

**SEMMELWEIS EGYETEM**  
**DOKTORI ISKOLA**

**Ph.D. értekezések**

**2549.**

**SZIVA RÉKA ESZTER**

**Anyagcsere betegségek molekuláris genetikája, patomechanizmusa  
és klinikai vonatkozásai**  
című program

Programvezető: Dr. Lakatos Péter, egyetemi tanár

Témavezetők: Dr. Várbíró Szabolcs, egyetemi docens

Dr. Horváth Eszter Mária, egyetemi docens

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

Doktori értekezés

**Dr. Sziva Réka Eszter**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



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

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

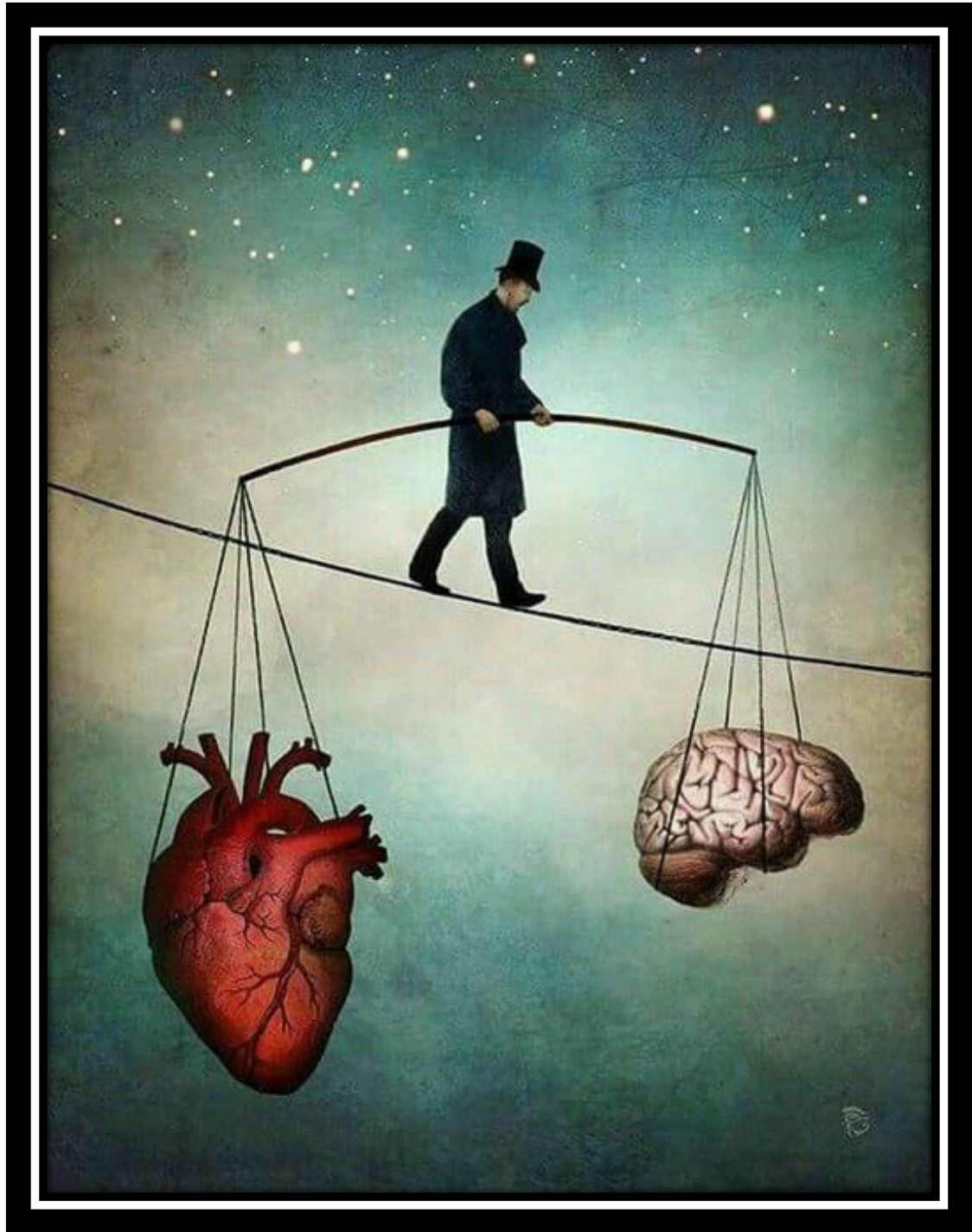
Komplex vizsga szakmai bizottság:

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

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

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

Budapest  
2021



Forrás: [www.pinterest.de/pin/965529607581449469/](http://www.pinterest.de/pin/965529607581449469/)

## Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke .....	6
2. Bevezetés (irodalmi háttér).....	11
2.1. Vérkeringési rendszer anatómiája, élettana, farmakológiája .....	11
2.1.1. Koszorúerek.....	15
2.1.2. Agyi erek .....	17
2.2. Szexuáliszteroidok és vaszkuláris hatásai.....	20
2.2.1. Női nemi hormonok és hatásai .....	20
2.2.1.1. Ösztrogének.....	20
2.2.1.2. Biohasznosulás, Fiziológias hatások.....	21
2.2.2. Férfi nemi hormonok és hatásai.....	24
2.2.2.1. Androgének .....	24
2.2.2.2. Biohasznosulás, Fiziológias hatások.....	25
2.2.3. Szexuáliszteroid hormontermelés nemi különbségei, kardiovaszkuláris vonatkozásai .....	28
2.3. A D-vitamin és hatásai .....	31
2.3.1. D-vitamin és biohasznosulása .....	31
2.3.2. D-vitamin fiziológias hatásai.....	33
2.3.3. D-vitamin és lehetséges nemi különbségek.....	35
2.3.3.1. D-vitamin homeosztázis nemi különbségei.....	35
2.3.3.2. D-vitamin státusz változásai a női és férfi élet folyamán.....	37
2.3.3.3. D-vitamin és az immunrendszer működésének nemi különbségei .....	38
2.3.4. D-vitamin vaszkuláris hatásai.....	39
2.4. D-vitamin és szexuáliszteroidok interakciói ereken, kisereken .....	42
2.4.1. D-vitamin és androgén hatások vaszkuláris interakciói hím állatokban, férfiakban.....	42
2.4.2. D-vitamin és androgén hatások vaszkuláris interakciói nőstény állatokban, nőkben.....	44
3. Célkitűzések .....	46

4. Módszerek	47
4.1. Állatok	47
4.2. Kezelési protokoll	48
4.3. In vitro nyomás mikroarteriográfia és számítások	48
4.4. Szövettan és Immunhisztokémia	51
4.5. Statisztikai analízis	53
5. Eredmények	54
5.1. Kezelés validálás, Vérnyomásmérés	54
5.2. Koszorúér arteriola szegmensek vizsgált jellemzői	56
5.2.1. Arteriola geometria	56
5.2.2. Arteriola elaszticitás	57
5.2.3. Miogén tónus	59
5.2.4. Szövettan és Immunhisztokémia	59
5.3. Agyi artéria szegmensek vizsgált jellemzői	63
5.3.1. Artéria szegmens geometria	63
5.3.2. Artéria szegmens elaszticitás	65
5.3.3. Miogén tónus	66
5.3.4. Szövettan	67
6. Megbeszélés	68
6.1. Kezelés validálás, Vérnyomásmérés	68
6.2. Nyomás mikroangiometriás mérések eredményei	68
6.2.1. Artéria, arteriola szegmens geometria	68
6.2.2. Artéria, arteriola szegmens elaszticitás	70
6.2.3. Miogén tónus	72
6.3. Szövetteni, Immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei	75
6.3.1. Szövetteni vizsgálatok eredményei	75
6.3.2. Hím koszorúér immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei	79
6.4. Érbio mechanikai és szövetteni-immunhisztokémiai változások összefoglalása és összefüggései koszorú- és agyi erekben	82
7. Következtetések	85
8. Összefoglalás, Summary	87
9. Irodalomjegyzék	89

10. Saját publikációk jegyzéke .....	113
11. Köszönetnyilvánítás .....	115

## 1. Rövidítések jegyzéke

%	: Százalék
$[Ca^{2+}]_{ic}$	: Intracelluláris $Ca^{2+}$ koncentráció
°C	: Celsius
1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	: Kalcitriol/1,25-dihidroxi-D <sub>3</sub> vitamin
11KA4	: 11-ketoandroszténdion
11KDHT	: 11-ketodihidrotesztoszteron
11KT	: 11-ketotesztoszteron
11OHA4	: 11-β-hidroxiandroszténdion
11OHT	: 11-β-hidroxitesztoszteron
17B-HSD	: 17-β-hidroxi-szteroid dehidrogenáz
20-HETE	: 20-hidroxi-eikozatetraénsav
25(OH)D <sub>3</sub>	: Kalcifediol/25-hidroxi-D <sub>3</sub>
3β-HSD	: 3β-hidroxi-szteroiddehidrogenáz
5-DHT	: 5-Dihidrotesztoszteron
A4	: Androszténdion
A5	: 5α-Androsztándion
A5-diol	: 5α-Androszténdiol
AAS	: Androgén-anabolikus szteroidok
ACA	: Artéria cerebri anterior
ACM/MCA	: Artéria cerebri media
ACP	: Artéria cerebri posterior
Adiol	: Androsztándiol
ANOVA	: Analysis of variance/Varianciaanalízis
ARE	: Androgén response element
ARV	: Androgén receptor variáns
ATII	: Angiotenzin II
ATP	: Adenozin-trifoszfát
BBB	: Blood-brain-barrier/Vér-agy-gát
BK <sub>Ca</sub>	: Magas konduktanciájú $Ca^{2+}$ -aktiválta $K^{+}$ -csatorna
BMI	: Body mass index/Testtömeg index
$Ca^{2+}$	: Kalcium-ion

CaCl <sub>2</sub>	: Kalcium-klorid
CAR	: Konstitutív androsztán receptor
CHD	: Coronary heart diseases/Szívkoszorúér betegségek
CO <sub>2</sub>	: Szén-dioxid
CRP	: C-reaktív protein
CT	: Computer tomográfia képalkotás
CV	: Kardiovaszkuláris
CVD	: Cardiovascular diseases/Kardiovaszkuláris betegségek
CX	: Circumflexa
CYP	: Citokróm P450
CSHT	: Cross-sex hormone therapy/Transznem hormonterápia
D <sub>2</sub>	: Ergokalciferol/D-vitamin D <sub>2</sub> -formája
D <sub>3</sub>	: Kolekalciferol/D-vitamin D <sub>3</sub> -formája
DHEA	: Dehidroepiandroszteron
DHEAS	: Dehidroepiandroszteron-szulfát
DNS	: Dezoxi-Ribonukleinsav
E1	: Ösztron
E2	: 17-β-ösztradiol
E3	: Ösztriol
E4	: Ösztetrol
ECM	: Extracelluláris mátrix
EDTA	: Etiléndiamin-N,N,N,N-tetraecetsav
EGTA	: Etilén-glikol-bisz(-2-aminoetiléter)-N,N,N,N-tetraecetsav
eNOS	: Endotheliális NO-szintáz
ERE	: Estrogen response element
ET	: Endothelin
FMT	: Female-to-Male
FSH	: Follikulus Stimuláló Hormon
FXR	: Farnezoid X receptor
g	: Gramm
GPR	: G-protein kapcsolt receptor
GPR30/GPER1	: G-protein kapcsolt receptor 30/G-protein kapcsolt ösztrogén receptor 1



H <sup>+</sup>	: Hidrogén-ion
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrogén-peroxid
HDL	: High-density lipoprotein/Magas denzitású lipoprotein
HE	: Hematoxylin-Eosin
Hgmm	: Higanymilliméter
HOMA-IR	: Homeostasis model assessment - Insulin resistance/ Homeosztázis modell értékelés – Inzulin-rezisztencia
HRP	: Horseradish-peroxidase/Torma-peroxidáz
ICH	: Intracerebralis haemorrhagia
IFN	: Interferon
IGF-1	: Insulin growth factor1/Inzulin növekedési faktor 1
IgG	: Immunglobulin G
IL	: Interleukin
IQR	: Interquartile range/Interkvartilis tartomány
K <sup>+</sup>	: Kálium-ion
KCl	: Kálium-klorid
KCN	: Voltage-gated/Feszültség-kapuzott K <sup>+</sup> -csatorna
kg	: Kilogramm
kPa	: Kilopascal
K <sub>v</sub>	: Feszültség-függő K <sub>v</sub> -csatorna
L	: Liter
LAD	: Left anterior descendens/bal anterior leszálló
LDH	: Laktát-dehidrogenáz
LDL	: Low-density lipoprotein/Alacsony denzitású lipoprotein
LH	: Luteinizáló Hormon
LXR	: Liver/Máj X receptor
M	: Mol
M/L	: Mol/liter
MCAO	: Artéria cerebri media okklúzió
mg	: Milligramm
MgCl <sub>2</sub>	: Magnézium-klorid
MgSO <sub>4</sub>	: Magnézium-szulfát

mL	: Milliliter
mM	: Millimol
MMP	: Mátrix metalloproteináz
MR	: Mágneses rezonancia képalkotás
mRNS	: Messenger RNS
MTF	: Male-to-Female
n	: Mintaszám
n.s.	: Nem szignifikáns
N <sub>2</sub>	: Nitrogén molekula
NaCl	: Nátrium-klorid
NADPH	: Nikotinamid-adenin-dinukleotid foszfát
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	: Nátrium-dihidrogén-foszfát
NaHCO <sub>3</sub>	: Nátrium-hidrogénkarbonát
NE	: Nemzetközi egység
ng	: Nanogramm
nKR	: Normál Krebs-Ringer
NO	: Nitrogén-monoxid
NR	: Nukleáris Receptor
Nrf2	: Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
NT	: 5-nitro-tirozin
O <sub>2</sub>	: Oxigén molekula
PAR	: Poli(ADP)ribóz
P <sub>CO2</sub>	: Parciális CO <sub>2</sub> -tenzió
PCOS	: Policisztás ovárium szindróma
PET	: Pozitron-emissziós tomográfia
PG	: Proszttaglandin
P <sub>O2</sub>	: Parciális O <sub>2</sub> tenzió
PXR	: Pregnán X receptor
RF	: Resorcin-fuchsin
RNS	: Ribonukleinsav
RXR	: Retinoid X receptor
SEM	: Standard error of mean/Középérték közepes hibája

SH	: Spontaneous hypertensive/Spontán hipertenzív
SHBG	: Sex-hormon binding globulin/Szexhormon-kötő fehérje
SK <sub>Ca</sub>	: Alacsony konduktanciájú Ca <sup>2+</sup> -aktiválta K <sup>+</sup> -csatorna
SNP	: Single Nucleotid Polymorphism/Egynukleotid polimorfizmus
SPECT	: Single-proton emissziós CT
T	: Tesztoszteron
T-	: Tesztoszteron-kezelésben nem részesült
T+	: Tesztoszteron-kezelésben részesült
TDS	: Tesztikuláris Diszgenezis Szindróma
TIA	: Tranziens ischaemiás attack
TIMP	: Tissue inhibitor of matrix metalloproteinases/Mátrix metalloproteináz szöveti inhibitor
TRP	: Tranziens receptor Potenciál kation-csatorna
TRT	: Testosterone Replacement Therapy/Tesztoszteron-pótló terápia
TXA <sub>2</sub>	: Tromboxán A <sub>2</sub>
UDP	: Uridil-difoszfát
UTP	: Uridil-trifoszfát
VD	: D-vitamin
VD-	: D-vitamin hiányos
VD+	: D-vitamin-pótló
VDBP	: Vitamin D binding protein/D-vitamin-kötő fehérje
VDCC	: Voltage-dependent/Feszültség-függő Ca <sup>2+</sup> -csatorna
VDD	: Vitamin D deficiency/D-vitamin deficiencia/D-vitaminhiány
VDR	: Vitamin D receptor/D-vitamin receptor
VDRE	: Vitamin D response element
VDR <sub>m</sub>	: Membrán VDR
VDR <sub>n</sub>	: Nukleáris VDR
VSM	: Vascular smooth muscle/Vaszkuláris simaizom
α-SMA	: α-Smooth muscle actin/α-Simaizom aktin
μm	: Mikrométer
μm <sup>2</sup>	: Négyzetmikrométer

## 2. Bevezetés (irodalmi háttér)

### 2.1. A vérkeringési rendszer anatómiája, élettana, farmakológiája

*William Harvey (1578–1657)* 1628-ban megjelent „*Exercitatio anatomica de motu cordis et sanguinis in animalibus*” című tanulmánya óta ismert, hogy a vérkeringés zárt, önmagába visszatérő rendszer [1], amely kisvérkörre/pulmonális keringésre és nagyvérkörre/szisztémás keringésre oszlik. A nagyvérkör erei az artériás rendszer felől a vénás rendszer felé: aorta és nagy, elasztikus artériák, vagyis „szélkazanerek”; muskuláris artériák, vagyis vezető-elosztó/konduktív-disztributív erek; (prekapilláris) rezisztencia arteriolák, más néven ellenállás erek; kapillárisok; (posztkapilláris) venulák, vénák végül nagyvénák (*Vena cava inferior* és *superior*), azaz kapacitáserek. Az erekben az alábbi rétegek különíthetők el a lumen felől kifelé haladva [2]:

- **Tunica Intima:** lamina basalis-on ülő endothelsejt réteg.
- **Tunica Media:** elasztinban gazdag lamina elastica interna réteg és vaszkuláris simaizom (vascular smooth muscle/VSM) sejtekből és extracelluláris mátrixból (ECM) álló réteg.
- **Tunica Adventitia:** kollagént, fibroblasztokat, ECM-et, idegrostokat és ereket ellátó kisebb ereket (*vasa vasorum*) tartalmazó réteg, valamint néhány értípusban jelen lévő lamina elastica externa réteg a media és adventitia között megfigyelhető.

A rétegek alkotóelemeinek aránya, jelenléte, valamint bizonyos alrétegek megléte/hiánya értípusonként eltér, ami funkcionális érspecializációt eredményez, aminek köszönhetően a vaszkuláris betegségek a humán érrendszer más-más részét érintik: az atheroszklerózis és aneurizma leginkább a nagy és közepes muskuláris artériákat, a magas-vérnyomás betegség kis arteriolákat károsít, a vaszkulitiszek átfedő módon érinthetnek nagy-közepes-kisereket, míg a visszértágulatok, thrombo-phlebitisek leggyakrabban vénákban jelentkeznek.

A véráramlás lokális szabályozásáért felelős prekapilláris rezisztencia arteriolák 20-200 µm közötti átmérővel rendelkező, VSM sejteket tartalmazó erek, amelyek a vérkeringési rendszert a nyomás szempontjából magas nyomású (aortától arterioláig) és alacsony nyomású (kapillárisok, teljes vénás rendszer, jobb szívfél, tüdőkeringés, bal pitvar) rendszerre osztják. Az erek simaizomzatának különféle lokális hormonális és neuronális tényezők működésszabályozása során bekövetkező összehúzóda-

elernyedése nagymértékben befolyásolja a keringési hemodinamikát, egyes szervek, szövetek áramlási-vérellátási viszonyait.

Az arteriolák miocitái endogén miogén tónussal rendelkeznek: a kontraktilis elemek részben állandóan aktiváltak a bennük lévő vérvolumen által kifejtett transzmurális nyomás következtében. Ezt az értónust nevezzük *miogén/spontán/intrinsic tónus*nak. A miogén tónus a különböző szervekben, szövetekben eltérő mértékű lehet [3, 4]. *William Maddock Bayliss (1860-1924)* a perifériás vérkeringési rendszerrel kapcsolatos kutatásai során fogalmazta meg többek között ezt a nyújtási aktiválást/nyomásfüggő kontrakciót vagy más néven *miogén választ* definíciószerűen, amelyet napjainkban is *Bayliss-effektus*ként ismerünk [5, 6]. A *Bayliss-effektus* vagy *áramlási autoreguláció* által bizonyos érszakaszok képesek az áramlást relatíve függetleníteni a nyomástól: kis artériákban, arteriolákban a transzmurális nyomás növekedésére az erek kontrahálódnak (érátmérő/sugár csökken, falvastagság nő), míg nyomáscsökkenésre vazorelaxáció következik be (érátmérő/sugár nő, falvastagság csökken) [7].

