Andrea, Kovács L. Gábor, Miseta Attila, Mühl Diána, Németh Balázs, Kiss István, Németh Ádám, Szabados Sándor, Ajtay Zénó. Monitoring urinary orosomuroid in patients undergoing cardiac surgery: a promising novel inflammatory marker. **Clinical Biochemistry** 50: 1002-1006 (2017) (Q1; IF= 2,584)

Iván Péter, Anna Jagicza, Zénó Ajtay, Imre Boncz, István Kiss, Katalin Szendi, Péter Kustán, Balázs Németh. Balneotherapy in Psoriasis Rehabilitation. **In Vivo** 31(6):1163-1168 (2017) (Q2 IF=1,116)

Adrienn Hanzel, Krisztina Horvát, Bálint Molics, Károly Berényi, Balázs Németh, Katalin Szendi, Csaba Varga. Clinical improvement of patients with osteoarthritis using thermal mineral water at Szigetvár Spa—results of a randomised double-blind controlled study. **International Journal Of Biometeorology** 62:(2) pp. 253-259. (2018) (Q2; **IF=2,377**)



Balázs Németh, Edit Murányi, Péter Hegyi, Péter Mátrai, Zsolt Szakács, Péter Varjú, Szilárd Hamvas, Benedek Tinusz, Ferenc Budán, József Czimmer, Bálint Bérczi, Bálint Erőss, Zoltán Gyöngyi, István Kiss. Asymmetric dimethylarginine levels in preeclampsia – Systematic review and meta-analysis. **Placenta** 69: pp. 57-63. (2018) (Q1; **IF=2,773**)

Zita Kreska, Balázs Németh, István Kiss, Iván Péter, Zénó Ajtay, László Hejmel. Transcutaneous carbon dioxide treatment affects heart rate variability - a pilot study. **In Vivo** 32(5): 1259-1256. (2018) (Q3; **IF=1,609**)

Szabolcs Béres, Ádám Németh, Zénó Ajtay, István Kiss, Balázs Németh, László Hejmel. Cellular phone irradiation of the head affects heart rate variability depending on inspiration/expiration ratio. **In Vivo** 32(5): 1145-1153. (2018) (Q3; **IF=1,609**)

Péter Kustán, Tamás Kőszegi, Attila Miseta, Iván Péter, Zénó Ajtay, István Kiss, Balázs Németh. Urinary Orosomuroid A Potential Marker Of Inflammation In Psoriasis. **International Journal of Medical Science** 15:(11) pp. 1113-1117. (2018) (Q2; **IF= 2,333**)

Balázs Németh, István Kiss, Bella Ajtay, Iván Péter, Zita Kreska, Attila Cziráki, Iván G Horváth, Zénó Ajtay. Transcutaneous Carbon Dioxide Treatment Is Capable of Reducing Peripheral Vascular Resistance in Hypertensive Patients. **In Vivo** 32:1555-1559. (2018) (Q3; **IF=1,609**)

András Palkovics, András Vereczkei, Károly Nagy Kalmár, András Fincsur, István Kiss, Balázs Németh, András Papp. The Issue of Survival After Colorectal Liver Metastasis Surgery: Parenchyma Sparing vs. Radicality. **Anticancer Research** 38:6431-6438. (2018) (Q2; **IF=1,935**)

Adrienn Hanzel, Károly Berényi, Krisztina Horváth, Katalin Szendi, Balázs Németh, Csaba Varga. Evidence for the therapeutic effect of the organic content in Szigetvár thermal water on osteoarthritis a double-blind, randomized, controlled clinical trial. **International Journal of Biometeorology** 63(4):449-458. (2019) (Q2; **IF=2,377**)

Balázs Németh, Iván Péter, Imre Boncz, Anna Jagicza<sup>1</sup>, István Kiss, Ágnes Csergő, Tamás Kőszegi, Péter Kustán, Iván G Horváth, Zénó Ajtay. Urinary Orosomucoid: A New Marker Of Cardiovascular Risk In Psoriatic Patients? **Therapeutics and Clinical Risk Management** 15:831-837. (2019) (Q1; **IF= 1,824**)

