

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

**Doktori (PhD) értekezés tézisei**

**Dr. Németh Balázs**

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Kovács L. Gábor

Programvezető: Prof. Dr. Kiss István

Témavezetők:

Prof. Dr. Kiss István, egyetemi tanár, Orvosi Népegészségtani Intézet

Dr. Ajtay Zénó, címzetes egyetemi docens, Szívgyógyászati Klinika



Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Pécs

2019

# TARTALOMJEGYZÉK

I. Bevezetés	1
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 referenciatartomány meghatározás	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 szepszis	34
V.2. ADMA változása CO <sub>2</sub> kezelés hatására	35
V.3. ADMA referenciatartomány meghatározás	37
VI. Új eredmények összefoglalása	36
VII. A szerző publikációi	37
VIII. Köszönetnyilvánítás	54

# I. BEVEZETÉS

A szív-ér rendszeri megbetegedések világszerte a leggyakrabban előforduló betegségek. Felelősek a globális halálozás egyharmadáért. 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. A prevenció különböző szintjeinek hatékony kockázatbecsléssel együtt történő alkalmazása sokat javított a fent említett statisztikai adatokon. Jelenleg a napi rutinban alkalmazott kardiovaszkuláris rizikóbecslő rendszerek a klasszikus kockázati tényezőkön alapulnak (magas vérnyomás, cukorbetegség, dohányzás, hiperkoleszterinémia, fizikai inaktivitás, elhízás).

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 vaszkuláris 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. Az ADMA a szervezet összes sejtében képződik a posztranszlációs metiláción átesett fehérjék hidrolízise során. 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. A fenti mechanizmusok alapján kijelenthető, hogy az ADMA nem csupán markere, hanem mediatora is az oxidatív stressznek.

Az ADMA klinikailag legfontosabb hatása a nitrogén-monoxid szintáz (NOS) aktivitásának gátlása, így a nitrogén-monoxid (NO) koncentrációjának, ezzel jótékony hatásainak csökkentése. A kardiovaszkuláris betegségben szenvedők körében jellemzően magasabb az ADMA szintje, ezáltal krónikusan gátolt a NOS működése. Emelkedett szintjét leírták többek között elhízott, dohányos, hiperkoleszterinémiás, hipertóniás, diabeteses betegcsoportokban. Irodalmi adatok szerint az aszimmetrikus dimetilarginin képes jelezni az atherosclerosis megelőző állapotának tartott endotheldiszfunkciót. Számos nagy betegszámú kutatás talált pozitív összefüggést a magasabb ADMA koncentráció és a coronariabetegségek kialakulása, illetve a már meglévő coronariabetegség progressziója között. Egy 3000 fős beteganyagot vizsgáló tanulmány szerint az aszimmetrikus dimetilarginin független kockázati

faktorként önmagában is képes előre jelezni a cardiovascularis okokból bekövetkező halálozást a coronariabetegségben szenvedők körében.

A gyulladással válasz iniciálásban, így a szepszis, illetve a szeptikus sokk mechanizmusában fontos szerepet tölt be az NO. A szeptikus sokk során bekövetkező hipotenzió egyik legfontosabb oka az NO kontrollálatlan túltermelése. Ennek hátterében a NOS „upregulációja” áll, a gyulladás 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 szeptikus sokkra jellemző nehezen uralható vazodilatáció. Közvetve ez a vazodilatáció lehet az egyik oka a később kialakuló több szervi elégtelenségnek. Az ADMA szepszis patogenezisében játszott pontos szerepe még nem tisztázott. Koch és munkatársai egy 160 szeptikus beteget vizsgáló tanulmányban a szérumban ADMA koncentrációt mind a rövid mind a hosszú távú túlélés független markereként azonosították

## **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 változás között.

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

Az ADMA rizikóbecslésben betöltött fontos szerepére tekintettel célul tűztük ki, hogy a rendelkezésre álló irodalom alapján meta-analízis segítségével meghatározzunk 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. A részletes beválasztási 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 éltek 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. Ezen túl 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 csőbe 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 kvantációs tartomány 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> kezelések 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 cukorbetegben nem szenvedő betegek között. Megvizsgáltuk továbbá, hogy 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 normalitás vizsgálat „Shapiro-Wilk” tesztel 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.