A miogén válasz kis rezisztencia artériákban, arteriolákban érvényesül, kialakulásában ioncsatornák aktivációja, ioncserélő transzporterek, enzimrendszerek és másodlagos hírvivők szerepe feltételezhető [8], végeredményben e rendszereken keresztül bekövetkező depolarizáció a mioplazma kalcium-ion ( $\text{Ca}^{2+}$ ) koncentrációjának növekedését, ezáltal a VSM sejtek fokozatos összehúzódását okozza. A miogén válasz hátterére vonatkozóan újabban a nyújtás-aktiválta és feszültség-függő ioncsatornák, valamint a 20-hidroxi-eikozatetraénsav (20-HETE) szerepére vannak bizonyítékok. A feszültség-függő  $\text{Ca}^{2+}$ -csatornák (Voltage-dependent calcium channel/VDCC) aktivációjával a sejtbe áramló  $\text{Ca}^{2+}$  artériás tónusfokozódást, vazokonstriktiót okoz. A vaszkuláris T-típusú  $\text{Ca}^{2+}$ -csatorna hiperpolarizáló ioncsatornákkal,  $\text{Ca}^{2+}$ -függő  $\text{K}^+$ -csatornákkal való funkcionális együttműködés során az artériás tónus negatív visszacsatolását közvetítve a rezisztencia artériák vazodilatációját eredményezi [9]. Mezenteriális rezisztencia artériák miogén kontrakcióját vizsgálva feltételezik, hogy nyomás hatására a VSM sejtéből 20-HETE szabadul fel, ami szenzoros C-rostokon található Tranziens Receptor potenciál V1 vagy Vanilloid Receptor 1 (TRPV1/VR1) csatornák nyitásával az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció ( $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ic}}$ ) növekedéséhez vezetve P-anyag felszabadulását eredményezi, amely a neurokinin 1

receptorhoz kötődve okozza a VSM sejtek kontrakcióját. Mindez a miogén válasz neuron-függő komponensének létére utal [8]. Ugyanakkor a konkrét sejt- vagy receptor-típus, amely az érfalra gyakorolt nyomásváltozást érzékeli, valamint az érzékelő(ke)t és a VSM-kontrakciót összekapcsoló útvonal pontos részletei továbbra sem tisztázottak, ennek megismerésére további kutatások szükségesek [8].

A miogén válasz aktiválódása befolyásolja egy adott érterület vérellátását. Vérkeringés esetében közelítésképp alkalmazható *Hagen-Poiseuille-egyenlet* szerint, az áramlási ellenállás (R) fordítottan arányos a sugár negyedik hatványával ( $r^4$ ):  $R = \frac{8 \cdot \eta \cdot l}{\pi \cdot r^4}$  [3, 10], ez alapján a miogén válasz következtében kialakuló, már kismértékű sugárnövekedés vagy sugárcsökkenés is kifejezett ellenállás-változást eredményez, ami erőteljesen befolyásolja egy-egy szerv és szövet vérkeringését.

A rezisztencia arteriolák funkcióját számos farmakon befolyásolja.

Általános vazokonstriktorok a katekolaminok (adrenalin, noradrenalin, dopamin), tromboxán A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), angiotenzin II (ATII), vazopresszin, endothelin (ET)-1, egyéb vegyületek (pl.: szerotonin, ATP).

Általános vazorelaxánsok a nitrogén-monoxid (NO), a NO-„képzők” vagy endotheliális NO-szintáz (eNOS) „aktivátorok”: acetyl-kolin, adenzin, hisztamin, bradykinin-tachykinin, szexuáliszteroidok (ösztrogének, androgének), inzulin. Egyéb vegyületek, mint a VIP, opioidok, prosztaciklinek, prosztaglandinok közvetlenül a simaizomra hatva vagy egyéb útvonalakon, továbbá környező szöveti tényezők (pH és parciális O<sub>2</sub> és CO<sub>2</sub> tenzióváltozás) is képesek vazorelaxációt előidézni [10, 11]. A NO és a NO donorok az említetteken kívül a ciklooxygenáz enzimek expressziója és a prosztaglandin bioszintézis befolyásolása révén a prosztanoid útvonalon keresztül is kifejthetik hatásukat [12].

Arteriolák precíz alap- és transzlációs kutatási vizsgálatai során az erek alábbi tulajdonságai tanulmányozhatók változatos érrégiókból izolált érszegmenseken [3]:

- Biomechanikai paraméterek: érátmérő, falvastagság, az ér különböző rugalmas deformációinak mértéke (tangenciális, radiális, cirkumferenciális feszülés), megnyúlástágulékonytságot jellemző paraméterek (inkrementális és dinamikus elasztikus modulusok, nyírési modulus, volumen-elaszticitási modulus, disztenzibilitás, compliance), ellenállások (hullám- vagy karakterisztikus impedancia, lokális/bemeneti

impedancia) vizsgálhatók az érlumenben alkalmazott intraluminális nyomásváltoztatás függvényében.

- Farmakológiai reaktivitás: különféle vazokonstriktor és vazorelaxáns farmakonok növekvő dózisaira bekövetkező érátmérőváltozás mérése adott intraluminális nyomáson.

A funkcionális jellemzők mellett a szövettani analízissel – hisztomorfometriai mérések, immunhisztokémiai vizsgálatok – az érretek morfológiai, receptor- és markerexpressziós eltérései azonosíthatók.

A biomechanikai és farmakológiai paraméterek *in vitro* tanulmányozására kétféle technika használható [3, 13-18]:

1) Nagy- és közepes artériák (például: aorta, carotis, femoralis, renalis artériák) és vénák esetében rozsdamentes acélból készült „*wire*” (*drót*) *miográfós* rendszer alkalmazható. Ennek során az ereket szervfürdőben óvatosan felhelyezik két, egymással párhuzamosan futó értartó tűre, ami az erek különböző exogén hatásokra (eltérő oldatok, farmakonok) bekövetkező izomfeszülésének átalakításával a kifejtett erőt méri. A mért erőértékekből dózis-hatás görbe-regisztrátumok készülnek, amelyek kiértékelése szolgáltat új ismereteket a vizsgált erek tulajdonságairól.

2) Kiserek (például: koszorúerek, agyi, mezenterialis, gracilis erek) vizsgálata során a „*pressure*” (*nyomás*) *miográfós/mikroangimetriás* technikát alkalmazzák. A kiserek üvegcádban lévő szervfürdőben két, egymással szemben elhelyezett szervopumpákkal kontrollált üvegapillárisból készült mikrokanülökre kerülnek rögzítésre, ezáltal szabályozható az intraluminális áramlás és nyomás. Az üvegcád fölött mikroszkóp és videokamera helyezkedik el, amivel a különböző szervfürdők és farmakonok beadását követően mikroszkópos felvételek készíthetők az erek átmérőjének rögzítésére, mérésére. Ebben a rendszerben rögzített nyomáson dózis-hatás görbék, illetve változó nyomásokon nyomás-átmérő jelleggörbék rögzíthetőek, amelyek kiértékelése új információt nyújt a vizsgált erek tulajdonságairól.

Szövettani analízis a különféle szöveti és innumhisztokémiai vizsgálatok során festett metszetek digitalizálását követően képanalizáló programokban kivitelezhető.

A különböző szerveknek, érterületeknek más-más vérkeringési sajátosságai ismertek. A két létfontosságú szervünk, a szív és az agy vérellátásáért a koszorú- és az agyi rezisztencia erek felelősek.

### 2.1.1.Koszorúerek

A szívnek folyamatos vérellátásra, oxigén- és tápanyag ellátásra van szüksége, amelyet az aortából kiinduló artéria koronáriák rendszere biztosít: jobb és bal artéria koronária, a bal eredését követően bal anterior deszcendens (left anterior descendent/LAD) és bal circumflexa (CX) ágakra oszlik.

A koronáriakeringés több szempontból is speciális.

A koronáriaáramlás a szív ciklussal párhuzamosan, kamráként eltérően változik, a bal kamrafal artériáiban szisztolé során fázisos az áramlás, a jobb kamra fala szisztolé alatt az artériák lumenét kevésbé szűkíti.

Koronária artériák között fiziológiásan minimális az anasztomózis, leginkább intramurális koronária kisartériák szintjén vannak jelen a kollaterálisok, emellett a szívizom gazdag kapilláris hálózattal rendelkezik. Az ér hálózat különféle tényezők – idősödés, magas vérnyomás – hatására megváltozhat. Idősebb patkányok LAD koronária artériák szegmenseiben kiszélesedett és szűkültebb szakaszok mutatkoztak, fokozott kanyarulatosság és meredekebb érleágazás-eredés volt jellemző fiatalabb állatokhoz képest [19]. ATII-indukált hipertónia állatmodellben kontroll normotenzív csoporthoz képest hipertóniás nőstény patkányok LAD koronária artéria intramurális hálózatában nagyobb érág megtöretése, párhuzamosan futó ágak, anyaágból leágazó, egymáshoz túlságosan közel futó leányágak és egymást keresztező ágak jelenléte volt igazolható [20].

A koszorúér keringést miogén-autoregulációs, lokális metabolikus, farmakonok által kiváltott, valamint neurohormonális mechanizmusok befolyásolják [21].

Koronária erekre is jellemző az áramlási autoreguláció, amelynek célja a nyomásváltozások során a relatív folyamatos koronáriaáramlás biztosítása. Amennyiben a perfúziós nyomás az autoregulációs tartományon (~ 60-120 Hgmm) kívül esik, a koszorúerek passzívan reagálnak a nyomásváltozásra. A nyomás-indukálta koronária tágulásnak koszorúér szűkület és elzáródás során kiemelt jelentősége van a miokardium védelme szempontjából, ennek hiányában miokardiális sérülés, ischaemia és infarktus alakulhat ki [21].

A miokardium metabolikus szempontból a szöveti  $O_2$ -fogyasztás és  $CO_2$ -termelés révén befolyásolja a koronária áramlást [21].



A koszorúér keringést befolyásoló farmakológiai mechanizmusokat tekintve a koronária perfúzió védett a vazokonstriktor hatásoktól: fiziológias körülmények között a legerőteljesebb vazokonstriktorok az ET-k, a TXA2 és a prosztaglandinok (PG, például PGH<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>α). Egyéb kontrakciót okozó farmakonok (pl.: ATII, vazopresszin) vagy nem érnek el kellően magas lokális koncentrációt, vagy kettős választ váltanak ki. Vazokonstriktor anyagok felszabadulása koszorúér vazospazmust idézhet elő [21-23].

A farmakológiai reaktivitásban megfigyelhetők nemi különbségek. Hím és nőstény patkányok izolált LAD intramurális koronária artéria szegmenseit vizsgálva hím állatokból származó érszegmenseknek szignifikánsan magasabb TXA2-indukált tónusa volt megfigyelhető széles nyomástartományban a nőstényekhez képest [23].

Koszorúereken vazorelaxációt idéz elő a NO és minden olyan anyag (nitrátok, eNOS-aktivátorok), amely NO-felszabadulással jár, közülük koszorúerek vonatkozásában az adenzin kiemelkedő jelentőséggel bír. Eddigi vizsgálatok alapján az adenzin A<sub>2A</sub> és A<sub>2B</sub> receptor együttes aktivációja hozzájárul a koronária vazodilatációhoz, a mechanizmus kialakításában az A<sub>2A</sub> receptor altípus dominál rágcsálókban és emberben egyaránt. Ugyanakkor az A<sub>2B</sub> receptoron keresztül is megvalósulhat a humán koronária dilatációja [24, 25]. Emellett a prosztaciklin, valamint a miokardiális szövet metabolikus aktivitása is szabályozza a vaszkuláris rezisztenciát: adenzin mellett adenzin-nukleotidok, kálium-ion (K<sup>+</sup>) és hidrogén-peroxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) felszabadulás révén. Az adenzin A<sub>2A</sub> receptor-aktivációs útvonal is H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-termelést eredményez [25]. A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> úgy tűnik, kompenzálja a stressz által károsított NO-mediált vazodilatációt, véd az ischaemiás sérüléstől és koronária reaktív hiperémiát eredményezhet [21, 25-27].

Neuronális szabályozás szempontjából a koronária erek és a szív szimpatikus és paraszimpatikus beidegzése, receptor-expressziója befolyásolja a szív működését és vérrellátását. Megterhelő pszichés és mentális stressz a szimpatikus rendszer által közvetített koszorúér vazokonstriktió révén a meglévő koronária szűkület progresszióját, elzáródást és infarktust okozhat [21].

A koszorúerek betegségei a fokozott kardiovaszkuláris rizikó egyik legfontosabb tényezői. Éppen ezért számos állatkísérletes modellt fejlesztettek ki a pontos pathomechanizmus vizsgálatára. Alap- és transzlációs kutatásban a koronária mikrocirkuláció kutya, disznó, nyúl és rágcsáló (patkány, egér) kísérletes állatmodellekben változatos mechanizmusok (magas zsírtartalmú diéta, alloxán,

streptozotocin, leptin-, LDL- és apolipoprotein-E-génmódosítás) által indukált funkcionális és strukturális koronária mikrovaszkuláris diszfunkció – endothel diszfunkció, perivaszkuláris zsírszövet szaporulat, arteriola belső remodelling, kapilláris-denzitás csökkenés – kialakulásán keresztül vizsgálható [28]. Emberekben a koronária artériák állapota invazív angiográfia és újabban non-invazív képalkotó kardiális-CT és egyéb vizsgálatokkal (terheléses elektrokardiogram, MR, PET, SPECT), valamint indirekt – a miokardium állapotát jelző – biomarker (kreatin-kináz, troponinok, magas szenzitivitású CRP, LDH, D-dimer) mérések alapján ítélt meg, emellett az általános fizikális és laborvizsgálatok fontos kiegészítő információkat nyújtanak a kardiovaszkuláris rizikófaktorokról. Újabban a mesterséges intelligencia és a gépi tanulás („machine learning”) jövőbeli perspektívái, valamint mikroRNS biomarkerek is diagnosztikus lehetőségekké válhatnak majd [29-31].

### **2.1.2. Agyi erek**

Az emberi agynak szintén folyamatos vérellátásra van szüksége, melyet a circulus arteriosus Willisii biztosít, amelyből többek között az artéria cerebri anterior (ACA), media (ACM/MCA) és posterior (ACP) erek erednek. A zárt koponyaűrben az állandó intrakraniális nyomás biztosítása érdekében az agyszövet, a liquor és a vértérfogát összege állandó (Monroe-Kellie elv) [32].

Az agyi vérkeringés szintén rendelkezik sajátos jellegzetességekkel.

Az agyi erekben is érvényesül az áramlási autoreguláció, az agyi perfúziós nyomástartomány ~ 60-150 Hgmm között. Az autoregulációs érátmérő változásokat a miogén tónus, endotheliális faktorok, a metabolikus (adenozin, hidrogén-ion/H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, laktát) és neurogén mechanizmusok közti interakciók, valamint az aktuális CO<sub>2</sub>-szint, O<sub>2</sub>-igény és O<sub>2</sub>-kínálat egyensúlya (bazális metabolizmus és neuronális aktivitás) befolyásolják [33]. Endotheliális mechanizmusokon keresztül bizonyos farmakonok is moduláló hatást képesek kifejteni az agyi áramlásra. Fiziológias körülmények között vazokonstriktort okoz agyi erekben az ET, TXA<sub>2</sub>, uridil-trifoszfát (UTP) és az endothelium eredetű konstriktor faktor, míg vazodilatációt eredményez a NO, a prosztaciklin, valamint az endothelium eredetű hiperpolarizáló faktorok: acetil-kolin, P-anyag, hisztamin, bradykinin, prosztanoidok és endokannabinoidok [33-36].

A neuronális szabályozást tekintve az agyi erek beidegzése részben a perifériás idegrendszerből (szimpatikus, paraszimpatikus rostok), részben a központi

idegrendszerből származik és változatos innervációt biztosít. Ugyanakkor a neuronális reguláció ellentmondásos: fiziológiás viszonyok közt a szimpatikus stimuláció nem befolyásolja a cerebrovaszkuláris rezisztenciát, azonban hipertóniában a nagy és kiserek konstriktójával növelik a rezisztenciát [33].

Az agyi erek tónusát továbbá jelentősen meghatározzák az artériás vérgáz értékek és ezáltal a szöveti pH-változás: legfőképpen a hiperkapnia és a hipoxia: nagyobb mértékben hat a parciális CO<sub>2</sub>-tenzió (P<sub>CO2</sub>), kisebb mértékben a parciális O<sub>2</sub> tenzió (P<sub>O2</sub>): a magas P<sub>CO2</sub> vazodilatáció által agyi véráramlás fokozódást indukál. Amennyiben az áramlás és a nyomás csökken, a csökkent áramlás metabolikus úton, míg a csökkent nyomás miogén mechanizmussal előidézett vazodilatációt eredményez, ezzel szintén fokozva az agyi véráramlást [2, 37, 38].

További agyi keringés jellegzetesség az agyi kapilláris endothel sejtek vér-agy gát („blood-brain-barrier”/BBB) képzése. Az asztrociták az agyi ereket véglábaikkal körülvéve képezik a perivaszkuláris tér külső határát. A kapilláris erek szintjén e kapcsolat olyan szoros az endothelsejtek, a periciták, a perivaszkuláris fibroblasztok és az asztrocita véglábak között, hogy a permeabilitás csak bizonyos anyagok részére megengedett az idegrendszer védelme érdekében [39]. Az asztrociták és periciták is az agyi véráramlás egyik szabályozó elemének tekinthetők: míg az asztrociták véglábaikon keresztül a neuronális aktiváció állapotáról küldenek információkat az agyi ereknek ami cerebrális artéria dilatációt eredményez; addig a periciták vazokonstriktor anyagok receptorait expresszálják (ATII, ET), ezáltal az érfal konstriktóját előidézve a kapilláris átmérő kontrollálásával a cerebrális perfúziót modulálják cerebrális ischaemiát követő reperfúzió során [33].

Az agyi véráramlás elégtelensége – elégtelen vérellátás vagy okklúzió által előidézett – ischaemiához, „transiens ischaemiás attack”/TIA-hoz, stroke-hoz vezet, míg a hiperperfúzió – amit leggyakrabban magasvérnyomás betegség vált ki – a cerebrális autoreguláció károsodását, cerebrális vazokonstriktiót és encephalopátiát okoz [32, 40].

Az agyi erek elváltozásai, károsodásai cerebrovaszkuláris betegségek kialakulásáért felelnek. A cerebrális ischaemiás és haemorrhagiás állapotok tanulmányozására többféle állatmodell került kifejlesztésre. Ischaemiás modelleket (TIA, stroke) leginkább rágcsálókban (patkány, egér) alakítanak ki. Leggyakrabban az

MCA eltérő érszakaszokon (proximális, disztális) kraniotómia során vagy intraluminálisan kialakított okklúzióját (MCAO) alkalmazzák, ezenfelül léteznek ET-1, vérlemezke aggregációs, fényérzékeny anyag általi fototrombózis, embóliás és egyéb (lipid mikropartikulum, kollagén fibril, friss rög) modellek [41]. Intracerebrális haemorrhagia (ICH) modellezése során szintén rágcsálókat (patkány, egér, nyúl) és nagyobb testű állatokat használnak (macska, disznó, főemlős). Mikrobalon nucleus caudatusba történő inzerciójával, autológ vér injekcióval, kollagenáz bazális ganglionokban való alkalmazásával, trombin intraventriculáris injekcióval, hipertenzív stroke modellel vizsgálható ICH, valamint éretlen/újszülött állatokban phenylephrin intravénás injekcióval vagy intraventriculáris vér injekcióval neonatális peri/intraventriculáris haemorrhagia modellezhető. A kortikális ér kiszakítás modellben a kevert, ischaemiás és haemorrhagiás agykárosodás vizsgálható [42]. A modellekben az agyi véráramlás monitorizálására lézer Doppler áramlásmérő, lézerfolt kontraszt képalkotás, MR-angiográfia, jód-antipirin autoradiográfia és hidrogén clearance vizsgálat használható, a leggyakrabban alkalmazott eljárás a lézer Doppler áramlásmérés, újabban a mikroelektrokortikográfia-fotoakusztikus mikroszkópos rendszer és funkcionális ultrahang vizsgálat is használatos [41]. A humán agyi történések diagnosztikájában gyors agyi képalkotó (agyi CT, MR, angiográfia) vizsgálatoknak van kulcsszerepe túlélés szempontjából, emellett a pontos anamnézis felvétel – különösen a neurológiai tünetek kezdetének időpontja – és a neurológiai kivizsgálás döntő fontosságú [43].