**Az értekezés alapját képező közlemények összesített impakt faktora: 5,533**

**Az értekezéshez nem használt közlemények összesített impakt faktora: 23,099**

**A publikációk összesített impakt faktora (2019): 28,632**

### **Idézhető absztraktok**

Németh Balázs, Simor Tamás, Cziráki Attila, Ajtay Zénó, Kellényi Lóránd, Péterfi István. Kardiális átvezetési idők és kamrai utópotenciálok non-invazív vizsgálata

**Bulletin Of Medical Sciences / Orvostudományi Értesítő** 88:(1) p. 151. 1 p. (2015) XXII. Tudományos Diákköri Konferencia. Marosvásárhely, Románia: 2015.03.25 -2015.03.28.

Kustán Péter, Horváth-Szalai Zoltán, Németh Balázs, Ludány Andrea, Mühl Dia, Kőszegi Tamás. Sepsis and oxidative stress.

**International CEEPUS Summer School on Complex Diseases**, Szlovénia, Portoroz július 23-29. (2015)

Németh Balázs, Németh Ádám, Cziráki Attila, Simor Tamás, Kellényi Lóránd, Péterfi István, Ajtay Zénó. Kardiális mikropotenciálok non-invazív regisztrálása. Pécs, Magyarország, 2015.02.05-2015.02.06. **PTE ÁOK Tudományos Diákköri Konferencia 2015** (Konzervatív klinikai orvostudomány /pp.98)

Németh Balázs, Németh Ádám, Cziráki Attila, Simor Tamás, Kellényi Lóránd, Péterfi István, Ajtay Zénó. Kardiális mikropotenciálok non-invazív regisztrálása. Pécs, Magyarország, 2015.02.05-2015.02.06. **PTE ÁOK Tudományos Diákköri Konferencia 2015** (Konzervatív klinikai orvostudomány /pp.98)

Németh Balázs, Lenkey Zsófia, Németh Ádám, Ajtay Zénó, Cziráki Attila, Szabados Sándor  
Összefüggés az emelkedett plazma ADMA szint és a koronáira betegségek szövődményei  
között. **Bulletin Of Medical Sciences / Orvostudományi Értesítő** 87: p. 41. 1 p. (2014)  
XXI. Tudományos Diákköri Konferencia. Marosvásárhely, Románia: 2014.03.27 -2014.03.30.

Németh Balázs, Németh Ádám, Lenkey Zsófia, Ajtay Zénó, Cziráki Attila.  
ADMA szerepe a kardiovaszkuláris betegségek előrejelzésében. Pécs, Magyarország,  
2014.04.03-2014.04.04. **PTE ÁOK Tudományos Diákköri Konferencia 2014** (Konzervatív  
klinikai orvostudomány /pp.121)

Kreska Zita, Ajtay Zénó, Németh Balázs, Hejjel László  
A bioelektromágneses-kezelés vegetatív hatása a szívritmus variabilitás változás tükrében  
**CARDIOLOGIA HUNGARICA** 48: p. C54. 1 p. (2018)

Németh Balázs, Ajtay Zénó, Kreska Zita, Kustán Péter, Kőszegi Tamás, Péter Iván  
A transzkután szén-dioxid kezelés hatása a nitrogén-monoxid biológiai hozzáférhetőségére  
**CARDIOLOGIA HUNGARICA** 48: p. C50. 1 p. (2018)

Kustán Péter, Kőszegi Tamás, Miseta Attila, Németh Balázs, Kiss István, Németh Ádám,  
Ajtay Zénó  
Vizelet orosomuroid, új gyulladási marker kardiovaszkuláris megbetegedésekben  
**CARDIOLOGIA HUNGARICA** 48: p. C48. 1 p. (2018)

Németh Balázs, Ajtay Zénó, Kreska Zita, Kustán Péter, Kőszegi Tamás, Péter Iván  
A transzkután szén-dioxid kezelés hatása a nitrogén-monoxid biológiai hozzáférhetőségére  
**REHABILITÁCIÓ: A MAGYAR REHABILITÁCIÓS TÁRSASÁG FOLYÓIRATA**  
(ISSN: 0866-479X) 28: (2-3) p. 85. 1 p. (2018)