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

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

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 kritériumoknak 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, sejtkultúra, 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 (methodikai 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 + interquartilis feljegyzésével rögzítettük.

Mind a referencia intervallum, mind az átlag kiszámításakor normál közelítést használtunk. Azon vizsgálatok esetében, ahol csak a median és IQR érték vagy a median és a minimum/maximum érték volt megadva az átlagot és a szórást a Wan és munkatársai által kidolgozott módszerrel határoztuk meg. Két vizsgálatot ki kellett zárunk, mert csak a 2,5-97,5% os perencientilis 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 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 sikerül mikroorganizmus jelenétét kimutatni. A meghatározott markerek és hányadosok időbeli változását az 1. illetve 2. ábrán szemléltetjük.

#### *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.  $0,307 \mu\text{mol/l}$ ,  $p=0,004$ ). Ezen túl, 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

szövédmény 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*

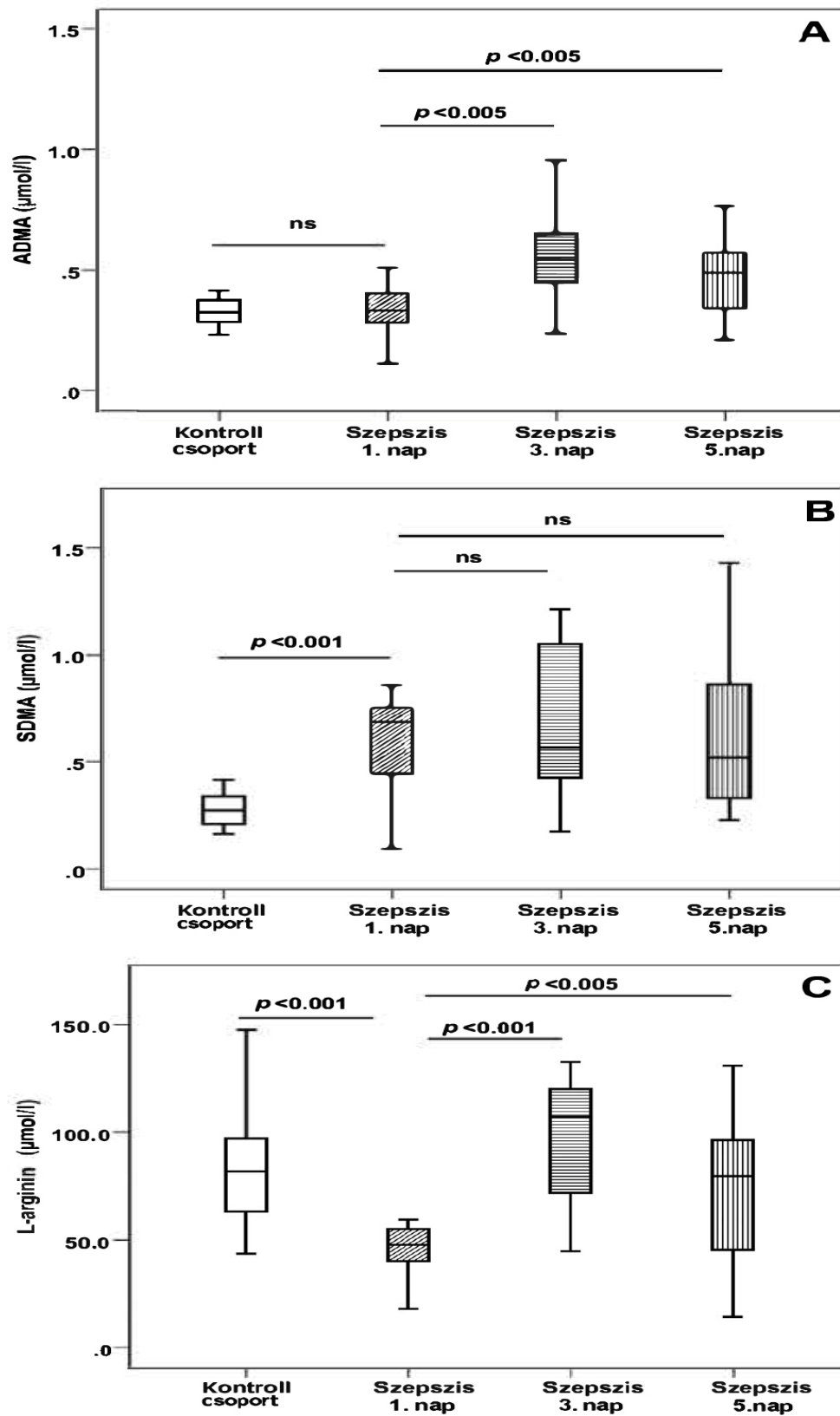
Az 1. napon az L-arginin koncentrációja a szeptikus betegekben szignifikánsan alacsonyabb volt a kontrollokhöz képest ( $p < 0,001$ ). Szepszises betegek körében az L-arginin koncentrációja az 1. naphoz képest a 3. napra szignifikánsan megnőtt ( $p < 0,001$ ), majd az 5. napra csökkenni kezdett, de továbbra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