A mikrovaskulátúra *in vivo*, élő emberben történő non-invazív tanulmányozása a retinális erek fundus fotográfia által végzett vizsgálatával kivitelezhető. A retinális erek jól tükrözik a szervezet, az agy és a szem általános vaszkuláris egészségét. Retinális mikrovaskuláris abnormalitások, strukturális változások mutatkoznak számos szisztémás betegségben, stroke-ban, hipertóniában és kardiovaszkuláris kórképekben, ezért a jövőben a mesterséges intelligencia és a gépi tanulás e vizsgálati metodikában lehetővé teheti a mikrovaskuláris betegségek *in vivo* szűrését, diagnosztikáját [44-46].

## 2.2. Szexuáliszteroidok és vaszkuláris hatásai

A nemi különbségek kialakulásáért egyrészt a genetikai nem (XX, XY kromoszómák), a megfelelően funkcionáló hipotalamusz-hipofízis-gonád tengelyek (petefészkek, herék), valamint a gonádok és egyéb más szervek által termelt szexuáliszteroid hormonok és azok hatásai felelősek. A szexuáliszteroid hormonok szteránváz vegyületek, szintézisük kiindulási molekulája a koleszterin, nőknél a petefészkekben, placentában, férfiaknál herékben, mindkét nemben a mellékvesekéregben szintetizálódnak legnagyobb mennyiségben.

A szteránváz szénatomszáma ( $C_n$ ) alapján megkülönböztethetők:

- $C_{18}$ -szteroidok: Ösztrogének
- $C_{19}$ -szteroidok: Androgének
- $C_{21}$ -szteroidok: Gesztagének (és a mineralo- illetve glükokortikoidok).

Endoösztrogének közé tartozik az ösztron (E1), 17- $\beta$ -ösztradiol (E2), ösztriol (E3) és ösztetrol (E4). [47]. Emberben legismertebb gesztagén a progeszteron.

Androgének között általánosan megkülönböztethetők erős androgének, a tesztoszteron (T) és 5-dihidro-tesztoszteron (5-DHT) [48], valamint gyenge androgének, az androszténdion (A4) a dehidroepiandroszteron (DHEA) és a DHEA-szulfát (DHEAS).

### 2.2.1. Női nemi hormonok és hatásai

#### 2.2.1.1. Ösztrogének

Az eddig ismert négy endoösztrogén eltérő mértékben termelődik a női élet során [47, 49]:

- **E1:** az A4 aromatóz általi aromatizációjával keletkezik a szövetekben, és reverzibilisen E2-vé alakul 17- $\beta$ -hidroxi-szteroid dehidrogenáz (17 $\beta$ -HSD) által granulosa sejtekben és perifériás szövetekben (zsírszövetben, emlő szövetben, vaszkuláris endothéliumban, simaizom sejtekben, agyszövetben és csontsejtekben). Menopausa során magasabb a szintje.

- **E2:** egyrészt E1-ből 17 $\beta$ -HSD hatására termelődik, másrészt T-ből keletkezik szintén aromatóz enzim általi aromatizáció révén az ovárium granulosa sejteiben és egyéb szövetekben. Az E2 a legpotensebb, leghatásosabb ösztrogén a női reprodukív évek során.

- **E3:** az E2 és E1 Citokróm P450 (CYP) enzim általi 16 $\alpha$ -hidroxilációval keletkezik leginkább a májban. Várandósság alatt a placenta termeli nagyobb koncentrációban.

- **E4:** a gesztáció 9. hetétől kezdve főként a magzati májban termelődik, a placentán keresztül jut az anyai keringésbe várandósság alatt, és egészen röviddel a szülést követően, fiziológiás szerepe egyelőre ismeretlen [50].

„Erős” ösztrogénnek tekinthető az E2 és E1, míg „gyenge” ösztrogénnek számítható az E3 és E4. Mind a négy endoösztrogén képes a nukleáris és a membrán receptorokhoz kötődni eltérő affinitással [47].

Endoösztrogének mellett léteznek még fitoösztrogének, amelyek növények által termelt nem-szteroid vegyületek, valamint xenoösztrogének, amik ösztrogén-hatással rendelkező szintetikus kémiai vegyületek [47].

### 2.2.1.2. Biohasznosulás, Fiziológiás hatások

Az E2 a vérkeringésben plazmafehérjéhez kötődik, nagyobb részt szexhormon-kötő fehérje („Sex hormon binding globulin”/SHBG) köti, kisebb részt albuminhoz kötve fordul elő, minimális hányada található szabad állapotban. Az endoösztrogének döntően májban történő metabolizmusa során a CYP enzimcsalád reakciói által katekol és metoxi ösztrogének keletkeznek, végül konjugációval vízdékonnyá válva távoznak a szervezetből.

Az E2 zsírolékony, így átjut a sejtmembránokon és kötődik receptoraihoz. Jelen tudásunk szerint az ösztrogén receptoroknak (ER) két csoportja ismert [47, 51], amely szerint megkülönböztethetők a nukleáris és a plazmamembrán receptorok:

- **ER $\alpha$**  és **ER $\beta$**  nukleáris receptorok:

Szabad, hormont nem kötő formában a nukleáris hormon receptor szupercsaládba tartozó ER $\alpha$  és ER $\beta$  citoszólban, hősokk-fehérjékhez kötve található. Az E2 belépve a sejtbe, kötődik klasszikus receptoraihoz – az ER $\alpha$ -hoz és az ER $\beta$ -hoz –, a hormont kötött receptor dimerizálódik, majd a sejtmagba transzlokálódva egyrészt közvetlenül kötődik a DNS „estrogen response element” (ERE) szakaszához, másrészt közvetett módon transzkripciós faktorokhoz kapcsolódva köt a DNS-hez és ezáltal géntranszkripciót modulál, így fejt ki direkt és indirekt genomikus és non-genomikus hatásait. Az endotheliális ER $\alpha$  közvetíti az ösztrogén általi előnyös vaszkuláris hatásokat, míg az ER $\beta$ -nak a bazális artériás vérnyomás modulációjában és a kardiális

protekcióban van szerepe [52]. Felnőtt és középkorú nőstény és hím egerek aortájában és szívében nem expresszálódik ER $\beta$  [53].

Kilodaltonban mért molekuláris súlyuk alapján napjainkban több izoformájuk különböztethető meg, amelyek jelentőségét bizonyos betegségekben már kutatják [54]:

- Tradicionális ER $\alpha$  = ER $\alpha$ 66, trunkált ER $\alpha$ 46 és ER $\alpha$ 36

- Tradicionális ER $\beta$  = ER $\beta$ 59, trunkált ER $\beta$ 54, ER $\beta$ 49 és ER $\beta$ 44, elongált ER $\beta$ 61.

Az izoformák kardiovaszkuláris betegségekben betöltött szerepét tanulmányozva a humán endothel sejtek plazmamembránjában a trunkált ER $\alpha$ 46 izoforma nagy számban előfordul, amelyhez az E2 nagyobb affinitással kötődik, mint a tradicionális ER $\alpha$ 66 formához [55]. Elképzelhető, hogy a különböző receptor izoformák expressziós mintázata is szerepet játszhat a nők kardiovaszkuláris protekciójában.

Újabb az alábbi ösztrogén-plazmamembrán receptor különíthető el:

- **GPR30** vagy **GPER1**: G-protein kapcsolt receptor 30 vagy más néven a G-protein kapcsolt ösztrogén receptor 1:

Az endoplazmatikus retikulumban és plazmamembránban lokalizálódó receptor. Alacsonyabb E2 kötő affinitással rendelkezik, mint a klasszikus nukleáris ER-ok, azonban ezen keresztül az E2 gyors, nem-genomikus hatásokat fejt ki és intracelluláris szignáltranszdukciós útvonalakon génexpressziót is befolyásol, valamint az ER $\alpha$  mellett az ösztrogének általi vazodilatáció kialakításában a membrán-lokalizált GPER/GPR30 játszik szintén fontos szerepet [52].

Feltételezhető, hogy a genomikus és a non-genomikus útvonalak közt kereszt-reakciók és átfedések lehetnek, illetve leírásra került a ligand-független ösztrogén receptor aktiváció, valamint az ösztrogén receptor koregulátorok (koaktivátorok és korepresszorok) léte [47].

Az E2 reprodukív és nem reprodukív hatásai jól ismertek. Reprodukív hatásai közé tartoznak az elsődleges és másodlagos női nemi jellegek kialakítása, a női nemi szervekre (méhnyálkahártya, méh, hüvely, emlő) gyakorolt proliferatív-szekréciós hatások, a hipotalamusz-hipofízis-ovárium tengely és menstruációs ciklus szabályozásában való részvétel, valamint a várandósság kialakulásával és fenntartásával összefüggő hatásai. Nem reprodukív hatásai közé tartoznak a csontszövetre gyakorolt anabolikus hatásai, a lipidanyagcserében és a bőr normális szerkezetének fenntartásában

betöltött szerepe, az agyi funkciókra kifejtett hatások, a gyulladási reakciók kontrollálása, valamint a szív-érrendszerre kifejtett hatásai [49, 56].

Kardiovaszkuláris hatásait tekintve az E2 nukleáris ER $\alpha$  és ER $\beta$ , valamint GPER1 receptorain genomikus és nem-genomikus útvonalakon keresztül erőteljes akut és krónikus vazorelaxáns hatással bír, ezáltal a reprodukív korú nők alacsonyabb vérnyomását és kardioprotekcióját eredményezi. Számos állatkísérlet eredményei alátámasztják, hogy az E2 hipertóniában, ateroszklerózisban, pulmonális hipertóniában, a miokardiális ischaemiás-reperfúziós károsodásban, valamint a szívelégtelenség különböző típusaiban protektív szerepet tölt be [51]. Felnőtt, nem vemhes Sprague-Dawley nőtény patkányok izolált saphena artériáin az E2 akut, koncentráció-függő vazorelaxációt indukált, míg az ovariectomián átesett majd ösztrogén-pótló terápiában részesült nőtény állatokból származó saphena artériák akut, E2-vazorelaxációja szignifikáns csökkenést mutatott a csak ovariectomizált kontroll csoporthoz képest, ami arra utalhat, hogy a krónikus E2-pótló terápia befolyásolhatja az E2 akut, nem-genomiális vazorelaxációs hatását [57, 58].

Érrendszeri vonatkozásban az E2 az endothel-diszfunkció csökkentésével, a NO-mediált útvonalon keresztüli vazorelaxációval és annak fokozásával, vazokonstrikció csökkentésével és a következményes vérnyomáscsökkentéssel, valamint a VSM sejtproliferáció-migráció csökkentéssel anti-hipertenzív hatást fejt ki. Anti-ateroszklerotikus hatása a koronária artéria simaizomsejtek és VSM sejtek differenciációjának, a lipid akkumuláció és a kalcifikáció csökkentésén, a gyulladáscsökkentő és antioxidáns fokozó hatásán keresztül érvényesül.

Szerteágazó kardioprotektív hatásai miatt a női nem relatíve alacsonyabb kardiovaszkuláris rizikóját az E2-nek tulajdonítják. Premenopauzális nőkben a kardiovaszkuláris betegségek (CVD) és a hipertónia rizikója, incidenciája alacsonyabb, mint az azonos korú férfiakban. E nemi különbség azonban a menopauza beköszöntével – vagyis az E2 szint csökkenésével párhuzamosan – eltűnik [59]. Nőkben a magasabb androgén és alacsonyabb ösztrogén szintek CVD rizikófaktorokkal asszociálnak. Posztmenopauzában lévő nőkben magasabb T/E2 hányados esetén megnövekedett rizikó mutatkozott a CVD, szívkoszorúér betegségek (coronary heart diseases/CHD) és szívelégtelenség bekövetkezésére, emellett a magasabb T szintek növelték a CVD és HD rizikóját, míg a magasabb E2 szintek alacsonyabb CHD rizikóval asszociáltak [60].



## 2.2.2. Férfi nemi hormonok és hatásaik

### 2.2.2.1. Androgének

Az alábbi öt erős és gyenge androgén tartozik a klasszikus androgén szteroid vegyületek közé [61, 62]:

- **T:** a here interstíciumban található Leydig-sejtekben szintetizálódik A4-ből 17B-HSD által, egy része a here magas intratesztikuláris T koncentrációját biztosítja, másik része a keringésbe kerül, valamint aromatáz enzim által keletkezhet még E2-ből kisebb mennyiségben zsírszövetben. Erős androgén.

- **5-DHT:** T-ből  $5\alpha$ -reduktáz enzim hatására szintetizálódik az androgénérzékeny szövetekben. A leghatékonyabb, legpotensebb androgén vegyület és számos szervben, szövetben az aktív hormon.

- **A4:** a szteroid-bioszintézis során keletkezik egyrészt 17-hidroxi-progeszteronból 17-hidroziláz és 17,20-liáz aktivitású enzim által, másrészt DHEA-ből  $3\beta$ -hidroxi-szteroid dehidrogenáz ( $3\beta$ -HSD) hatására szintetizálódik a here Leydig sejtjeiben és a mellékvesekéreg zona reticularis részében. Gyenge androgén, perifériás szövetekben erős androgénekké alakul tovább.

- **DHEA:** Gyenge, adrenális androgén, a mellékvesekéreg zona reticularisban keletkezik 17-hidroxi-pregnenolonból 17-hidroziláz és 17,20-liáz aktivitású enzim által.

- **DHEAS:** Szintén gyenge, adrenális androgén, kizárólag a mellékvesekéreg zona reticularisban a DHEA szulfo-transzferáz enzim általi szulfatálásával keletkezik. Az adrenális androgének szintézise fokozódik, amennyiben a glükokortikoid intermedier vegyületek továbbalakulásának iránya gátolt a mellékvesekéregben.

Az endogén androgén szintézisnek újabban megkülönböztethető a klasszikus és nem-klasszikus útvonala. Klasszikus útvonalon keresztül szintetizálódnak az eddig ismertett androgének (T, 5-DHT, A4, DHEA, DHEAS). Nem-klasszikus útvonalon, „hátsó ajtó” („backdoor”) és  $5\alpha$ -dion útvonalakon egyéb androgének keletkezhetnek különféle szövetekben a szintézishez szükséges enzimexpresszió függvényében eltérő mértékben:  $11\beta$ -hidroxiandroszténdion (11OHA4), 11-ketoandroszténdion (11KA4),  $5\alpha$ -Androsztándion (A5), Androszteron, Androsztándiol (Adiol),  $5\alpha$ -Androszténdiol (A5-diol), 11- $\beta$ -hidroxitesztoszteron (11OHT), 11-ketotesztoszteron (11KT), 11-ketodihidrotesztoszteron (11KDHT). Az eddigi endogén androgén vegyületek kategorizálhatók kanonikus vagy nem-kanonikus androgén receptor (AR) ligandokként

és változó affinitással kötődnek receptoraikhoz [62, 63]. E vegyületek fiziológiás és patológiás hatásainak részletes megismerése további kutatásokat igényel.

Egyéb androgének: növényekből nyerhető fitoandrogének (például királydinnye), tesztoszteron-pótló kezelésben (Testosterone Replacement Therapy/TRT) vagy T deficienciában alkalmazott exogén T, amely vegyületek a T félszintetikus származékai [64, 65], valamint Androgén-anabolikus-szteroidok (AAS), amelyek a T szintetikus derivátumai [66].

#### 2.2.2.2. Biohasznosulás, Fiziológiás hatások

Az androgéneket a vérkeringésben – hasonlóan az ösztrogénekhez – legnagyobb mennyiségben az SHBG, kisebb mennyiségben az albumin köti, minimális mennyiségük szabad állapotú. Az androgén metabolizmus fő helyszíne a máj, ahol az androgénekből végül 17-ketoszteroidok keletkeznek majd vízdékony vegyületekként elhagyják a szervezetet.

Az AR esetében is napjainkban már megkülönböztethetők nukleáris és membrán-kötött receptor típusok [67]:

- **AR:** szintén az intracelluláris szexuálszteroid receptor családba tartozik. A sejt citoplazmájában, hőszokk-fehérjékkel képzett komplexben helyezkedik el. Két endogén ligandumát, a T-t és 5-DHT-t eltérő affinitással köti: egyes szövetekben az 5-DHT nagyobb affinitással kötődik a receptorhoz. Ligandkötés hatására a receptor homodimerizálódik és transzlokálódik a sejtmagba, ahol a DNS „androgen response element” (ARE) szakaszához kötve lassú, génexpressziót befolyásoló hatása érvényesül. Az AR-nak kialakulhatnak AR variánsai (ARV), ez idáig 22 ARV került azonosításra: **AR-FL, AR-45, AR-23, AR-V1-V14, AR-8, AR-V4/5a-ups, AR-V4/5b-ups, AR-V4/5c-ups** és **AR-V-4-chr11**. Lehetnek ligand-függő, ligand-független, konstitutívan aktív, feltételesen aktív, inaktív és jelenleg még ismeretlen transzkripciós aktivitással rendelkező receptor-variánsok. Leginkább patológiás kórképekben (kasztráció rezisztens prosztaták) kutatják jelentőségüket [68-70], azonban elképzelhető, hogy az ARV-nek és az AR génpolimorfizmusoknak kardiovaszkuláris vonatkozásban és női nemből is lehet szerepük [71]. AR-ok expresszálódnak vaszkuláris simaizmokban és kardiális miocitákban [72].

• „**Membrán-kötött és egyéb AR-ok**” [73-75]:

Nem-genomiális, gyors választ kiváltó, változatos típusú receptorok tartoznak ebbe a csoportba. Az androgének nem DNS-kötődés-függő hatásai három kritérium teljesülése esetén tekinthetők nem-genomiális hatásnak:

- 1) Másodpercek-percek alatt kialakuló gyors hatások.
- 2) A kialakult válasz akkor is megfigyelhető, ha a T bejutása gátolt a citoplazmába. Ez T konjugációval érhető el, amihez legtöbbször marha szérum albumint használnak.
- 3) A válaszok kialakulását transzkripciós inhibitorok nem gátolják és nincs szükség funkcionális magi transzkripciós-transzlációs aktiválásra.

Eddig azonosított „membrán-kötött és egyéb AR”-ok amelyekhez a T direkt módon képes kötődni, vagy amelyeket indirekt mechanizmussal aktivál, valamint a T nem DNS-kötődés függő hatásainak kialakulásában szerepet játszó tényezők:

- **Foszfolipáz C**

- G-protein kapcsolt Receptor (GPR) család tagjai közül a C család 6-os csoportjának A tagja és az oxoekoizoid receptor 1: **GPRC6A** és **OXER1**
- L duál oxidáz 1: **Duox1**
- Cink transzporter protein 9: **ZIP9**
- L-típusú feszültség-függő  $Ca^{2+}$ -csatorna: **LVDC**
- **Szexhormon-kötő fehérje receptor: SHBG-R**
- **Feszültség-függő  $K^+$ -csatorna:  $K_v$**
- Alacsony és magas konduktanciájú  $Ca^{2+}$ -aktiválta  $K^+$ -csatornák: **SK<sub>Ca</sub>** és **BK<sub>Ca</sub>**
- Foszfatidil-inozitol-3-kináz/Protein kináz B jelátviteli útvonal: **PI3K/Akt**
- Ciklikus Adenozin Monofoszfát szint csökkentés: **[cAMP] ↓**
- Cilikus Guanozin Monofoszfát szint növelés: **[cGMP] ↑**
- **Mitokondriális prokaspáz-3 és -8** aktiválás
- **NADPH oxidáz** aktiválás
- Tranziens Receptor Potenciál kation-csatorna (TRP) M alcsalád 8-as tagja és vanilloid 4 típusa: **TRPM8** és **TRPV4**

Elképzelhető, hogy az androgének kardiovaszkuláris hatásai a fenti mechanizmusok révén is megvalósulhatnak.