A Magyar Rehabilitációs Társaság XXXVII. Vándorgyűlése. Konferencia helye, ideje: Eger,

**Előadások, poszterek**

Németh Balázs, Lenkey Zsófia, Németh Ádám, Cziráki Attila, Szabados Sándor, Ajtay Zénó.  
ADMA (aszimmetrikus dimetilarginin) szintjének változása on-pump és off-pump koronária-  
bypass műtét alatt. Pécs, Magyarország, 2014.09.18. Tudomány – Tudás - Disszemináció II.  
Minősítő Konferencia

Németh Balázs, Lenkey Zsófia, Németh Ádám, Cziráki Attila, Ajtay Zénó.  
Az emelkedett ADMA koncentráció képes előre jelezni az iszkémiás stroke-ot?  
Pécs, Magyarország, 2014.03.18-2014.03.20.

VI. Nemzetközi és XII. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia

Németh Balázs, Lenkey Zsófia, Németh Ádám, Cziráki Attila, Ajtay Zénó.  
Régi és új rizikófaktorok főszerepben az ADMA.  
Budapest, Magyarország, 2014.03.06-2014.03.07.

XIX. Korányi Frigyes Tudományos Fórum

Németh Balázs, Németh Ádám, Sulyok Endre, Lenkey Zsófia, Horváth Iván, Szabados  
Sándor, Stefanie M. Bode-Böger, Cziráki Attila, Ajtay Zénó

Az aszimmetrikus dimetilarginin (ADMA) szerepe koronária revaszkularizáció után  
Balatonfüred, Magyarország, 2014.05.14-17.

Magyar Kardiológusok Társasága 2014. évi Tudományos Kongresszusa – poszter

Németh Balázs, Kellényi Lóránd, Péterfi István, Németh Ádám, Simor Tamás, Cziráki Attila,  
Ajtay Zénó

Non-invazív His-köteg elektrokardiográfia

Balatonfüred, Magyarország 2015.05.06-09.

Magyar Kardiológusok Társasága 2015. évi Tudományos Kongresszusa – poszter

Kustán Péter, Horváth-Szalai Zoltán, Németh Balázs, Ludány Andrea, Mühl Dia, Kőszegi  
Tamás.

Sepsis and oxidative stress.

Szlovénia, Portoroz 2015.06.23-29.

International CEEPUS Summer School on Complex Diseases,

Németh Balázs, Kiss István, Péter Iván, Kreska Zita, Kőszegi Tamás, Kustán Péter, Ajtay Zénó.

Az ACE gátló adása javítja a szén-dioxid kezelés hatékonyságát.

Balatonfüred, Magyarország 2017.05.11-13.

Magyar Kardiológusok Társasága 2017. évi Tudományos Kongresszusa – poszter

Németh Ádám, Kustán Péter, Kőszegi Tamás, Kovács L. Gábor, Miseta Attila, Mühl Diána,

Németh Balázs, Kiss István, Cziráki Attila, Szabados Sándor, Ajtay Zénó.

Vizelet orosomuroid monitorozás szívműtéten átesett betegeknél

Balatonfüred, Magyarország 2017.05.11-13.

Magyar Kardiológusok Társasága 2017. évi Tudományos Kongresszusa

Németh Balázs, Ajtay Zénó.

Psoriasis és az oxidatív stressz

Harkány, Magyarország 2017.10.6-7.

V. Harkányi Psoriasis Továbbképző napok

Németh Balázs, Páros Alexandra, Kiss István, Péter Iván, Kustán Péter, Ajtay Zénó.

A szén-dioxid kezelés oxidatív stresszre gyakorolt hatása

Pécs, Magyarország 2017.10.28.

DKK17-Doktoranduszok a Klinikai Kutatásokban

Kustán Péter, Szirmay Balázs, Horváth-Szalai Zoltán, Németh Balázs, Mühl Diána, Ludányi

Andrea, Kőszegi Tamás.