#### *L-arginin/ADMA hányados*

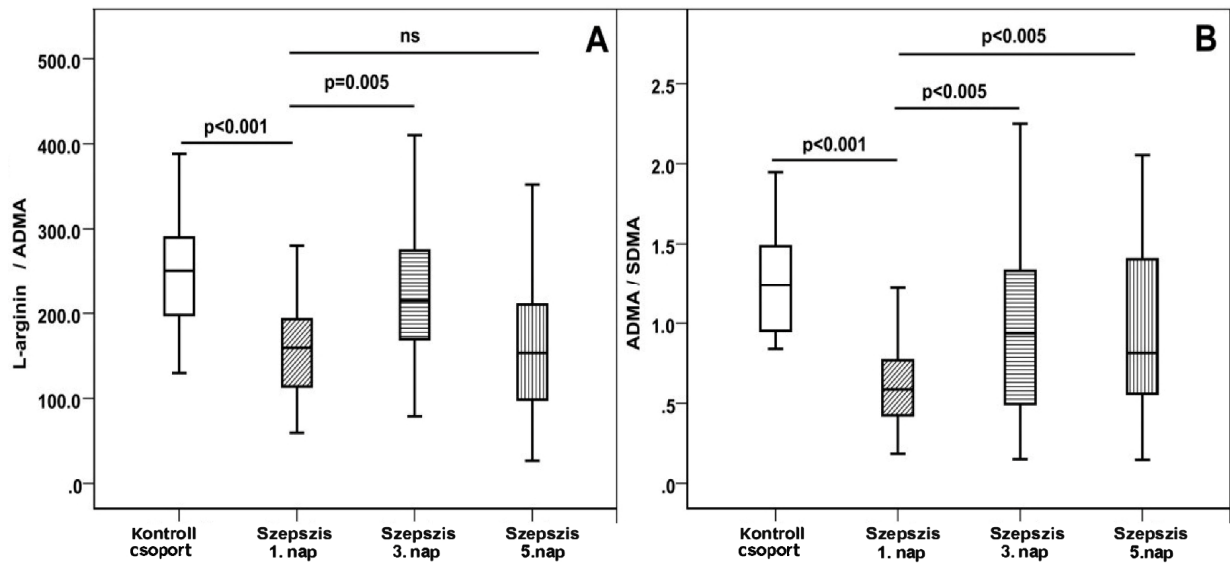
A kontrollcsoportba bevont betegek esetében szignifikánsan magasabb L-arginin/ADMA arányszámot találtunk, összehasonlítva a szeptikus betegekkel ( $p < 0,001$ ). A szeptikus betegek esetében az 1. napról a 3. napra az L-arginin/ADMA arány szignifikánsan nőtt majd. Az 5. napra a 3. napi értékhez képest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