A T és 5-DHT szexuálspecifikus hatásait tekintve az elsődleges (férfi nemi szervek: here, mellékhere, pénisz és járulékos nemi mirigyek: prosztatata, ondóhólyag) és másodlagos férfi nemi jellegek (férfias típusú szőrnövekedés, hangmélyülés) kialakításáért felelnek, pubertást követően a hipotalamusz-hipofízis-here tengely és a spermatogenezis szabályozásában is részt vesznek, a nemi vágy, a libidó megjelenését, fenntartását okozzák, valamint a merevedés kialakulásában is közreműködnek. Az éjszakai-hajnali merevedések teljes mértékben androgénfüggő jelenségek, csökkent androgén szint, androgénhiány esetén elmaradnak. Az androgének nem szexuálspecifikus hatásai közé tartoznak anabolikus hatásaik, befolyásolják a fehérje-szénhidrát-zsír háztartást. Pozitív nitrogén-egyensúlyt biztosítva izomfejlődést, izomtömeg-növekedést, izomerő fokozódást, valamint zsírszövet csökkenést eredményeznek. Csontrendszerre gyakorolt hatásai során a  $Ca^{2+}$  és fehérjék csontba épülésén keresztül a csont hossznövekedését, valamint a vérképzés serkentését okozzák, míg a bőrben a mirigyelválasztás fokozásával zsírosabb bőrt és acnék megjelenését idézik elő [61, 76]. Az androgének szerepe feltételezhető a kognitív és cerebrovaszkuláris funkciók, a mobilitás és fizikai teljesítmény megőrzésében [67, 77].

Emellett az androgének kardiovaszkuláris rendszerre gyakorolt hatásainak feltérképezése napjainkban is aktívan zajlik [73, 74, 78, 79].

A koszorúér betegség legerősebb független rizikófaktorai a növekvő életkor és a férfi nem, ezen betegségek férfi-női aránya 2:1. E megfigyelések alapján feltételezik a T és egyéb androgének kardiovaszkuláris rendszerre gyakorolt káros hatásait [80]. Ugyanakkor ezt nagyobb követéses klinikai vizsgálatok nem támasztották alá, sőt az androgének kardiovaszkuláris protektív és pozitív szerepe mutatkozott meg [79]. Vaszkuláris vonatkozásban a gyors, nem-genomikus hatások érvényesülését feltételezik, ugyanakkor a genomikus-nem-genomikus hatások átfedése és kölcsönhatása miatt a pontos útvonalakat nehéz definiálni.

A T egyik jellegzetes akut hatása a rapid, nem-genomikus T-indukált vazorelaxáció. Azonban az androgén-vazodilatáció kialakulásának fő mechanizmusa és annak elemei jelenleg sem pontosan ismertek még és egyelőre ellentmondásos eredmények is rendelkezésre állnak. A vazorelaxáció kialakításában a magi és membrán receptor aktivációt, a vaszkuláris endothéliumra gyakorolt hatást, valamint az

ioncsatona aktivációt-inhibíciót valószínűsítik, emellett vaszkuláris endothélium-függő és endothélium-független, direkt VSM sejtaktivációs útvonalak létét feltételezik [73].

Vaszkuláris endothélium-függő hatások közé tartozik az endotheliális NO-szintáz aktivációja, endotheliális NO-termelés révén vazodilatáció. Ugyanakkor vazokonstriktor metabolitok (TXA<sub>2</sub>, 20-HETE, ET) szintézisének fokozásával vazokonstriktiót is képes indukálni. Vaszkuláris endothelsejtek proliferációját, migrációját és növekedését idézheti elő, emellett anti-trombotikus és anti-inflammatórikus hatásokkal bírhat endothelsejteken [79].

Endothélium-független útvonalak mentén kialakult vazodilatációban GPR által kiváltott hiperpolarizáció hatására bekövetkező SK<sub>Ca</sub> és BK<sub>Ca</sub> csatornák aktivációja valószínű. Úgy tűnik, a K<sup>+</sup>-csatornák aktivációja által előidézett membrán-hiperpolarizáció a feszültség-függő Ca<sup>2+</sup> csatornák zárását okozza, tehát a fő mechanizmus a K<sup>+</sup>-csatornák aktivációja és a Ca<sup>2+</sup>-csatornák gátlása és ezáltal a VSM sejtek intracelluláris Ca<sup>2+</sup> koncentráció változtatása [73].

### **2.2.3. Szexuálissteroid hormontermelés nemi különbségei, kardiovaszkuláris vonatkozásai**

A nemi hormonok hatásai mindkét nemben életkorfüggően jelentkeznek a hormonkoncentrációk változása okán. Női reproduktív korban az E2 és a progeszteron termelése periodikus és csak menopauzáig tart, szemben a reproduktív korú férfiak folyamatos, élethosszig tartó androgén-termelésével [49, 56, 81].

Fontos megjegyezni, hogy az ösztrogén hormonoknak férfi nemből és androgén hormonoknak női nemből vannak hatásaik fiziológiás és kóros állapotban egyaránt.

Férfi nemből az ösztrogének leginkább keringő androgénekből szintetizálódnak, és ER-ok jelenléte is igazolható. Főként a herében (Leydig- és Sertoli sejtekben), zsírszövetben és izmokban a T „indirekt, inverz”, aromatáz enzim általi aromatizációjával keletkező E2 képes ER-okhoz kötődni, ezáltal genomiális és nem-genomiális ösztrogén-hatásokat kifejteni. Ösztrogének befolyásolják a férfi nemi differenciálódást, nemi fejlődést, reproduktív korban szerepet játszanak a spermatogenezis szabályozásában, valamint egyéb nem-reproduktív, csontrendszeri és metabolikus hatásai jelentkeznek [82, 83].

Azonban nagy jelentősége van a megfelelő időben és megfelelő mennyiségben jelen lévő ösztrogéneknek. Intrauterin élet során elszenvedett anyai ösztrogén-expozíció fiú utódban Tesztikuláris Diszgenezis Szindróma (TDS) kialakulásában játszik szerepet, Leydig- és Sertoli-sejt diszfunkciót eredményezve hozzájárul a cryptorchizmus, hypospadiasis, tesztikuláris csírasejtes tumorok és infertilitás pathogeneziséhez [84]. ER-knock-out állatmodellekben fertilitás-változások, hormonszintbeli (FSH, LH, T, E2) eltérések és szexuális viselkedésváltozások mutatkoznak [83].

Női nemben az androgének az ösztrogén-szintézis prekurzorai is egyben, valamint az androgén hatások szintén szerepet játszanak a hipotalamusz-hipofízis-ovárium tengely, a máj és a vese megfelelő működésében, az izom- és csonttömeg kialakításában, valamint a szexuális vágy létrejöttében [85, 86]. Optimális androgén szintek hiányában, túl alacsony, vagy túl magas androgén szintek patológiás állapotokhoz vezetnek.

AR knock-out nőstény állatmodellekben, amelyekben az androgén-hatások nem képesek kifejteni fiziológiás hatásaikat, fertilitás és ösztroz-ciklus zavarok, hormoneltérések, megváltozott folliculus szám, oocya szám és minőség mutatkozott [86].

A Policisztás Ovárium Szindróma (PCOS) az egyik leggyakrabban előforduló nőgyógyászati-endokrin kórkép, amely kifejezett hiperandrogenizmussal társulhat, ami a szindróma egyik fő diagnosztikai kritériuma is egyben [87, 88]. PCOS diagnosztizálható, ha reprodukív korú nőben az alábbi 3 kritérium közül legalább 2 teljesül: 1) ultrahang-vizsgálattal igazolt policisztás ovárium morfológia (egy ováriumban több, mint 12 folliculus látható, vagy az ovárium-volumen nagyobb, mint 10 ml, domináns tüsző jelenléte nélkül); 2) hiperandrogenizmus klinikai (fokozott szőrnövekedés, aknék megjelenése) és/vagy biokémiai formája (emelkedett szérumban androgén szintek) és 3) menstruációs zavarok (oligo-, anovuláció, ciklushossz >35 nap), amennyiben egyéb endokrinológiai eltéréseket okozó kórképek kizárásra kerültek [87]. Ennek megfelelően a rotterdami kritériumok alapján négy PCOS-fenotípus különíthető el [89].

PCOS-hoz társulhatnak változatos metabolikus eltérések (inzulin-rezisztencia, 2-es típusú cukorbetegség, dyslipidaemia, obezitás), fertilitás- és szexuális zavarok, valamint fokozott kardiovaszkuláris rizikó, mindemellett PCOS-betegekben kifejezetten

gyakran, 67-85%-ban fordul elő D-vitamin deficiencia [90-92]. A fokozott kardiovaszkuláris rizikó hátterében a szív-érrendszeri betegségekre hajlamosító rizikófaktorok megléte, valamint az androgén-túlsúly patológiás szerepe állhat.

Férfiakban az alacsony (hipogonadizmus), nőkben a magas androgén szintek (PCOS) és a megnövekedett kardiovaszkuláris rizikó között kapcsolat mutatkozik [93]. Férfiakban androgén-deficienciában alkalmazott TRT kezelés kardiovaszkuláris rizikóra gyakorolt hatása vitatott: jelenleg nincs konkrét és elegendő bizonyíték az androgén-deficienciában alkalmazott TRT kardiovaszkuláris rizikót befolyásoló hatására [94, 95]. Ugyanakkor AAS-ot használó populációkban (testépítők, atléták) az AAS-ok kardiális hipertrófiát, emelkedett vérnyomást, aterogén lipidprofil és véralvadási zavarokat eredményezve fokozzák a kardiovaszkuláris rizikót: miokardiális infarktusok, fatális aritmiák és kardiomiopátiák pathomechanizmusához járulhatnak hozzá [66].

Női hiperandrogén állapotban állatkísérletes eredmények alapján az androgének szimpatikus idegrendszerre, a 20-HETE produkcióra és a renin-angiotenzin rendszerre gyakorolt hatásai állhatnak a fokozott kardiovaszkuláris rizikó hátterében [93].

Transznemű populációban a transznem-hormonterápia (cross-sex hormone therapy/CSHT: férfiakban ösztrogének, nőkben androgének) befolyásolja a kardiovaszkuláris rizikófaktorokat. Transznemű férfiakban (Female-to-Male/FTM) CSHT hatására vérnyomásemelkedés, inzulin-rezisztencia és lipidprofil-eltérések jelentkeztek, azonban az eltérések nem mutattak összefüggést a morbiditás vagy mortalitás emelkedéssel [96]. FTM egyéneknél és androgén-túlsúlyos PCOS betegekben a hiperandrogenizmus összefüggést mutat az enyhe vérnyomásemelkedéssel, endothél-diszfunkcióval és dyslipidaemiával [97]. Transznemű nőkben (Male-to-Female/MTF) a CSHT megnöveli a tromboembóliás rizikót, azonban a legtöbb transzgender vizsgálat fiatal populációra való fókuszálása és a randomizált kontrollált vizsgálatok hiánya miatt a CSHT hosszú távú és általános hatásaira nehéz következtetni [96].

Elképzelhető, hogy az androgének változatos kardiovaszkuláris hatásai a fiziológiás, állandó termelődéstől eltérő, nagyobb koncentráció-változásokkal lehetnek összefüggésben mindkét nemből, azaz azonos nemből a megfelelő szexuáliszteroid fiziológiás szintje esetén a legkisebb a kockázat.

## 2.3. A D-vitamin és hatásai

### 2.3.1. D-vitamin és biohasznosulása

A D-vitamin egy zsíroldékony, evolúciós szempontból jól konzervált *in vivo* szteránvázas prohormon, amelyet majdnem minden földi élőlény képes előállítani [98].

Két formája különíthető el:

- **Ergokalciferol/D<sub>2</sub>-forma (D<sub>2</sub>)**, amely formája növényekben, gombákban, élesztőgombákban, növényi élelmiszerekben és étrend-kiegészítőkben található.
- **Kolekalciferol/D<sub>3</sub>-forma (D<sub>3</sub>)**, amely állatok és emberek bőrében ultraibolya B sugárzás hatására keletkezik, emellett állati eredetű élelmiszerekben, olajban gazdag halakban (angolna, lazac, hering, szardínia, makrél, tonhal), csukamájolajban, sajt- és tejtermékekben, tojássárgájában, zabkásában található és étrend-kiegészítők komponense.

Az endogén D<sub>3</sub>-vitamin szintézis legfőbb mechanizmusa során a bőrben 7-dehidrokolekalciferolból a Nap ultraibolya-B sugárzása hatására D<sub>3</sub> keletkezik. A májban 25-hidroxiláz enzim hatására kalcifediol/25-hidroxi-D<sub>3</sub> – 25(OH)D<sub>3</sub> – szintetizálódik, ami a legnagyobb mennyiségben keringő, stabil metabolit – ezért használatos a D-vitamin ellátottság meghatározására. A 25(OH)D<sub>3</sub> a keringésben D-vitamin-kötő fehérjéhez („Vitamin D binding protein”/VDBP) kötve kering. A vesében a 25(OH)D<sub>3</sub> 1- $\alpha$ -hidroxiláz enzim hatására kalcitriollá/1,25-dihidroxi-D<sub>3</sub> – 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> –, aktív hormonná alakul, amely a keringésben szintén VDBP-hez kötve található.

Az 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> egy része célsejtekben található D-vitamin receptoron („Vitamin D receptor”/VDR) fejt ki hatásait, másik része különféle metabolikus utakon inaktiválódik.

A klasszikus inaktiváció során 24-hidroxiláz enzim az 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-at 24-es szénatomon hidroxilálva azt 1,24,25,(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub>-á alakítja. Ugyanakkor a 24-hidroxiláz enzim rendelkezik még 23- és 26-hidroxiláz aktivitással is, ezáltal a 25(OH)D<sub>3</sub>-at további hidroxilált származékokká képes alakítani [99-102].

Ezenkívül a D-vitamin alternatív metabolikus útvonalai is ismertek már [99].

D-vitamin metabolizmusban részt vehetnek még a CYP enzimek, amelyek a szteránváz szénatomjait különböző pozíciókban (1, 4, 17, 20, 22, 23, 24, 25 és 26-os szénatomok) és különböző mértékben (mono/di/trihidroxi csoportok) képesek hidroxilálni, ezáltal változatos metabolitokat létrehozva.



C3-epimerizáció során a 3-epimeráz az összes fontosabb D-vitamin metabolit 3-as szénatomját képes átpozícionálni  $3\beta$  elhelyezkedésből  $3\alpha$ -vá. Epimerizált D-vitamin metabolitok fiziológias körülmények között is megtalálhatók a szervezetben, azonban úgy tűnik, e vegyületek VDR kötődési affinitása és transzkripció aktivitása alacsonyabb.

Fázis II metabolizmus során szulfotranszferáz és UDP-glukuroniltranszferáz enzimek hatására szulfát- és glukuronid-konjugált  $25(\text{OH})\text{D}_3$  metabolitok keletkezhetnek, amelyek metabolit-raktárként szolgálhatnak.

A különböző metabolikus utaknak, a folyamatokban részt vevő enzimek polimorfizmusainak a különböző „D-vitamin homeosztázis”-sal kapcsolatos betegségek esetén, valamint a D-vitamin szint pontosabb meghatározása miatt van jelentősége, amely további jövőbeli kutatásokat igényel [99].

Az aktív  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  legfontosabb receptora:

- **VDR:** lokalizációjától függően megkülönböztethető nukleáris és membrán VDR: **VDRn** és **VDRm** [103]. A VDRn a nukleáris receptorok (NR) egyik alcsaládjába (NR1) tartozik, amely receptor-családhoz tartoznak még a máj, a farnezoid és pregnán X receptorok (LXR, FXR és PXR), valamint a konstitutív androsztán receptor (CAR) [98]. A VDRn retinoid X receptorral (RXR) együtt a sejtmagban a DNS „Vitamin D response element” (VDRE) régióján található. A zsíroldékony aktív  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  átjutva a sejtmembránokon kötődik a VDR-hez, ami heterodimert képezve az RXR-ral a géntranszkripció modulációját, genomikus hatásokat eredményez [104]. A VDRm a sejtfelszínen, a plazmamembránban és perinukleáris területben található.

Leginkább VDRm révén, de VDRn, valamint a nukleáris és membrán receptorok együttműködésén (VDRn + VDRm) keresztül is változatos szignál-transzdukciós utakon és másodlagos hírvivő molekulák generálása révén az  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  gyors, nem-genomikus hatásokat is generál [103].

Az irodalomban leírásra került már néhány VDR génpolimorfizmus, amely megváltozott receptor-működést és szignáltranszdukciót eredményezhet: **Fok-I**, **Bsm-I**, **Apa-I**, **Taq-I** és **Cdx2** [105, 106]. A VDR génpolimorfizmusok és különböző kardiovaszkuláris és reproduktív-endokrin betegségek kapcsolatát már vizsgálják.

A VDR Apa-I génpolimorfizmus jelenléte kapcsolatban állhat a PCOS kialakulásával [107], a Cdx2 'AA' polimorfizmus szerepét feltételezik a PCOS-ben

jelentkező inzulin rezisztenciában és D-vitaminhiányban: a Cdx2 polimorfizmus megléte alacsonyabb éhomi inzulin szintekkel, HOMA-IR értékkel és magasabb inzulin-szenzitivitás index-szel, míg az Apa-I polimorfizmus alacsonyabb T szintekkel mutatott összefüggést, emellett a VDBP génvariáns megléte kapcsolatba hozható magasabb D-vitamin deficiencia (Vitamin D deficiency/VDD) rizikóval [108]. Ugyanakkor vannak olyan vizsgálatok is, amelyeknél nem találtak összefüggést a VDR-polimorfizmusok és PCOS között [106].

Egy friss meta-analízis alapján a Fok-I variáns és az artériás hipertónia rizikója között szignifikáns kapcsolat mutatkozott és etnikai különbségeket is azonosítottak: az f allél – adenin vagy timin egynukleotid-polimorfizmus a Fok-I-ben, amely a teljes, 427 aminosavból álló, alacsonyabb bioaktivitású protein termelését eredményezi – szignifikánsan alacsonyabb hipertóniára való eséllyel társult a teljes analízis során, különösen déli populációban, ázsiai populációnál részben, míg európai populáció esetén nem volt szignifikáns az eredmény, tehát a Fok-I f allél megléte protektív tényező lehet artériás hipertónia szempontjából bizonyos etnikumokban [109]. Ugyanakkor, egy klinikai kutatás, ami legalább egy CVD rizikófaktorról rendelkező, D-vitaminhiányos, 50 fős mediterrán populációban vizsgálta a Bsm-I, Apa-I, Cdx2, Taq-I és Fok-I polimorfizmusokat, a Bsm-I, Apa-I és Taq-I a várt gyakorisághoz hasonló volt, míg Cdx2 a vártnál kevésbé volt gyakori, a Fok-I a vártnál gyakoribb volt a kaukázusi populációhoz képest. Emellett a Fok-I mutációk számától függően változott az átlag 25(OH)D<sub>3</sub> szint: mutáció hiányában alacsonyabb, míg mutációk jelenlétében magasabb szint mutatkozott [110].

### **2.3.2. D-vitamin fiziológiai hatásai**

A D-vitamin szkeletális és extraszkeletális hatásai, vagy más kategorizálás szerint klasszikus és nem-klasszikus hatásai ismertek [111, 112]. Míg a szkeletális vagy klasszikus célpontjai, hatásai jól ismertek: Ca<sup>2+</sup> és foszfát homeosztázis és csontanyagcsere befolyásolása, addig a különböző szervekre és szervrendszerekre gyakorolt változatos pontos extraszkeletális, nem-klasszikus hatások megismerése napjainkban is intenzív kutatások tárgyát képezi.

Három, nem-klasszikus hatás különböztethető meg, amelyek egymással kapcsolatban állnak [112, 113]:

- I) Hormon-szekréciómoduláció
- II) Immunrendszer befolyásolása
- III) Sejtproliferáció és -differentiáció szabályozás

E hatások számos szervben, szervrendszerben érvényesülnek fiziológias állapotokban: csont- és izomrendszerben, bőrben, metabolikus háztartásban, endokrin-reproduktív funkciókban, idegrendszerben, szív-érrendszerben, kiválasztó szervrendszerekben és immunrendszerben [111].