Vizelet orosomuroid: új, gyulladásos biomarker szepszisben

Pécs, Magyarország 2017.10.28.

DKK17-Doktoranduszok a Klinikai Kutatásokban

Németh Balázs, Kiss István, Péter Iván, Kreska Zita, Ajtay Bella, Kőszegi Tamás, Kustán Péter, Csorba Attila, Ajtay Zénó.

A szén-dioxid kezelés hatása a nitrogén monoxid útra

Pécs, Magyarország 2018.04. 9–10.

XI. Nemzetközi és XVIII. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia

Németh Balázs, Kustán Péter, Csorba Attila, Péter Iván, Ajtay Zénó

Transcutaneous carbon dioxide therapy improves the bioavailability of nitric oxid.

Portugália

43rd World Congress of the International Society of Medical Hydrology, Amarante, 2018.06.10-13. (2018)

Németh Balázs, Péter Iván, Kőszegi Tamás, Kustán Péter, Ajtay Zénó, Kiss István

A szén-dioxid kezelés nitrogén-monoxid rendszerre gyakorolt hatása

2018. október 28. Doktoranduszok a klinikai kutatásokban

Németh Balázs, Kiss István, Péter Iván, Kőszegi Tamás, Kustán Péter, Csorba Attila, Ajtay Zénó

A szén-dioxid kezelés hatása a nitrogén-monoxid útra

2018. november.17-19. Magyar Balneológiai Egyesület 2018. évi Nagygyűlése

Ajtay Bella, Kiss István, Péter Iván, Németh Balázs

A transzkután szén-dioxid kezelés csökkenti a perifériás vaszkuláris rezisztenciát

2019. április 9-10. XI Nemzetközi, XVIII. Országos Interdiszciplináris Grastyán Konferencia

Ajtay Bella Eszter, Péter Iván, Kreska Zita, Kiss István, Horváth Iván, Németh Balázs

Egyetlen transzkután szén-dioxid kezelés képes csökkenteni a perifériás vaszkuláris rezisztenciát.

2019. Május 02-04. Az MKT 2019. évi Tudományos Kongresszusa

Balázs Németh, Adrienn Hanzel, Bella Ajtay, Zita Kreska, Iván Péter

Effects of a single carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) treatment on arterial stiffness.

44. World Congress of ISMH (Wieliczka, Lengyelország, 2019. Június 13-16)

## IX. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném megköszönni a támogatást és iránymutatást, amelyet PhD tevékenységem során témavezetőimtől, Prof. Dr. Kiss Istvántól és Dr. Ajtay Zénótól kaptam. Hálával tartozom a PTE ÁOK Népegészségtani Intézet dolgozóinak különösen Dr. Berényi Károlynak a statisztikai elemzés elkészítése során nyújtott segítségéért, Dr. Szendi Katalinnak a közlemények véleményezéséért és Dr. Murányi Editnek a meta-analízis elkészítésében nyújtott felbecsülhetetlen segítségéért. Továbbá, szeretném megköszönni Dr. Ferenci Tamásnak a meta-analízis statisztikai munkájának elkészítését és önzetlen segítségét. Köszönettel tartozom Prof. Dr. Kőszegi Tamásnak és Dr. Kustán Péternek valamint a PTE KK Laboratóriumi Medicina dolgozóinak, hogy munkájukkal segítették dolgozatom elkészülését. Köszönettel tartozom a Harkányi Gyógyfürdőkórház főigazgatójának Dr. Péter Ivánnak, hogy lehetővé tette kórházában a tudományos kutatást. Továbbá, a kórház Kardiológia Rehabilitáció Osztályán dolgozóknak, valamint a laboratórium munkatársainak a mintavételben és feldolgozásban nyújtott nélkülözhetetlen segítségükért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönettel tartozom a családomnak, akik jelen munka elkészülésében és az egész eddig életem során támogattak.

A dolgozat alapjául szolgáló kutatásokhoz támogatást kaptam az Emberi Erőforrások Minisztérium által kiírt Új Nemzeti Kiválóság Program keretében(ÚNKP-17- 3-III, ÚNKP-18-3-III).