#### *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, mint az 1. napi értékhez képest ( $p < 0,005$ ).



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

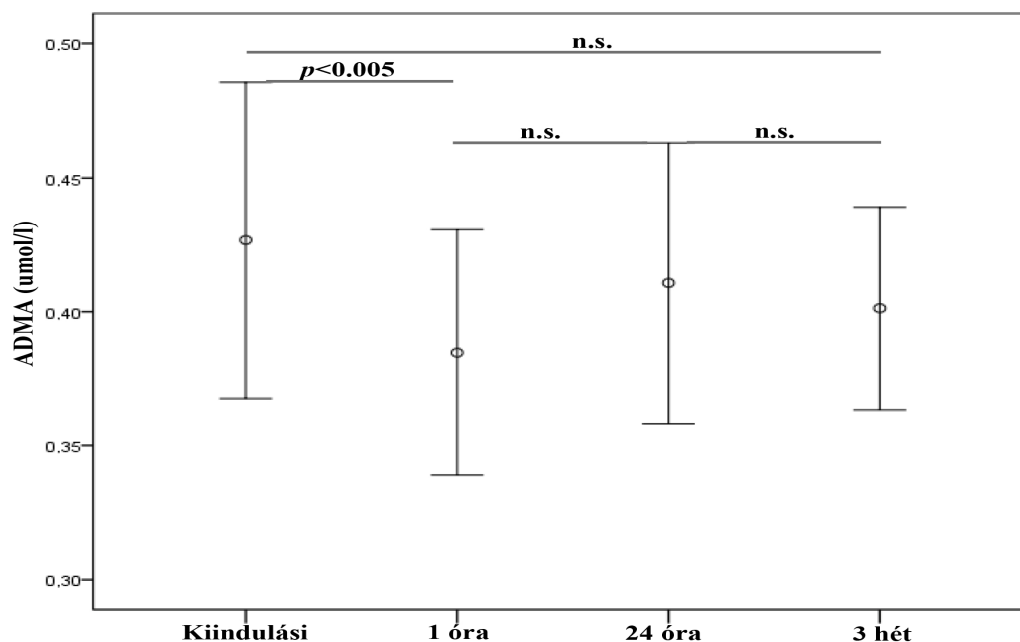


**2. ábra** L-arginin/ADMA arány és ADMA/SDMA arány monitorozása. (A: L-arginin/ADMA, B: ADMA/SDMA, ns=nem szignifikáns)

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

Harminc egészséges kontroll személy plazma ADMA szintjét hasonlítottuk negyvenhét hipertóniás beteg plazma ADMA koncentrációjához.