A D-vitamin metabolizmus megváltozása és az elégtelen D-vitamin ellátottság szerepet játszik különböző patológiás állapotokban, azok kialakulásában: csontrendszert érintő betegségek (angolkór, oszteomalácia) különféle rosszindulatú tumoros megbetegedések, metabolikus zavarok (cukorbetegség, metabolikus szindróma), autoimmun és fertőzőes betegségek, neurológiai kórképek, férfi és női reproduktív zavarok, pulmonális, hepatikus és vesebetegségek, mortalitásban betöltött szerep, valamint kardiovaszkuláris betegségek [111-114].

A D-vitamin hatásainak kialakulásához szükség van az optimális D-vitamin ellátottság meglétére.

A 25(OH)D<sub>3</sub> szintek alapján hat D-vitamin ellátottsági kategória különíthető el [102, 114-116]:

<b>Kategóriák</b>	<b>Koncentráció</b>	
	(1 ng/mL = 2,5 nmol/L)	
	<b>ng/mL</b>	<b>nmol/L</b>
• D-vitaminhiány/deficiencia:	<20	<50
• Szuboptimális D-vitamin státusz:	20-30	50-75
• <b>Optimális D-vitamin szint:</b>	<b>30-50</b>	<b>75-125</b>
• Magas D-vitamin szint:	50-100	125-250
• D-vitamin túladagolás:	100<	250<
• D-vitamin intoxikáció:	200<	500<

Az elégtelen D-vitamin ellátottság és a D-vitamin deficiencia világszerte fontos népegészségügyi probléma és egyre gyakrabban fordul elő az átlagpopulációban [117]. Egyes országokban (Egyesült Államok, Kanada, India, Finnország) kialakult az élelmiszerek D-vitaminnal történő kiegészítése [101], ugyanakkor a D-vitamin szupplementáció mennyiségéről változatos állásfoglalások léteznek. Korcsoportonként D-vitamin státusztól, meglévő komorbiditásoktól, testsúlytól, populáció-specifikus faktoroktól (bőrtípus, napfény expozíciós idő, élelmiszerekkel történő bevitel) és az adott ország egészségügyi rendszerétől függően változhat a szükséges szupplementáció mennyisége, amelyek figyelembevétele szükséges egy egységes ajánlás megfogalmazásához [116].

Reproduktív populációra vonatkozóan az európai ajánlás 1-18 éves kor között 3-5000 NE/nap, felnőtteknek 7-10 000 NE/nap vagy 50 000 NE/hét D-vitamin bevitel D-vitaminhiány esetén, az optimális D-vitamin szint fenntartásához 3-5000 NE/nap bevitel ajánlott [116]. A 2012-es magyar ajánlás D-vitaminhiány megelőzésére, a normális D-vitamin szint megtartására serdülőknél 800-1000 NE/nap, felnőtteknél 1500-4000 NE/nap dózist javasol [114].

A koronavírus világjárvány hatására ismét a figyelem középpontjába került a megfelelő D-vitamin szint kérdése, ezért hazánkban jelenleg készül a negyedik országos konszenzus, amelyben a legfrissebb tudományos eredmények alapján meghatározásra kerülnek a különböző betegcsoportoknak ajánlott dózisek. A hazai konszenzus megjelenése 2021-ben várható.

### **2.3.3. D-vitamin és lehetséges nemi különbségek**

Jelenleg még nem rendelkezünk elegendő ismerettel a D-vitaminnal kapcsolatos nemi különbségeket illetően, azonban az utóbbi időkben már elkezdték vizsgálni ezt a témakört.

#### **2.3.3.1. D-vitamin homeosztázis nemi különbségei**

Elképzelhető a D-vitamin szintézis, aktiváció és metabolizmus nemek közti és egyéni különbségeinek léte, amelyben esetleges okozati tényező lehet az ösztrogén és androgén szexuálszteroid hormonok különböző aktivációs-inhibítoros hatásai vagy eltérő biohasznosulásuk.

100 egészséges és 120 PCOS nőkből asszisztált reprodukciós beavatkozás kapcsán történt petesejt-nyerés során izolált humán ovárium granulosa sejt kultúrák aktív D-vitaminnal –  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -mal – történő 48 órás inkubálását követően vizsgálták a sejtek szexuálszteroid koncentrációját, ezáltal a szteroidogenezist. Az ösztron és progeszteron koncentráció szignifikánsan alacsonyabb volt a PCOS csoportban az egészséges csoporthoz képest. Androszténdion és pregnenolon prekursorok jelenlétében a D-vitamin szignifikánsan növelte az ösztron és progeszteron koncentrációkat, tehát fokozta az aromatáz és  $3\beta$ -HSD aktivitást mindkét sejt kultúrában, az egészséges csoportban kifejezettebben [118].

Humán hereszövetből izolált tesztikuláris sejt kultúra addicionális D-vitamin aktív formájával történő kezelését követően a sejtek génexpressziós vizsgálata alapján a D-vitamin aktív formája upregulálta a humán férfi androgén és szteroid szintézis egyes enzimeinek, a  $3\beta$ -HSD, a koleszterin oldalláncot hasító enzim, az aromatáz, a citokróm P450 3A4 enzim, az  $\text{ER}\alpha$ -t kódoló gén és az  $5\text{-}\alpha$ -reduktáz enzim géneinek expresszióját, amely eredmények alapján úgy tűnik, a D-vitamin jelentős szerepet játszik a férfi szteroidogenezisben [119].

Humán keresztmetszeti vizsgálat 3017 férfi és 2929 nő bevonásával a  $25(\text{OH})\text{D}_3$  szintek és a nemi hormon (össz T, E2, DHEA, SHBG és szabad T) szintek lehetséges összefüggéseit elemezte [120].

Kiemelendő, hogy a vizsgált férfiak közül 1077 főnek szuboptimális (20-30 ng/mL) D-vitamin szintje volt, és 990 fő D-vitamin deficiens (<20 ng/mL) kategóriába tartozott. Nők esetében 903 fő szuboptimális D-vitamin szinttel rendelkezett, 998 fő D-vitamin hiányos volt. A vizsgált populációban a férfiak 68,5 %-a, a nők 64,9%-a – vagyis a populáció közel kétharmada – elégtelen D-vitamin szintekkel bírt, ezen belül a férfiak 32,8%-a és a nők 34,1%-a, – tehát a vizsgált populáció közel egyharmada – D-vitamin hiányos volt!

D-vitaminhiányban szenvedő résztvevők többek között fiatalabbak voltak és nagyobb valószínűséggel volt magasabb DHEA, szabad T szintjük, magasabb BMI értékük és magasabb vérnyomásuk, valamint alacsonyabb SHBG szintjük. A vizsgálatban az alacsonyabb  $25(\text{OH})\text{D}_3$  koncentráció alacsonyabb SHBG és magasabb szabad T szintekkel társult mind férfiakban mind nőkben, valamint nőkben alacsonyabb E2 és magasabb DHEA szintekkel – az elhízástól és az életmódtól függetlenül.

Férfiakban nem volt megfigyelhető szignifikáns kapcsolat a 25(OH)D<sub>3</sub> és össz T szintekben [120].

Továbbá lehetséges, hogy az erős (T, 5-DHT) és a gyenge androgének (A4, DHEA, DHEAS) effektívebben aktiválják a 24-hidroxiáz, mint az ösztrogének és ennek következtében a D-vitamin inaktiváció gyorsabb lehet hím nemből? Esetleg e nemi variáció oka az ösztrogén és androgén szteroid receptorok D-vitamin fiziológiához kapcsolódó szignáltranszdukciós útvonalak lehetséges különbségeiben keresendő?

Ismert, hogy a VDR, PXR és CAR receptorok ugyanahhoz a magi receptor alcsaládkhoz tartoznak [98], valamint az ösztrogén és androgén receptorok szintén szteroid nukleáris receptorok – ez alapján elképzelhető, hogy kereszt-reakciók lehetnek a ligandumok és a receptorok között.

### **2.3.3.2. D-vitamin státusz változásai a női és férfi élet folyamán**

Egy másik érdekes elmélet, miszerint ugyanazon egyénben – nemtől függően eltérő módon – a D-vitamin szükséglet változhat a különböző életszakaszokban, betegségek és különböző metabolikus állapotok eredményeként.

Nőkben a D-vitamin státuszt számos élettani és kóros szülészeti-nőgyógyászati állapotokban évek óta vizsgálják. Az elégtelen D-vitamin ellátottság és a D-vitaminhiány gyakori jelenség várandós nőkben [121]. PCOS-ben a D-vitaminhiány a betegek több, mint kétharmadát érinti [92], a D-vitamin szupplementáció jótékony hatással bír PCOS betegek reprodukív tulajdonságaira és metabolikus eltéréseire [122]. Endometriózisban szenvedő nőkben az alacsonyabb D-vitamin szint összefügg az endometriózissal, emellett a szérumban 25(OH)D<sub>3</sub> státusz fordított összefüggést mutat az endometriózis súlyosságával, valamint a D-vitaminhiány rizikófaktora lehet az endometriózisnak [123]. Menopauza időszakában a nőkben fokozott a D-vitaminhiányos állapot kialakulásának rizikója [124].

Férfiak tekintetében, a D-vitamin, valamint a különböző D-vitamin státuszok – elégtelen D-vitaminszint és D-vitaminhiány – kapcsolatát még csak napjainkban kezdték vizsgálni erektilis diszfunkció [125, 126], ejakulációs zavarok [127, 128], férfi fertilitás [129], prosztaták [130] és csírasejtes tesztikuláris tumorok [131] vonatkozásában, tehát férfiakban a D-vitamin státusz korrelációja a különböző normális életszakaszokkal és fiziológiai állapotokkal – intrauterin élet, mini-pubertás, pubertás,

felőttkor, andropauza, idősödő férfi/„aging male” –, valamint a patológiás kórképekkel és különféle betegségekkel perspektivikus kutatási terület lehet.

A D-vitamin státusz változása mind női, mind férfi fiziológias életszakaszokban és kórállapotokban további részletes alap- és klinikai kutatásokat igényel.

### **2.3.3.3. D-vitamin és az immunrendszer működésének nemi különbségei**

Felmerülhet a fentiekben leírtak mellett továbbá a D-vitamin, valamint a nemi különbségeket mutató immunreaktivitás kapcsolatának léte.

Ismert, hogy a D-vitamin nem-klasszikus, extraszkeletális hatásai közé tartozik az immunreguláció, immunmoduláció mind a veleszületett/természetes, mind a szerzett/adaptív immunitás tekintetében [112, 113].

Az immunrendszer szexuális dimorfizmusa szintén ismert, amely az immunválaszok nemi különbségeihez vezet [132], az autoimmun betegségek nagyobb gyakorisága női nemből összefüggésbe hozható az ösztrogénekkal, amelyek magasabb immunreaktivitást és immunkompetenciát eredményeznek. ER-ok expresszálódnak számos immunsejten, valamint az endogén ösztrogének befolyásolják az immunsejtek érését, aktivációját, citokin-termelését. Ezzel szemben, a férfiak magas androgén-ellátottságát tekintve, az immunsejtek AR expresszióját és az autoimmun betegségek alacsony incidenciáját-prevalenciáját körükben, úgy tűnik, az androgének kifejezett immunszuppressziót eredményezhetnek és védelmet nyújthatnak az autoimmunitás ellen férfiakban [133].

Természetes immunitás elemei közé tartoznak a Toll-like receptorokkal rendelkező sejttypusok: polimorfonukleáris sejtek, monociták, makrofágok, többféle típusú epitheliális sejt. Adaptív immunrendszer részét képezik az antigén felismerésre és prezentálásra specializálódott dendritikus sejtek, valamint a T- és B-limfociták [113]. VDR és 1- $\alpha$ -hidroxiláz enzim expresszálódik majdnem az összes immunsejten, e sejtek nagy többsége expresszálja a 25-hidroxilázt is [112].

A D-vitamin a dendritikus sejtek érésének lassításával és antigén-prezentáló képességük szuppresszálásával, az IL-12, IL-23, IL-6 interleukin-termelés csökkentésén keresztül az eltérő T-sejt alpopulációk (csökkent  $T_H1$ ,  $T_H17$  és  $T_H9$ , megnövekedett  $T_H2$  és  $T_{reg}$  sejtpopuláció) kialakulásával egyrészt visszafogja az adaptív immunitást; másrészt a Toll-like receptorok eltérő sejttypusokon bekövetkező aktivációjával indukálja a VDR és 1- $\alpha$ -hidroxiláz expressziót, amelyek a kemotaktikus cathelicidin és

defenzin képződést, ezáltal a természetes immunitás sejtes elemeinek kemotaxisát idézi elő, elősegítve ezzel a veleszületett immunitás működését [113].

Fenti információk arra engednek következtetni, hogy az immunsejtek nagy része önálló, endogén aktív D-vitamin szintézisre, ezáltal „*D-vitamin homeosztázis autoreguláció*”-ra lehet képes, amelyet az ösztrogén-androgén hormonok befolyásolhatnak, tehát az immunrendszer működésének vonatkozásában feltételezhető a D-vitamin és a szexuálissteroid hormonok hatásmechanizmusainak interakciója.

#### **2.3.4. D-vitamin vaszkuláris hatásai**

Az egyik fontos extraszkeletális D-vitamin-hatás, a szív-érrendszerre gyakorolt lehetséges előnyös hatás, bár a rendelkezésre álló adatok nem teljesen egyértelműek e tekintetben [111, 134].

Az alacsony D-vitamin szint és a D-vitamin deficiencia kapcsolatban állhat kedvezőtlen kardiovaszkuláris rizikófaktorokkal, hipertóniával, miokardiális infarktussal, perifériás artériás betegségekkel és szívelégtelenséggel [135]. A D-vitamin befolyásolja a VSM sejtek kontraktilis aktivitását, makrofágok koleszterin-felvételét, vaszkuláris kalcifikációt, endothelsejtek struktúráját és funkcióját, az ateroszklerózist elősegítő szisztémás tényezőket, gyulladásos folyamatokat, oxidatív stressz kialakulását, valamint a remodelling folyamatokat [136].

A D-vitamin antioxidáns hatásai közé tartozik az intracelluláris oxidatív stressz kialakulásával kapcsolatos mechanizmusok downregulációja, oxidatív-reduktív egyensúly támogatása és antioxidáns, anti-inflammatórikus citokin-expresszió upregulációja [137]. Az elégtelen D-vitamin szint, D-vitamin deficiencia mindezen folyamatokat károsítja. [137, 138].

Diéta-indukált hipertónia és ateroszklerózis állatmodellben LDL-receptor és apolipoprotein-E knock-out egerek D-vitamin deficiens vagy szufficiens és magas zsírtartalmú táplálását követően a diéta-indukált D-vitamin deficiens egerekben magas szisztolés, diasztolés vérnyomás értékek és magasabb plazma renin aktivitás volt mérhető, valamint a magas zsírtartalmú és D-vitamin deficiens diétán lévő egerek aorta ívében, thoracalis és abdominális aortájában 2-8-szor több ateroszklerotikus lézió volt azonosítható a D-vitamin-pótolta egerekéhez képest. Emellett a D-vitaminhiányos egerek aortagyökében fokozott makrofág infiltráció, zsír akkumuláció és endoplazmatikus retikulum stressz mutatkozott, ami protein-degradáción keresztül hozzájárul az



ateroszklerózis kifejlődéséhez [139]. Nőstény patkányok és utódaik D-vitamin deficiens diétával történő táplálása mind nőstény mind hím D-vitamin deficiens utódokban magasabb artériás középnyomás értékeket eredményezett, a mezenteriális artériák vizsgálata megnövekedett miogén tónust igazolt hímekben és nőstényekben, valamint a NO-indukált vazodilatáció hímekben és diösztrusz szakaszban lévő nőstényekben csökkent a kontroll csoportokhoz képest [140].

Egy friss klinikai kísérletben, a koronavírus világjárvány miatt kis esetszámban afroamerikai és európai-amerikai fiatal, 18-30 éves, egészséges férfiak és nők bőrének mikrovaszkuláris funkcióinak változását (lokális melegítés hatására bekövetkező vazodilatáció) vizsgálták eltérő farmakonokat tartalmazó bőrbe ültetett mikrodialízis rostok segítségével. Lézer Doppler flowmetriával mérték a kután vaszkuláris konduktanciát 4 hetes 2000 NE/nap D-vitamin-pótlás előtt (18 fő) és után (13 fő). A szupplementáció előtt az afroamerikai csoportban szignifikánsan alacsonyabb 25(OH)D<sub>3</sub> szinteket mértek az európai-amerikai csoporthoz képest: AA: 17,93 ± 5,24 vs. EA: 32,07 ± 9,14 ng/mL, afroamerikai csoportban szuboptimális, európai-amerikai csoportban optimális D-vitamin szint mutatkozott. A 4 hetes D-vitamin szupplementáció szignifikánsan megemelte a 25(OH)D<sub>3</sub> koncentrációt az afroamerikai csoportban, habár az átlagérték még mindig nem érte el az optimális tartományt (26,07 ± 3,73 ng/mL). Az afroamerikai csoportban a lokális melegedési válasz, kután vaszkuláris konduktancia és NO-indukált vazodilatáció szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll Ringer-laktát-oldat mikrodialízise során európai-amerikai csoporthoz képest, amelyen a tempol, egy szuperoxid-dizmutáz mimetikum (szuperoxid gyökképződést gátló szer) szignifikánsan javított az afroamerikai csoportban. A 4 hetes D-vitamin szupplementáció az afroamerikai csoport kután vaszkuláris konduktanciáját és NO-indukált vazodilatációját egyaránt szignifikánsan javította kontroll Ringer-laktát-oldat mikrodialízise során. Az elégtelen D-vitamin szintekkel rendelkező afroamerikai csoport tagjaiban a mikrovaszkuláris funkciók javultak D-vitamin-pótlás hatására, míg a megfelelő D-vitamin szintekkel rendelkező európai-amerikai csoportban a D-vitamin szupplementáció nem változtatott a mikrovaszkuláris funkción [141]. Az afroamerikai populációnak sötétebb bőrszíne miatt több napfény/exogén D-vitamin bevitelre lehet szüksége az optimális tartomány elérésére. A kutatás során az esetleges nemi

különbségeket nem vizsgálták, valamint az eredmények alapján nagyobb számú és további eltérő etnikumú populáció vizsgálata is indokolt lehet.

Az Egyesült Államokban végzett országos szintű, randomizált, placebo-kontrollált vizsgálat során, amelyben 2000 NE D-vitamin és 1 g/nap Omega-3 zsírsavbevitel daganat- és kardiovaszkuláris betegség prevencióban betöltött lehetséges szerepét  $\geq 50$  éves férfiakban és  $\geq 55$  éves nőkben vizsgálva (VITAL = „*Vitamin D and Omega-3 Trial*” vizsgálat) nem igazolódott a D-vitamin szupplementáció kardiovaszkuláris esemény incidenciát csökkentő CVD megelőző hatása [142, 143] Azonban fontos felhívni a figyelmet arra, hogy ez a vizsgálat nem vette figyelembe a résztvevők 25(OH)D<sub>3</sub> mérés alapján azonosított eltérő D-vitamin státuszát: 12,7%-nak volt kevesebb, mint 20 ng/mL, 32,2 %-nak volt 20-30 ng/mL között a 25(OH)D<sub>3</sub> szintje, tehát a résztvevők kevesebb, mint fele (44,9%) volt szuboptimális D-vitamin státuszú és D-vitaminhiányos, a populáció nagyobb része optimális D-vitamin szintekkel rendelkezett, a vizsgált populáció átlagos szérum totál 25(OH)D<sub>3</sub> szintje  $30,8 \pm 10,0$  ng/mL volt.

Egy másik kettős vak, placebo-kontrollált, randomizált klinikai vizsgálat a 2000 NE/nap D-vitamin, az Omega-3 zsírsav és az erősítő edzésprogram önálló és kombinált hatásait vizsgálta 2157 fős idős,  $\geq 70$  éves populációban („*DO-HEALTH*” Randomizált kontrollált vizsgálat). Egyik önálló és kombinált kezelés sem eredményezett statisztikailag szignifikáns javulást a szisztolés és diasztolés vérnyomásértékekben [144]. Ugyanakkor ennél a vizsgálatnál is fontos megemlíteni, hogy a résztvevők 40,7 %-a volt D-vitaminhiányos.