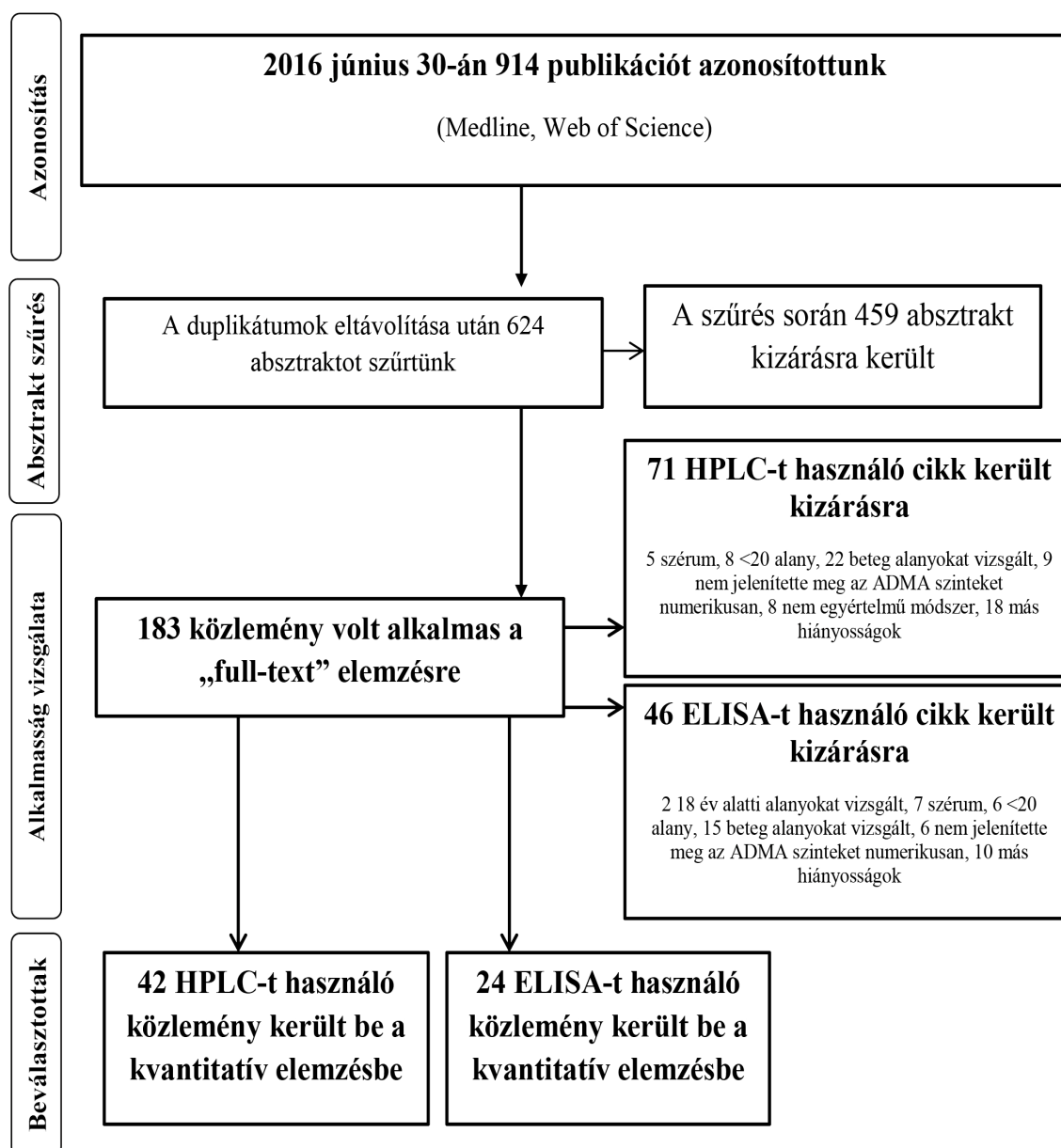
A kiindulási ADMA szintek (ADMA 0) a beteg csoportban szignifikánsan magasabbak voltak a kontroll csoporthoz viszonyítva (0,35  $\mu\text{mol/l}$  vs 0,41  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p=0,018$ ). A diabéteszes betegek ADMA koncentrációja szignifikánsan magasabb volt, mint a cukorbetegségben nem szenvedőké (0,47  $\mu\text{mol/l}$  vs 0,37  $\mu\text{mol/l}$ ,  $p=0,038$ ). 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 3. 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  $p=0,019$ .



3.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 4. ábra szemlélteti.



4. 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 koncentrációból álló adatokat vizsgáltuk. A bevont vizsgáltak zöme Európában történt (HPLC:78,7%, ELISA:93,1%). Mivel

a referenciaintervallum 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 kit-et, 12 az Immundiagnostik-tól vásárolt kit-et 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 az I. táblázat szemlélteti.

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

	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

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

## V. MEGBESZÉLÉS

### V.1. ADMA és a szepszis

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. Korábbi publikációk szerint az ADMA koncentráció emelkedése és a szepszis súlyossága között szoros kapcsolat van; tekintve, hogy az ADMA az NO-rendszer regulációján keresztül a 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. 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 szepsziszre jellemző, beszűkült vesefunkció (csökkent exkréció) miatt történt, tekintve hogy az SDMA legnagyobb része a vizelettel távozik a szervezetből.

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. 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. Ezt erősíti az a megfigyelés is, miszerint az 5. napra, 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 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. napra megfigyelhető L-arginin/ADMA arány növekedése ismételen a fenti okokra vezethető vissza. 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 gyulladási állapot csökkentheti az eNOS aktivitását.