Egy 22 éves utánkövetéses humán vizsgálat eredményei alapján – amely kezdetben daganatos és kardiovaszkuláris betegségekben nem szenvedő 74 272 nők és 44 592 férfiak D-vitamin bevitelét és CVD incidenciájának összefüggését elemezte – a magasabb D-vitamin bevitel férfiakban összefüggést mutatott alacsonyabb kardiovaszkuláris rizikóval, azonban ez nőkben nem volt kimutatható [145]. A D-vitamin bevitel élelmiszerekből és étrend-kiegészítőkből származott, a teljes D-vitamin bevitel magában foglalta a diéta és szupplementáció általi bevitelt, viszont a nyomonkövetési időszak alatt az élelmiszer és étrendkiegészítők általi bevitel kumulatív átlagát származtatták. Ez alapján a vizsgálatban alacsony D-vitamin bevitel kategóriák (<100, 100-200, 200-400, 400-600 és >600 NE/nap) kerültek meghatározásra.

Az élelmiszerek és étrend-kiegészítők nagymértékben, akár ezres nagyságrendben eltérő D-vitamin mennyiségeket tartalmazhatnak. Például: míg egy tojássárgája 20-50 NE-et [102], addig egy napjainkban kapható étrend-kiegészítő akár 2-4000 NE-et is tartalmazhat.

A D-vitamin szupplementáció, a D-vitamin státusz, valamint a kardiovaszkuláris státusz és kimenetel közti pontos kapcsolat még mindig nem tisztázott, azonban úgy tűnik a D-vitamin deficiencia független kardiovaszkuláris kockázati tényezőnek tekinthető és összefügghet a kardiovaszkuláris betegségek, események magasabb kockázatával [146, 147]. Ennek bizonyítására szükséges lenne az elégtelen D-vitamin ellátottságú, D-vitamin deficiens célcsoportokban a korcsoport (különösen reprodukzív korú csoportban), a nem és a meglévő egyéb komorbiditások figyelembevételével az adekvát D-vitamin szupplementáció hatásának vizsgálata különféle kardiovaszkuláris tényezőkre, rizikófaktorokra.

## **2.4. D-vitamin és szexuáliszteroidok interakciói ereken, kisereken**

A kardiovaszkuláris rizikó nemi különbsége jól ismert, a nők védettebbek a kardiovaszkuláris események ellen. A férfiakban relatíve magasabb a kardiovaszkuláris rizikó [148]. E nemi különbséget az androgének és az ösztrogének kardiovaszkuláris hatásainak tulajdonítják, azonban a D-vitamin, a szexuáliszteroidok és a kardiovaszkuláris rizikó kapcsolatára vonatkozóan, valamint a D-vitamin homeosztázis lehetséges nemi különbségeiről jelenleg kevés adat áll rendelkezésre.

### **2.4.1. D-vitamin és androgén hatások vaszkuláris interakciói hím állatokban, férfiakban**

Jelenleg kevés ismeretünk van a D-vitamin, androgének és kardiovaszkuláris rizikó összefüggéseinek témakörében.

A D-vitaminhiány hím patkányok cerebrális erein markáns biomechanikai, funkcionális és morfológiai változásokat, érremodellinget és endothél diszfunkciót okozott [34, 149].

Egy átfogó hím állatkísérletben a rendszeres fizikai aktivitás, a kalcium, D-vitamin és bór komplex, valamint a különböző zsírsavak (canola, napraforgó és kókuszolaj) önálló és kombinált hatásait vizsgálták kardiovaszkuláris rizikófaktorokra (totál koleszterin és HDL-koleszterin arány, aterogén index és LDL/HDL arány).

A D-vitamin étrend-kiegészítés nem szignifikáns növekedési tendenciát okozott a 25(OH)D<sub>3</sub> szintekben majdnem minden kezelt csoportban. A kontroll csoporthoz viszonyítva a komplex D-vitamin étrend-kiegészítésben és testmozgásban (teljes test vibrációs tréning) részesülő állatokban szignifikánsan alacsonyabb HDL-koleszterin és magasabb kreatin-kináz szint volt megfigyelhető [150], de a kombinált kezelés miatt nem meghatározható, hogy az azonosított eltérés pontosan melyik kezelésnek tulajdonítható.

A D-vitamin szint és az androgének szintje közt több vizsgálat feltételezett már összefüggést, azonban ellentmondásos eredmények születtek.

Egy kínai humán klinikai vizsgálat a 25(OH)D<sub>3</sub>, a szexhormon szintek és a kardiovaszkuláris rizikó kapcsolatát vizsgálta középkorú férfiakban lineáris regresszió analízissel. A vizsgált populáció 77,6 %-a optimális D-vitamin szintekkel rendelkezett és a magasabb 25(OH)D<sub>3</sub> szintek összefüggést mutattak a magasabb szabad T, DHT és A4 szintekkel [151].

Az EVITA (= „*Effect of vitamin D on mortality in heart failure*”) vizsgálat másodlagos analízise során középkorú, <30 ng/mL 25(OH)D<sub>3</sub> szinttel bíró, előrehaladott szívelégtelenségben szenvedő férfiakban a 3 évig tartó 4000 NE/nap D-vitamin-pótlás hatásait vizsgálták az össz-, szabad- és bioaktív T, valamint SHBG szintekre. A D-vitamin szupplementáció szignifikáns 25(OH)D<sub>3</sub> szint-emelkedést okozott, azonban a kontroll és D-vitamin-kezelt csoportok közt nem mutatkozott különbség, tehát a korrall járó T-szint csökkenést a D-vitamin-pótlás nem befolyásolta [152].

A magyar „HunMen” tanulmányban a középkorú, magyar férfiak D-vitaminhiány prevalenciáját és szezonális változását vizsgálva a populációban a D-hipovitaminózis 52,9% volt, a szezonális variabilitást tekintve a nyári időszakban mérték a legmagasabb 25(OH)D<sub>3</sub> koncentrációkat és ebben az időszakban volt a legalacsonyabb a D-vitaminhiány prevalenciája (39,6% a többi évszakban mért >60%-hoz képest) [153]. A D-vitamin és az androgének interakciói a férfi nembn, és e két faktor kardiovaszkuláris rendszerre gyakorolt hatása további részletes vizsgálatokat igényel.

### **2.4.2. D-vitamin és androgén hatások vaszkuláris interakciói nőstény állatokban, nőkben**

A női nemben a D-vitamin és androgén hatások kölcsönhatásának vizsgálata egy már kutatott témakör. A női hiperandrogenizmus, a D-vitamin és a kardiovaszkuláris rizikó kapcsolata tanulmányozható egyrészt PCOS-állatmodellekben, másrészt transznemű férfiakban.

Számos PCOS állatmodell került kialakításra, amelyekben exogén androgének (T-propionát, DHT, DHEA), egyéb vegyületek (aromatáz-gátlók, antiprogesteron, ösztradiol-valerát, anti-müller hormon, humán choriogonadotropin) változatos módon történő (injekció, szubkután implantátum, transzdermális gél) szervezetbe juttatásával vagy génmódosított és metabolikus eltérésekkel rendelkező állatok (AR, ER $\alpha$  knock-out, leptin receptor diszfunkció) alkalmazásával, valamint diéta és környezeti tényező (magas zsír és cukor bevitel, folyamatos fényexpozíció) segítségével modellezik a PCOS/hiperandrogén állapotot [154, 155].

DHT-indukált PCOS patkánymodellben a 10 héten át fennálló hiperandrogén állapot és a D-vitamin-pótlás változatos eltéréseket okozott mind a nagyobb artériákban, mind a kis rezisztencia ereken.

Nőstény aorta szegmensekben hiperandrogén állapot hatására fokozott vazokonstriktiót és károsodott acetil-kolin és E2-indukált vazorelaxációt azonosítottak. Az aortaszegmensek endothél rétegében csökkent az eNOS-expresszió, az endothéliumban és a VSM sejtekben csökkent poli(ADP)ribóz (PAR) festődés, míg a 3-nitro-tirozin (NT) mennyiségének növekedése volt megfigyelhető, ami károsodott relaxációs jelátvitelre és PAR-polimeráz aktivitásra, valamint fokozott nitratív stressz jelenlétére utal. A D-vitamin szupplementáció míg a fokozott konstriktiót csökkentette és részben helyreállította a csökkent acetil-kolin relaxációt, addig az E2-relaxációt, a PAR- és NT-expressziót nem befolyásolta [156-158].

Nőstény gracilis rezisztencia arteriolák androgén-túlsúly hatására kevésbé rugalmasabbá, rigidebbé váltak, bennük eutrófiás remodelling volt megfigyelhető, emellett csökkent a vazokonstriktós és vazorelaxációs képességük. Azonban a hiperandrogén állapotban alkalmazott D-vitaminkezelés a prehipertenzív biomechanikai és farmakológiai károsodásokat részben megelőzte vagy a már kialakult károsodást mérsékelte [159-161].

Transzdermális T kezeléssel kialakított PCOS modellben a D-vitaminhiány és D-vitamin-pótlás hatását vizsgálták nőstény koronária arteriolák biomechanikai és farmakológiai jellemzőire. Mind a hiperandrogén állapot, mind a D-vitaminhiány és a két noxa együttes jelenléte morfológiai és elasztikus remodelinget, csökkent miogén tónust eredményezett és károsította a koronária rezisztencia arteriola szegmensek inzulin- és adenozin-indukálta vazorelaxációs képességét, emellett D-vitamin hiányállapotban, függetlenül az androgén-túlsúlytól az erek tunica media rétegében megnőtt az inzulin-receptor és a VDR expresszió [162, 163].

Egy humán vizsgálat 18-35 év közötti, D-vitamin deficiens és inszufficiens (<20 és 20-30 ng/mL 25(OH)D<sub>3</sub> szintek) PCOS betegek endotheliális funkcióját elemezve nem talált eltérést a két csoportban mért carotis intima-media vastagságban és az áramlás-mediált vazodilatációban [164]. A vizsgálatba nem vontak be D-vitamin szufficiens vagy D-vitamin-pótlásban részesülő PCOS betegeket (30-50 ng/mL 25(OH)D<sub>3</sub>).

Egy randomizált, kettős-vak, placebo-kontrollált felmérés három hónapos, napi 3200 NE D-vitamin-pótlás kardiovaszkuláris rizikófaktorokra (C-reaktív protein, súly, BMI, lipid profil, glükóz és inzulin szintek) és a hormonprofilra (szabad androgén index, T, SHBG) gyakorolt hatásait is vizsgálta összesen 37 PCOS betegben. A D-vitamin-pótlásban részesült csoport kezdeti, átlagos 25(OH)D<sub>3</sub> szintje  $25,6 \pm 11,4$  nmol/l (<10 ng/mL) volt, amelyet a pótlás szignifikánsan megnövelt  $90,4 \pm 19,5$  nmol/l-re, elérve ezzel az optimális tartományt (30-50 ng/mL), ugyanakkor a vizsgált kardiovaszkuláris rizikófaktorokban és a hormonprofilban nem mutatkozott különbség a D-vitamin-pótlolt és placebo csoportok között [165]. Kiemelendő, hogy a célcsoportban adekvát D-vitamin mennyiséggel történt a pótlás, azonban alacsony volt az esetszám, ami magyarázhatja a negatív eredményeket.

Transznemű férfi populációban egyelőre még nem vizsgálták az androgén hormon-kezelés és a D-vitamin ellátottság hatásait kardiovaszkuláris betegségek vonatkozásában.

### 3. Célkitűzések

Az irodalmi áttekintés alapján célul tűztük ki az emberi szervezet optimális működéséért felelős két, legfontosabb szervet – a szívet és az agyat – közvetlenül vérrel ellátó és különböző érrégióból származó kiserek alkalmazkodásának, változásainak, esetleges károsodásainak direkt vizsgálatát eltérő D-vitamin ellátottság esetén és a D-vitamin hiányállapot és androgén hatás interakcióinak vizsgálatát a hím és női nemben, állatkísérletes modellben.

Munkacsoportunkkal az alábbi kérdésekre kerestünk válaszokat:

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

## 4. Módszerek

### 4.1. Állatok

Állatkísérletünket a Semmelweis Egyetem Állatkísérleti Tudományos Kutatás-Értékelési Bizottságának engedélyével (IRB:8/2014 (PEI/001/1548-3/2014), (PEI/001/820-2/2015)) valamint „Az állatok védelméről és kíméletéről” szóló 1998. évi XXVIII. törvény rendelkezései és a „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals” (United States National Institute of Health, 8. kiadás, 2011) irányelvek szerint végeztük. Krónikus, 8 hetes kezeléssel alapuló állatkísérleteinket ivarérett, 4 hetes, 100-140 g kiindulási súlyú 22 hím és 90-110 g kiindulási súlyú 46 nőstény Wistar-patkányon (Charles River, Semmelweis Egyetem, Budapest, Magyarország) végeztük.

A hím állatokat véletlenszerűen két csoportra osztottuk. Kontroll csoportban (n=11) optimális D-vitamin szint elérését biztosítottuk D-vitamin tartalmú táppal és D-vitamin-pótlással (♂ VD+ csoport). Másik csoportban (n=11) D-vitamin deficiens (VDD) állapotot idéztünk elő D-vitamin-mentes táppal (♂ VD- csoport).

A nőstény állatokat véletlenszerűen négy csoportra osztottuk: Kontroll nőstény (n=23) és VDD nőstény (n=23) csoportokban ugyanazon kezelést alkalmaztuk, mint hímek esetében (♀ VD+/T- és ♀ VD-/T- csoportok), emellett létrehoztunk kiegészítő alcsoportokat amelyekben transzdermális tesztoszteron-kezeléssel modelleztük a hiperandrogén állapotot (♀ VD+/T+ és ♀ VD-/T+ csoportok) [1. táblázat].

**1. táblázat:** A kísérletek során létrehozott állatcsoportok összefoglaló táblázata. Rövidítések: VD+: D-vitamin-pótlott, VD-: D-vitaminhiányos, T+: Tesztoszteron-kezelt, T-: Tesztoszteron-kezelésben nem részesült.

	Csoportok					
Nem:	Hím / ♂ (n=22)		Nőstény / ♀ (n=46)			
D-vitamin?	pótlás (n=11)	hiány (n=11)	pótlás (n=24)		hiány (n=22)	
Tesztoszteron?	-	-	-	✓	-	✓
Csoportkód: (mintaszám)	♂ VD+ (n=11)	♂ VD- (n=11)	♀ VD+/T- (n=12)	♀ VD+/T+ (n=12)	♀ VD-/T- (n=11)	♀ VD-/T+ (n=11)



Az állatok a nekik rendelt speciális patkánytáphoz és ivóvízhez szabadon hozzájuthattak, 12 órás nappali és 12 órás éjszakai ciklusok váltakozásával élettani körülmények között éltek (Semmelweis Egyetem Elméleti Orvostudományi Központ Állatház, Budapest, Magyarország). A kísérlet során mindent megtettünk az állatok szenvedésének minimalizálása érdekében és a kísérlet végeztével biztosítottuk a humánus végpontot.

## 4.2. Kezelési protokoll

Optimális D-vitamin szint biztosítására normál D<sub>3</sub>-vitamin tartalmú tápot (SM Rat/mouse normal diet S8106-S011, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Németország), valamint D-vitamin szupplementációt alkalmaztunk. Az addicionális pótlás napi testsúlymérés alapján történt per os (Vigantol, 20 000 NE/mL, Merck/Serono, Mumbai, India). 2. héten 500 NE telítő dózist alkalmaztunk, majd a 4. héttől kezdve hetente egyszer ~3000 NE/táp tömeg kg-ra szubsztituáltuk a bevittet.

D-vitamin hiányállapot elérésére kevesebb, mint 5 NE/táp tömeg kg D<sub>3</sub>-vitamint tartalmazó D-vitamin-mentes tápot (EF Rat/mouse VitD-free diet E15312-24, Ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Németország) használtunk.

Hiperandrogén állapotot a nőstény csoportokban, steril körülmények között leborotvált hátbőrön, heti ötször alkalmazott transzdermális T-géllel értünk el (AndroGel 1%, 33,3 mg/g/nap, Lab. Besins International S.A. Párizs, Franciaország).

8. héten farokvénából 25(OH)D<sub>3</sub>-vitamin és össz-T szinteket mértünk kezeléseink validálása érdekében.

## 4.3. In vitro nyomás mikroarteriográfia és számítások

A kísérlet végeztével az állatok végső testsúlyát megmértük: a hímek testsúlygyarapodása nagyobb volt nőstényekhez képest, a nőstény csoportokban a tesztoszteron-kezelés nagyobb testsúlygyarapodást eredményezett, azonban a D-vitaminhiány sem hímekben sem nőstényekben nem befolyásolta a súlygyarapodást [149]. Nátrium-pentobarbitál (Nembutal, 45 mg/kg, intraperitonális injekció, Ceva-Phylaxia, Budapest, Magyarország) anesztézia során a jobb artéria carotis kanulálásával invazív vérnyomásmérést végeztünk majd az artériákat heparinizált Krebs-Ringer oldattal perfundáltattuk. A hím állatok mellkasát megnyitottuk és a szív bal kamrai szövetéből a bal anterior leszálló (LAD) koronária artéria terminális ágai közül

*in vivo* ~ 150-200  $\mu\text{m}$  külső átmérőjű intramurális kis koronária arteriola végágakat preparáltunk. Nőtények esetében a koponyatetőt, majd az agyat eltávolítottuk és jégre helyeztük. Az artéria cerebri anterior *in vivo* ~ 90-130  $\mu\text{m}$  külső átmérőjű A2 szegmensét kipreparáltuk. A ~2 mm hosszú szegmens-preparálást sztereomikroszkóp (Wild M3Z, Heerbrugg, Svájc) és mikrosebészeti eszközök segítségével végeztük [15]. A kipreparált arteriola szegmenseket normál Krebs-Ringer (nKR) oldatot tartalmazó szervfürdőbe (Experimetria Ltd., Budapest, Magyarország) helyeztük. A szegmenseket mindkét végükön mikrokanuláltuk, majd *in vivo* hosszukra feszítettük ki. A nKR-oldat összetétele mM/L-ben megadva: NaCl 119; KCl 4,7;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1,2;  $\text{MgSO}_4$  1,17;  $\text{NaHCO}_3$  24;  $\text{CaCl}_2$  2,5; glükóz 5,5 és EDTA 0,034. A szervfürdők mikroszkóp alatt helyezkedtek el (Leica, Wetzlar, Németország). A mikrokanulók szervo-pumpákhoz (Living Systems, Burlington, VT, USA) csatlakoztak, amelyek a szegmensekben 50 Hgmm intraluminaris nyomást hoztak létre. Ezen a nyomáson, 5%  $\text{CO}_2$ , 20%  $\text{O}_2$  és 75%  $\text{N}_2$  összetételű gázeleggyel buborékoltatott, 37 °C-os hőmérsékletű nKR-oldatban, 30 perc inkubáció során a szegmensek elérték egyensúlyi állapotukat. Inkubációt követően a nyomást 150 Hgmm-re növeltük, majd 0 Hgmm-re csökkentettük és ezt a ciklust megismételtük. Nyomás-átmérő jelleggörbe felvételéhez a 0 Hgmm-ről 150 Hgmm-re növeltük a nyomást 10 Hgmm-es nyomáslépcsőket alkalmazva nKR-oldatban. A miogén tónus aktiválódásának elkerülése érdekében a nyomásváltoztatási ciklusokat 5 perc alatt hajtottuk végre. Végül, a nKR-oldatot kalcium-mentes Krebs oldatra cseréltük a teljesen relaxált állapot elérésére. A kalcium-mentes Krebs oldat összetétele mM/L-ben megadva: NaCl 92; KCl 4,7;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1,18;  $\text{MgCl}_2$  20;  $\text{MgSO}_4$  1,17;  $\text{NaHCO}_3$  24; glükóz 5,5; EGTA 2,0 és EDTA 0,025. 20 perces inkubációt követően passzív körülmények között a nyomás-átmérő jelleggörbe felvételét megismételtük. Minden vegyszer a Sigma-Aldrich Kft.-től került beszerzésre (St. Louis, MO, USA - Budapest, Magyarország). Spontán tónust a nKR és kalcium-mentes Krebs oldatokban mért adatok alapján számítottunk. A mérések során a transzilluminált szegmensekről mikroszkóphoz kapcsolt digitális kamerával (Leica DFC 320, Wetzlar, Németország) képrögzítés történt. A külső és belső átmérőket ( $D_o$  és  $D_i$ ) Image J (Image J 1.50b, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) és Leica QWin (Leica Microsystems, Wetzlar, Németország) programok segítségével mértük. A kalibráció során mikrométer etalont alkalmaztunk (Wild, Heerbrugg, Svájc).

A mért külső és belső átmérőkből, valamint egyéb paraméterekből az erek morfológiai, geometriai és biomechanikai tulajdonságait számítottuk ki:

- Külső sugár/ $R_o$  ( $\mu\text{m}$ ):

$$R_o = \frac{D_o}{2}$$

- Belső sugár/ $R_i$  ( $\mu\text{m}$ ):

$$R_i = \frac{D_i}{2}$$

- Falvastagság/ $h$  ( $\mu\text{m}$ ):

$$h = R_o - R_i$$

- Falvastagság/Lumen átmérő hányados:

$$h - D = \frac{h}{D_i},$$

ahol  $D_i$  a lumen vagy belső átmérő.

- Fal keresztmetszeti terület/ $A_w$  ( $\mu\text{m}^2$ ):

$$A_w = (R_o^2 - R_i^2) * \pi$$

- Tangenciális falfeszülés/ $\sigma_{\text{Tang}}$  (kPa):

$$\sigma_{\text{Tang}} = \frac{p * R_i}{h},$$

ahol  $p$  az intraluminális nyomás.

- Inkrementális elasztikus modulus/ $E_{\text{Inc}}$  (LogkPa):

$$E_{\text{Inc}} = \frac{2R_i^2 * R_o}{(R_o^2 - R_i^2)} * \frac{\Delta P}{\Delta R_o},$$

ahol  $\Delta P$  az intraluminális nyomásváltozás és  $\Delta R_o$  a  $\Delta P$  nyomásváltozásra bekövetkező külső sugárváltozás.

- Disztenzibilitás/ $D$  (1/kPa):

$$D = \frac{\Delta V}{V * \Delta P},$$

ahol  $\Delta V$  a kezdeti  $V$  volumenhez képest  $\Delta P$  nyomásváltozásra bekövetkező lumen volumenváltozás.

- Miogén tónus (%):

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

#### 4.4. Szövettan és Immunhisztokémia

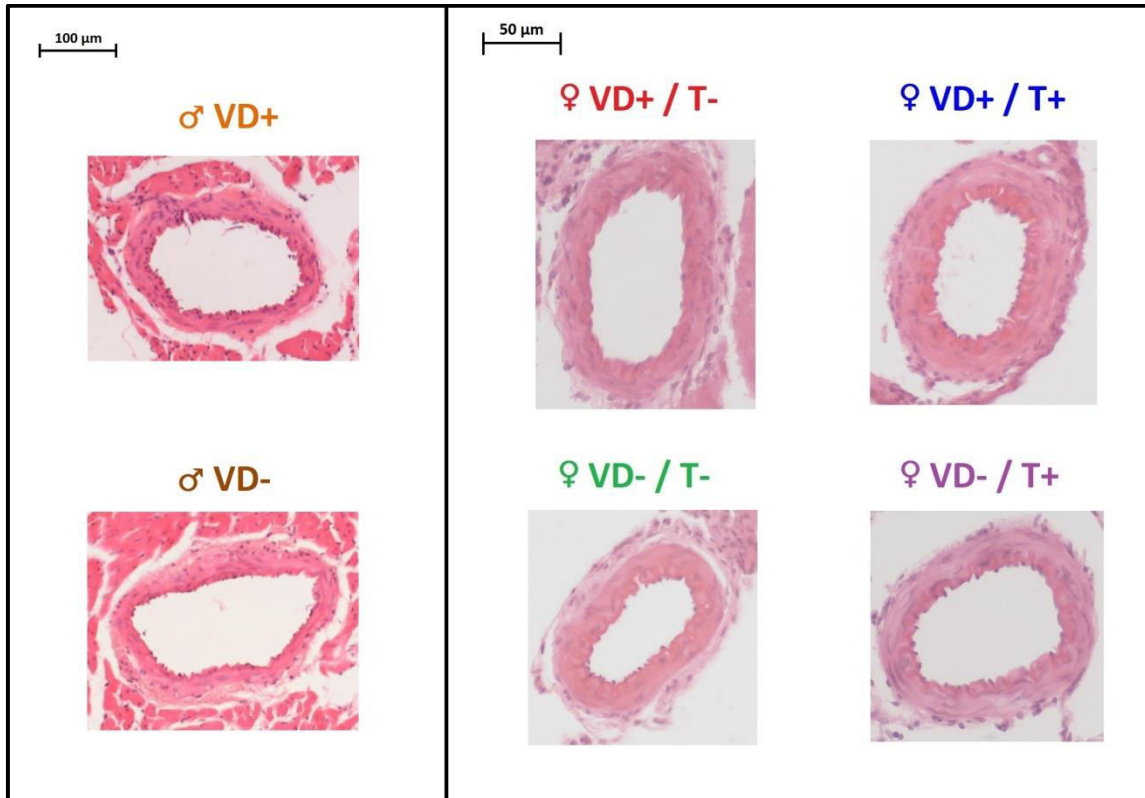
Az arteriola szegmenst tartalmazó kamraszövetek és a kontralaterális artéria cerebri anterior szegmensek 4%-os formalinban való fixálását követően a paraffinba ágyazott szövetekből 5 µm vastagságú natív metszetek illetve Resorcin-fuchsin (RF)-festett és Hematoxylin-Eosin (HE)-festett metszetek készültek [*1. ábra*].

Koszorúerek oxidatív-nitratív markereinek immunhisztokémiai vizsgálatához 4-hidroxi-2-nonenál (HNE), PAR- és NT-festést, valamint a simaizom réteg vizsgálatára  $\alpha$ -simaizom aktin ( $\alpha$ -SMA) festést végeztünk. Poliklonális nyúl anti-HNE (1:500, Abcam, ab46545, Cambridge, MA, USA), anti-NT (1:500, Abcam, ab42789, Cambridge, MA, USA) és monoklonális egér anti-PAR (1:500, Tulip Biolabs., Cat. #1020, Lansdale, PA, USA) és anti- $\alpha$ -SMA (1:10 000, Abcam, ab7817, Cambridge, MA, USA) primer antitestet használtunk. A másodlagos jelölést torma-peroxidáz (HRP)-jelölt ló anti-nyúl és anti-egér IgG kittel (Vector Laboratories, MP-7401, MP-7402, Burlingame, CA, USA, 30-40 perc) végeztük. Barna színű 3-3'-diamino-benzidin HRP szubsztrát kittel (Vector Laboratories, SK-4100, Burlingame, CA, USA) vizualizáltuk a specifikus antigén-jelölést és háttérfestésként kék színű Hematoxylin (Hematoxylin QS, Vector Laboratories, H-3404-100, Burlingame, CA, USA) magfestéket használtunk.

A festett metszeteket mikroszkóp-kapcsolt video-kamera segítségével digitalizáltuk (Zeiss Axio Imager.A1, Zeiss AxioCam MRc5 CCD, Carl Zeiss, Jéna, Németország vagy Nikon Eclipse Ni-U, 933584, Nikon DS-Ri2 kamera és NIS Elements BR image software, Nikon Corporation, Tokió, Japán).

A digitalizált képeken elasztikus rostdenzitás vizsgálatához RF-festett metszeteken elasztikus szövet denzitást vizsgáltunk. Az agyi erek esetében az endotheliális felszíntől az adventitia réteg felé radiális irányba húzott zöld színű merőleges egyenessel mértük az elasztikus rostdenzitást (a zöld szín intenzitás az RF-festés viola színének ellentettje) Leica QWin szoftver (Leica Microsystems, Wetzlar, Németország) segítségével. Koszorúereknél az RF-festett metszeteken tunica media réteg optikai denzitást vizsgáltunk, valamint HE-festett metszeteken tunica media rétegben magszámolást végeztünk Image J képanalizáló szoftverrel.

Immunhisztokémiailag festett metszeteken pozitívan festődő terület százalékot, magyszámolást és nem-kalibrált optikai denzitás méréseket végeztük az érfal különböző rétegeiben (tunica media vagy teljes ér) Image J programban.



**1. ábra.** Reprezentatív képek Hematoxylin-Eosin festett hím koronária arteriola szegmensekről (bal blokk) és nőstény artéria cerebri anterior arteriola A2 szegmensekről (jobb blokk) csoportonként. Fekete skálák: 100 és 50  $\mu\text{m}$ . Rövidítések:

♂ VD+: hím D-vitamin-pótolt kontroll;

♂ VD-: hím D-vitaminhiányos;

♀ VD+/T-: nőstény D-vitamin-pótolt tesztoszteron-kezelésben nem részesült dupla kontroll;

♀ VD+/T+: nőstény D-vitamin-pótolt tesztoszteron-kezelt;

♀ VD-/T-: nőstény D-vitaminhiányos tesztoszteron-kezelésben nem részesült;

♀ VD-/T+: nőstény D-vitaminhiányos tesztoszteron-kezelt.

## 4.5. Statisztikai analízis

A statisztikai analízist GraphPad Prism 6.0 és 7.0 programban (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) végeztük. Kolmogorov-Smirnov, D'Agostino és Pearson omnibusz és Shapiro-Wilk normalitás tesztek elvégzését követően, normál eloszlású adatok esetén parametrikus kétmintás t-próbát, valamint egy- és két-utas varianciaanalízist (ANOVA) és Bonferroni vagy Tukey post hoc tesztek alkalmaztunk, míg a nem normál eloszlású adatokat nem parametrikus Mann-Whitney-U-teszttel, valamint Kruskal-Wallis és Dun post hoc tesztekkel analizáltuk. Repeated measures ANOVA és Bonferroni post hoc tesztet használtunk növekvő intraluminális nyomások esetében. Statisztikailag szignifikáns eltérésnek  $p < 0,05$  értéket fogadtunk el. Az adatokat Átlag  $\pm$  SEM vagy Medián [IQR] formában adtuk meg.

Szignifikancia szimbólumok:

- Hímek közti különbségek:

♂ VD+ vs. ♂ VD-: a:  $p < 0,05$ ; aa:  $p < 0,01$ ; aaa:  $p < 0,001$ ;  
aaaa:  $p < 0,0001$ .

- Nőstények közti különbségek:

♀ VD+/T- vs. ♀ VD+/T+: b:  $p < 0,05$ ; bb:  $p < 0,01$ ; bbb:  $p < 0,001$ .  
 ♀ VD+/T- vs. ♀ VD-/T-: c:  $p < 0,05$ ; cc:  $p < 0,01$ ; ccc:  $p < 0,001$ .  
 ♀ VD+/T- vs. ♀ VD-/T+: d:  $p < 0,05$ ; dd:  $p < 0,01$ ; ddd:  $p < 0,001$ .  
 ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T-: e:  $p < 0,05$ ; ee:  $p < 0,01$ ; eee:  $p < 0,001$ .  
 ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T+: f:  $p < 0,05$ ; ff:  $p < 0,01$ ; fff:  $p < 0,001$ .  
 ♀ VD-/T- vs. ♀ VD-/T+: g:  $p < 0,05$ ; gg:  $p < 0,01$ ; ggg:  $p < 0,001$ .

- Nőstények és hímek közti különbségek:

♀ VD+/T- vs. ♂ VD+: h:  $p < 0,05$ ; hh:  $p < 0,01$ ; hhh:  $p < 0,001$ .  
 ♀ VD-/T- vs. ♂ VD-: i:  $p < 0,05$ ; ii:  $p < 0,01$ ; iii:  $p < 0,001$ .

## 5. Eredmények

### 5.1. Kezelés validálás, Vérvizsgálás

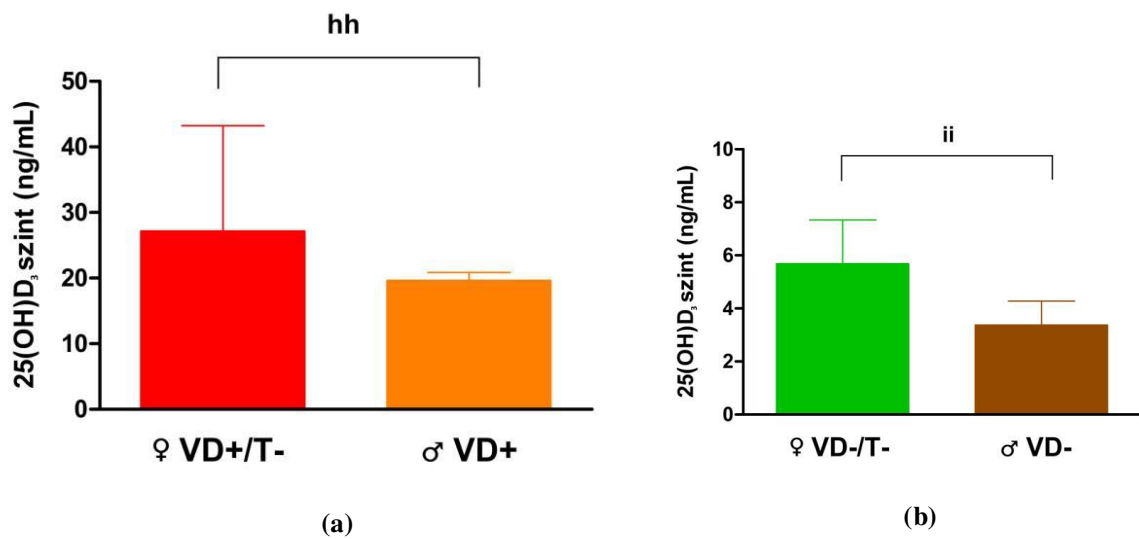
A 8. heti szérumban 25-hidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin szintekben szignifikáns különbség mutatkozott a D-vitamin-mentes táppal kezelt állatok 25(OH)D<sub>3</sub> szintjében a kontroll csoportok értékeihez képest. Kezeléseink sikeresen modellezték a D-vitamin deficiencia állapotát mindkét nemben (♂ VD+ vs. ♂ VD-: p<0,0001; ♀ VD+/T- vs. ♀ VD-/T-: p<0,01; ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T+: p<0,01).

Transzdermális tesztoszteron-kezeléssel nőstényekben szignifikánsan magasabb tesztoszteron szinteket mértünk (♀ VD+/T- vs. ♀ VD+/T+: p<0,01; ♀ VD-/T- vs. ♀ VD-/T+: p<0,01), azaz biokémiai hiperandrogenizmust értünk el [2. táblázat] [34, 163].

**2. táblázat:** 8. heti szérumban 25(OH)D<sub>3</sub> koncentrációk és tesztoszteron szintek csoportonként, Átlag ± SEM. Rövidítések: ♂ VD+: hím D-vitamin-pótolt kontroll; ♂ VD-: hím D-vitaminhiányos; ♀ VD+/T-: nőstény D-vitamin-pótolt tesztoszteron-kezelésben nem részesült dupla kontroll; ♀ VD+/T+: nőstény D-vitamin-pótolt tesztoszteron-kezelésben részesült; ♀ VD-/T-: nőstény D-vitaminhiányos tesztoszteron-kezelésben nem részesült; ♀ VD-/T+: nőstény D-vitaminhiányos tesztoszteron-kezelésben részesült. Kétféle t-próba és ANOVA. Átlag ± SEM. **aaaa:** p<0,0001; **cc:** p<0,01; **ff:** p<0,01; **bb:** p<0,01; **gg:** p<0,01.

Mért paraméter	Csoportok					
	♂ VD+ (n=11)	♂ VD- (n=11)	♀ VD+/T- (n=12)	♀ VD+/T+ (n=12)	♀ VD-/T- (n=11)	♀ VD-/T+ (n=11)
Szérumban 25-hidroxi-D <sub>3</sub> -vitamin (ng/mL)	19,66 ± 0,81	3,59 ± 0,21 <b>aaaa</b>	32,328 ± 4,49	33,106 ± 4,46	6,044 ± 0,63 <b>cc</b>	6,006 ± 0,68 <b>ff</b>
Szérumban Össztesztoszteron (ng/mL)	6,56 ± 0,84	5,94 ± 0,91	0,311 ± 0,16	4,292 ± 0,56 <b>bb</b>	0,720 ± 0,16	5,495 ± 0,56 <b>gg</b>

Szignifikáns nemi különbség mutatkozott a D-vitamin-pótlás és D-vitamin deficiencia elérésében: ugyanazon D-vitamin-pótlás protokoll szignifikánsan magasabb 25(OH)D<sub>3</sub> szinteket eredményezett nőtényekben a hímekhez képest (♀ VD+/T- vs. ♂ VD+ p<0,01) [1. ábra (a)]. Míg a D-vitamin-mentes táplálás hímekben szignifikánsan alacsonyabb 25(OH)D<sub>3</sub> szinteket, markánsabb D-vitamin deficiens állapotot okozott, a nőtényekhez képest (♀ VD-/T- vs. ♂ VD-: p<0,01) [2. ábra (b)].



2. ábra. 8. heti 25(OH)D<sub>3</sub> szintek (ng/mL) a D-vitamin-pótlott (VD+) és D-vitamin hiányos (VD-) nőtény és hím csoportokban, (a) Nőtény és hím D-vitamin-pótlott csoportok (♀ VD+/T- és ♂ VD+), 25(OH)D<sub>3</sub> szintje (n=10-11, y-tengely: 0-50 ng/mL). (b) Nőtény és hím D-vitamin hiányos csoportok (♀ VD-/T- és ♂ VD-) 25(OH)D<sub>3</sub> szintje (n=10-10, y-tengely: 0-10 ng/mL). Mann-Whitney-U-teszt. Medián [IQR]. hh: p<0,01; ii: p<0,01.

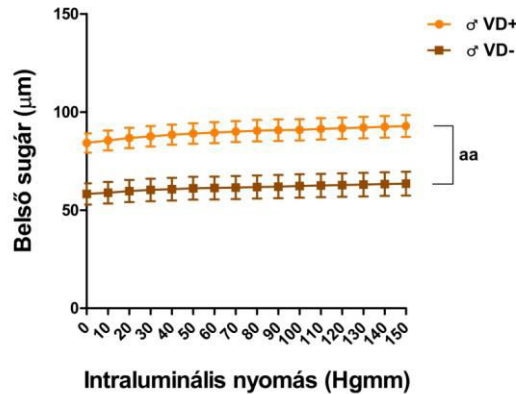
A mért vérnyomásértékekben a hím csoportok és a nőtény csoportok között sem mutatkozott szignifikáns különbség [163, 166].



## 5.2. Koszorúér arteriola szegmensek vizsgált jellemzői

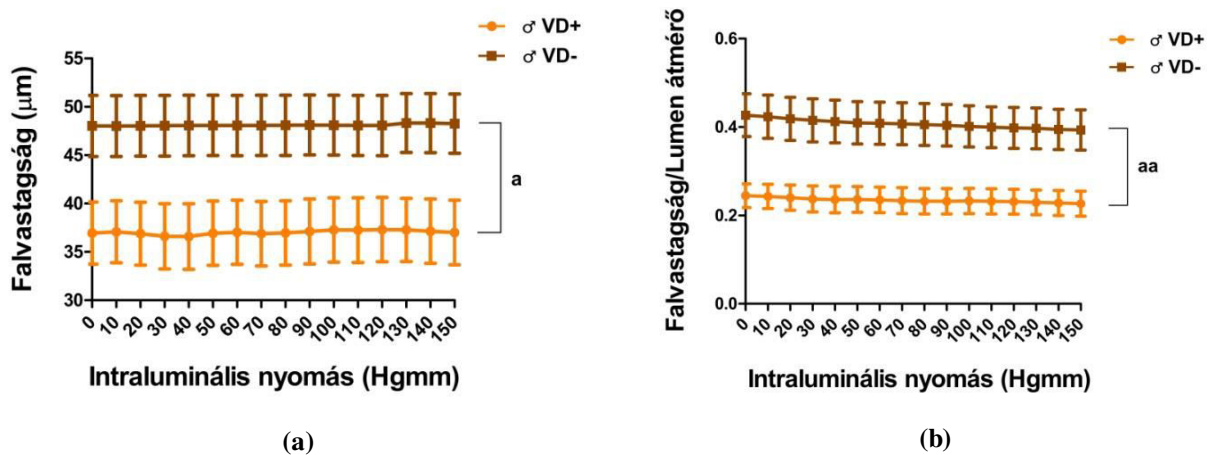
### 5.2.1. Arteriola geometria

Szignifikáns különbség mutatkozott a hím kontroll és hím D-vitamin deficiens csoport kalcium-mentes médiumban mért belső sugara között: a D-vitamin deficiens csoportban szignifikánsan kisebb ( $p < 0,01$ ) volt a belső sugár [3. *ábra*] [166].