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 sepsisz túlélő betegek esetében, habár a mintavétel nem pontosan ugyanazokban az időpontokban történt. Összefoglalva elmondható, hogy a sepszis esetében az ADMA az NO koncentrációjának csökkentésével gátolja a kontrollálatlan vazodilatáció kialakulását ezáltal koncentrációjának változása fontos faktor lehet a sepszis kimenetelében.

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

## **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 betegségeket jelenlétének valószínűségét, amelyeket befolyásolhatják az ADMA koncentrációt. Összhangban az irodalmi adatokkal, az általunk vizsgált beteganyagban is magasabb ADMA koncentrációt találtunk a cukorbetegségben szenvedő betegeknél, illetve pozitív korrelációt sikerült kimutatni az ADMA és az életkor között.

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 stresszrel és gyulladással magyaráztak. Az első kezelést követő 24. órában megfigyelt ADMA koncentrációemelkedés 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. A csökkent oxidatív stressz hatására hosszabb távon javul DDAH enzim hatása, ez által hatékonyabban csökkenti az ADMA koncentrációt.

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. Ito és munkatársai szignifikáns ADMA csökkenést találtak az ACE-gátlóval kezelt hipertóniás betegek körében. 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. Korábbi tanulmányok szerint az ACE-gátlók bradikinin „spóroló” hatásuk miatt képesek stimulálni az NO termelést.

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 transzkután 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. Ezen túl, 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 hátterében a következők állhatnak: pre-analitikai hibák, eltérő laboratóriumi eszközök és anyagok felhasználása, eltérő kiértékelő szoftverek használata.

Korábbi összehasonlító vizsgálatok szerint egyazon minta lemérése esetén az ELISA magasabb plazma ADMA koncentrációkat mér a HPLC-hez képest. Ezen összehasonlító vizsgálatok közül a legjelentősebb a 2007-ben Horowitz és munkatársai által készített munka, amely 2371 egészséges személy ADMA értékeit elemzi. 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 végzett 880 nőt vizsgáló 24 éven át tartó utánkövetés adatait feldolgozó tanulmány eredményeivel. Az említett utánkövetésből kiderült, hogy azon betegek esetében, akiknek a plazma ADMA szintje 0,75  $\mu\text{mol/l}$  felett volt, jelentősebb kardiovaszkuláris rizikóval kell számolni, mint azoknál a betegeknél, akiknek az ADMA koncentrációja kisebb volt, mint 0,75  $\mu\text{mol/l}$ . A jelen meta-analízis által megadott egészségesekben mért átlag plazma ADMA koncentráció alacsonyabb volt, mint 0,75  $\mu\text{mol/l}$ , tehát megerősítette a fenti eredményt.

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 szépszis

- szeptikus betegek L-arginin, ill. SDMA és ADMA időbeli változásának monitorozása 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 3 hét múlva vett vérminták segítségével)
- 1 órával a CO<sub>2</sub> kezelés után szignifikáns ADMA csökkenést mutattunk ki
- 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.
- rámutattunk az azonos laboratóriumi módszereket (HPLC vagy ELISA) használó vizsgálatok ADMA értékeinek magas heterogenitására

## VII. A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓI

### 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**)

### Az értekezéshez nem használt közlemények

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 Eröss, 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) (Q3; **IF=1,609**)

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, Iván 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 Jagicza1, István Kiss, Ágnes Csergő, Tamás Kőszegi, Péter Kustán, Iván G Horváth, Zénó Ajtay. Urinary Orosomuroid: 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**

### **Konferencia előadások és poszterek**

Németh Balázs, Simor Tamás, Cziráki Attila, Ajtay Zénó, Kellényi Lóránd, Péterfi István. Kardiális átvezetési idők és kamrai utópoteenciálok 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, Hejmel 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 orosomucoid, új gyulladáshos 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,

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 rizikófaktorkok 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 stress. 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 szepezsben. 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)

## 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 az Emberi Erőforrások Minisztérium által kiírt Új Nemzeti Kiválóság Program keretében támogatást kaptam (ÚNKP-17- 3-III, ÚNKP-18- 3-III).