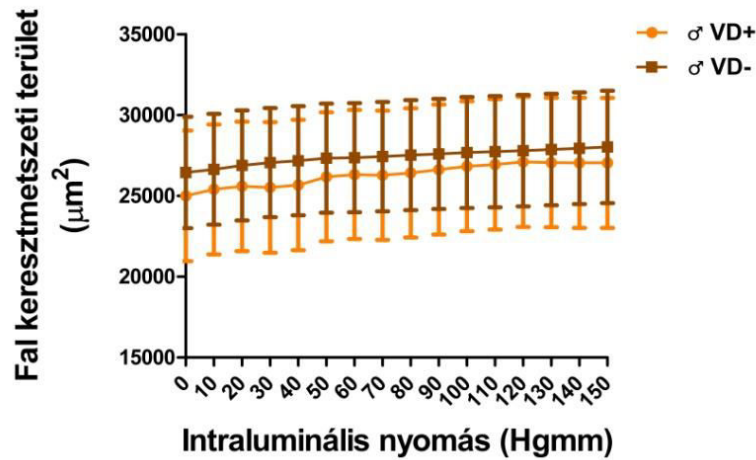
3. *ábra*. Koronária arteriola szegmensek belső sugara ( $\mu\text{m}$ ,  $n=8-8$ ) kalcium-mentes oldatban 0-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Átlag  $\pm$  SEM. ♂ VD+ vs. ♂ VD-: aa:  $p < 0,01$ .

A D-vitamin deficiens állapot szignifikánsan nagyobb falvastagságot ( $p < 0,05$ ) és falvastagság/lumen átmérő hányadost ( $p < 0,01$ ) eredményezett passzív körülmények között a hím kontroll csoporthoz képest [4. *ábra (a) és (b)*] [166].



4. *ábra*. Koronária arteriola szegmensek (a) falvastagsága ( $\mu\text{m}$ ,  $n=8-8$ ); és (b) falvastagság/lumen átmérő hányadosa ( $n=8-8$ ) kalcium-mentes oldatban 0-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Átlag  $\pm$  SEM. ♂ VD+ vs. ♂ VD-: a:  $p < 0,05$ ; aa:  $p < 0,01$ .

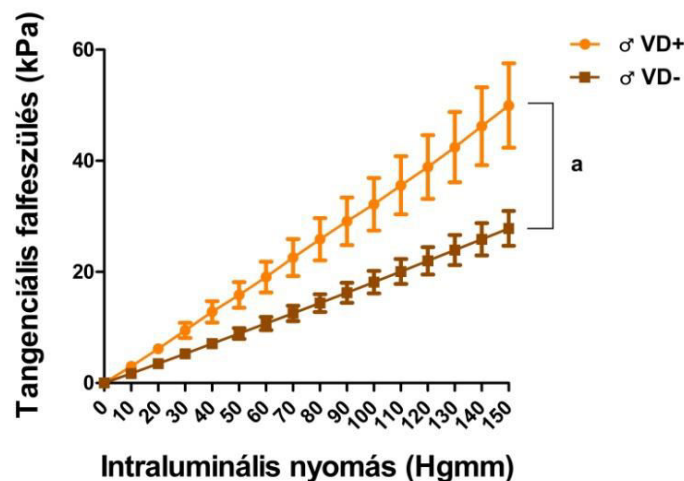
A fal keresztmetszeti területben nem mutatkozott szignifikáns különbség a két csoport között [5. *ábra*] [166].



5. *ábra*. Koronária arteriola szegmensek fal keresztmetszeti területe ( $\mu\text{m}^2$ ,  $n=7-7$ ) kalciummentes oldatban 0-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Átlag  $\pm$  SEM. Nem szignifikáns (n.s).

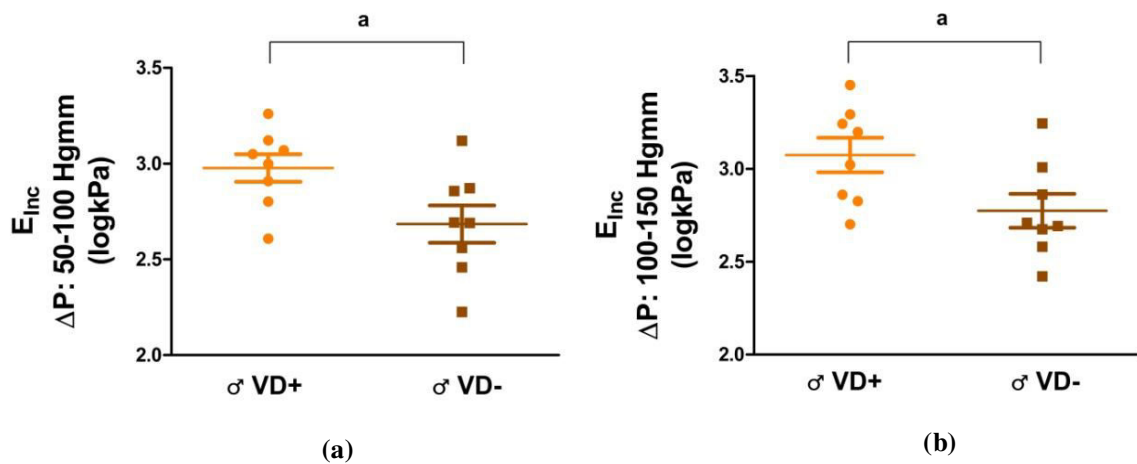
### 5.2.2. Arteriola elaszticitás

A tangenciális falfeszülés szignifikánsan csökkent ( $p<0,05$ ) a hím D-vitamin deficiens csoportban passzív körülmények között a hím kontroll csoporthoz képest [6. *ábra*] [166].



6. *ábra*. Koronária arteriola szegmensek tangenciális falfeszülése (kPa) passzív állapotban. Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Átlag  $\pm$  SEM,  $n=8-8$ .  $\sigma$  VD+ vs.  $\sigma$  VD-: a:  $p<0,05$ .

Az inkrementális elasztikus modulus – amely az arteriolafal rugalmas merevségét jellemző paraméter – szignifikánsan csökkent ( $p < 0,05$ ) a D-vitamin hiányos hím csoportban magasabb nyomástartományokon [7. *ábra (a) és (b)*] [166].

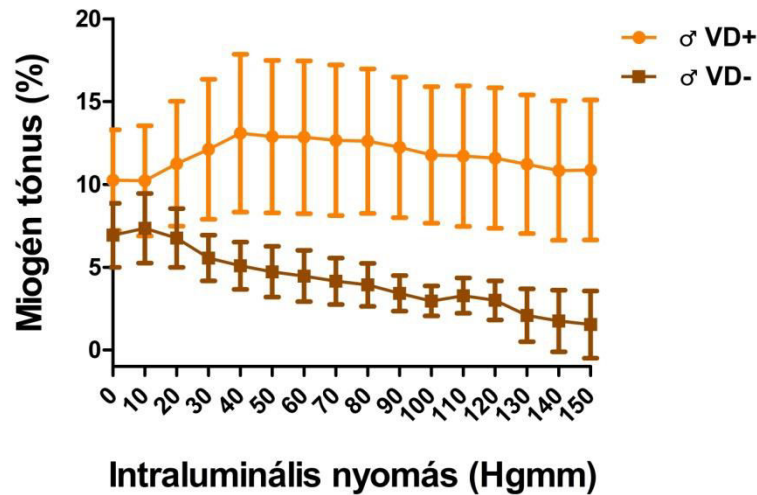


7. *ábra.* Koronária arteriola szegmensek inkrementális elasztikus modulusa (logkPa) (a) 50-100 és (b) 100-150 Hgmm intraluminális nyomástartományokon passzív állapotban. Kétmintás t-próba. Átlag  $\pm$  SEM,  $n=8-8$ .  $\sigma$  VD+ vs.  $\sigma$  VD-: a:  $p < 0,05$ .

A disztenzibilitásban, amely az erek rugalmas tágulékonyágát jellemzi, nem mutatkozott szignifikáns különbség passzív állapotban a két csoport között ( $E_{Inc}$   $\Delta P: 50-100$  Hgmm:  $11,2 \pm 2,1 \cdot 10^{-5}$  kPa $^{-1}$  és  $10,2 \pm 1,5 \cdot 10^{-5}$  kPa $^{-1}$ ;  $E_{Inc}$   $\Delta P: 100-150$  Hgmm:  $11,4 \pm 3,3 \cdot 10^{-5}$  kPa $^{-1}$  és  $10,5 \pm 2,5 \cdot 10^{-5}$  kPa $^{-1}$  a  $\sigma$  VD+ és  $\sigma$  VD- csoportokban, n.s.) [166].

### 5.2.3. Miogén tónus

A D-vitamin deficiens csoportból származó koronária arteriolák magasabb nyomáson nem voltak képesek tartani a miogén tónusukat, habár ez a különbség nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét, azonban egy csökkenő tendencia megfigyelhető [8. *ábra*] [166].

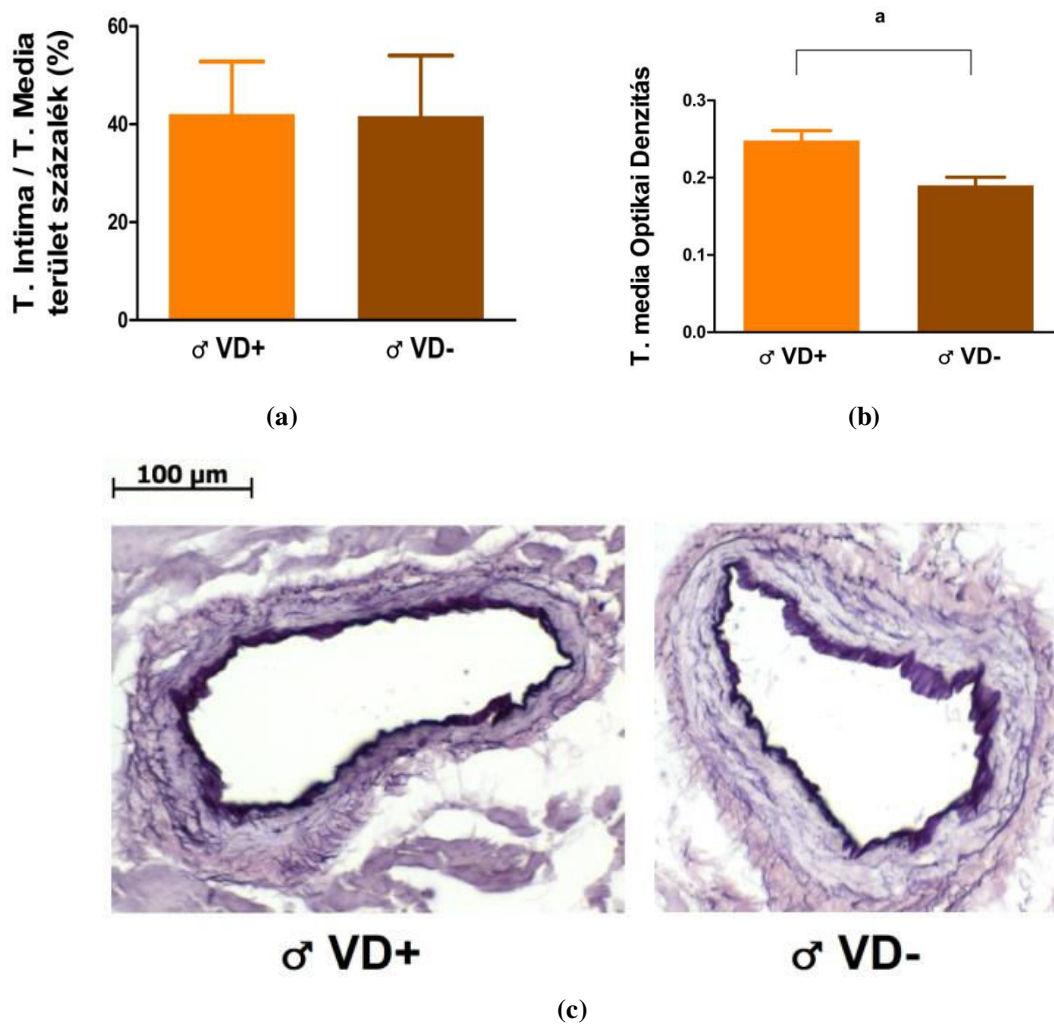


8. *ábra*. Koronária arteriolák spontán tónusa (%; n=6-6). Repeated measures ANOVA, Bonferroni. Átlag  $\pm$  SEM, n. s.

### 5.2.4. Szövettan és Immunhisztokémia

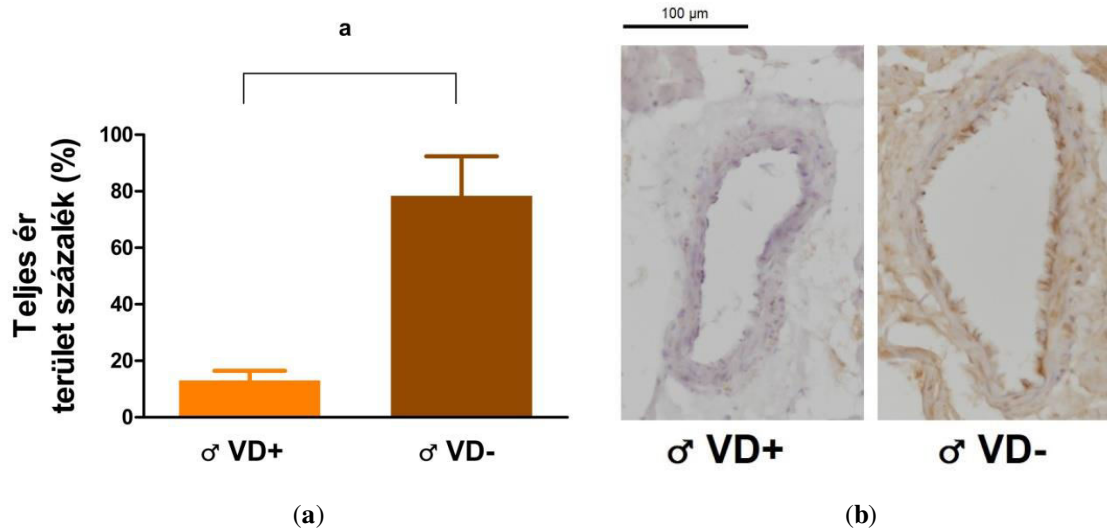
A HE-festett metszeteken, a tunica media rétegben végzett simaizom sejtmag számlálás alapján nem mutatkozott különbség a simaizom sejtmagok számában a hím csoportok között (Sejtmagszám/1000  $\mu\text{m}^2$ : 6,83 [5,94-10,05] és 6,57 [5,27-8,41], n=5-4, a ♂ VD+ és ♂ VD- csoportokban, n.s.) [166].

Az RF-festett metszeteken vizsgált tunica intima/tunica media területszázalékban nem mutatkozott különbség a két csoport között [9. *ábra (a)*]. Azonban az elasztikus rostfestett metszeteken a tunica media optikai denzitása szignifikánsan alacsonyabb ( $p < 0,05$ ) volt a hím D-vitamin deficiens csoportból származó erekben [9. *ábra (b)*] [166].



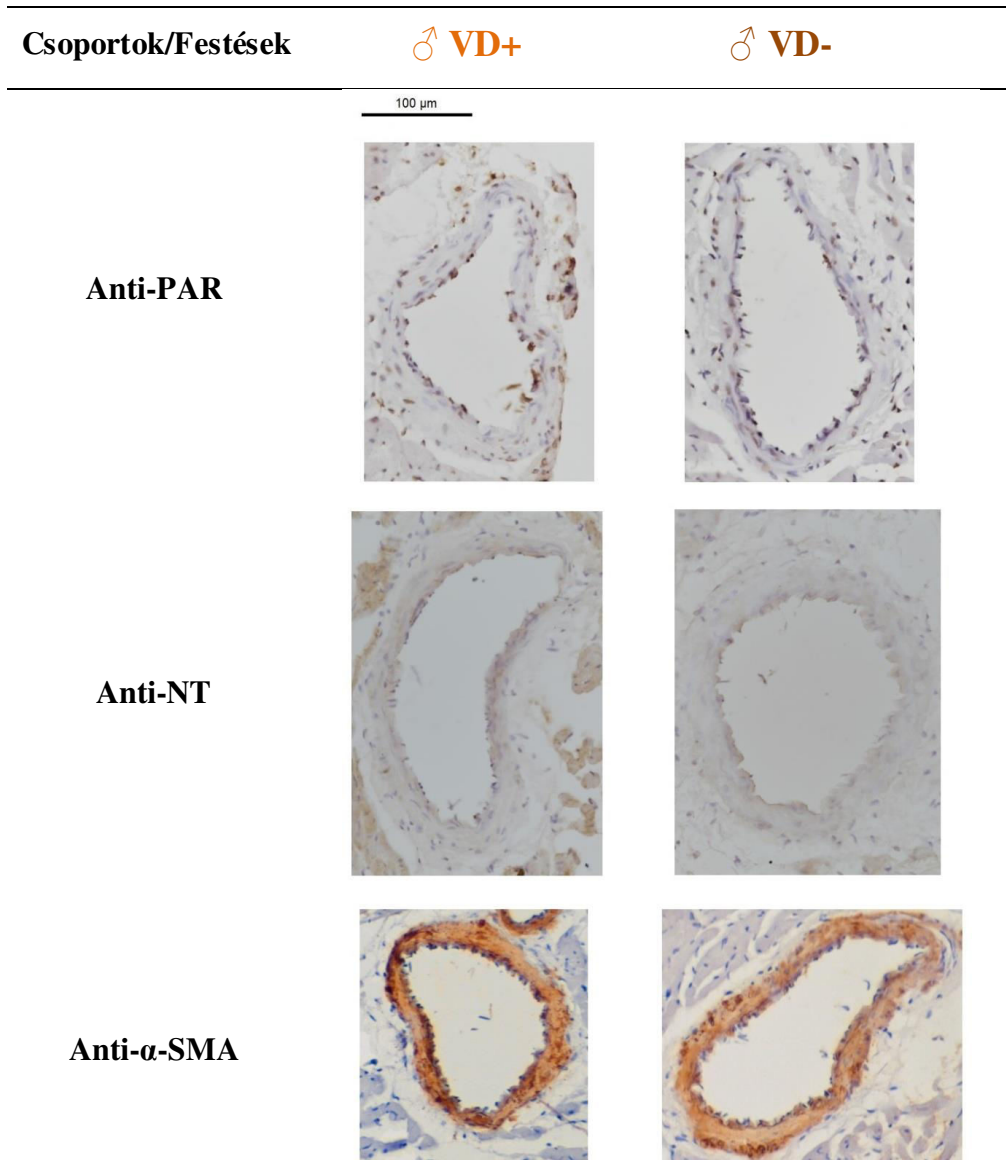
**9. ábra.** Koronária arteriolák szövettani tulajdonságai. **(a)** Tunica Intima/Tunica Media terület százalék (%; n=5-4); **(b)** T. Media optikai densitás (n=4-4) Resorcin-fuchsin festett metszeteken vizsgálva. Mann-Whitney-U-teszt. Medián [IQR]. ♂ VD+ vs. ♂ VD-: **a:**  $p < 0,05$ ; **(c)** Reprezentatív képek Resorcin-fuchsin-festett hím patkány koronária arteriola szegmensekről csoportonként. Fekete skála: 100 µm.

Egy oxidatív stressz és lipid peroxidációs marker, a HNE szintjében szignifikáns emelkedés ( $p < 0,05$ ) igazolódott a hím D-vitamin deficiens csoportban [10. *ábra* (a), és (b)] [166].



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

Nem mutatkozott szignifikáns különbség a Poli(ADP)ribóz, a 3-nitrotirozin és az  $\alpha$ -simaizom aktin immunhisztokémiai festések kiértékelés eredményeiben [11. ábra] [166].

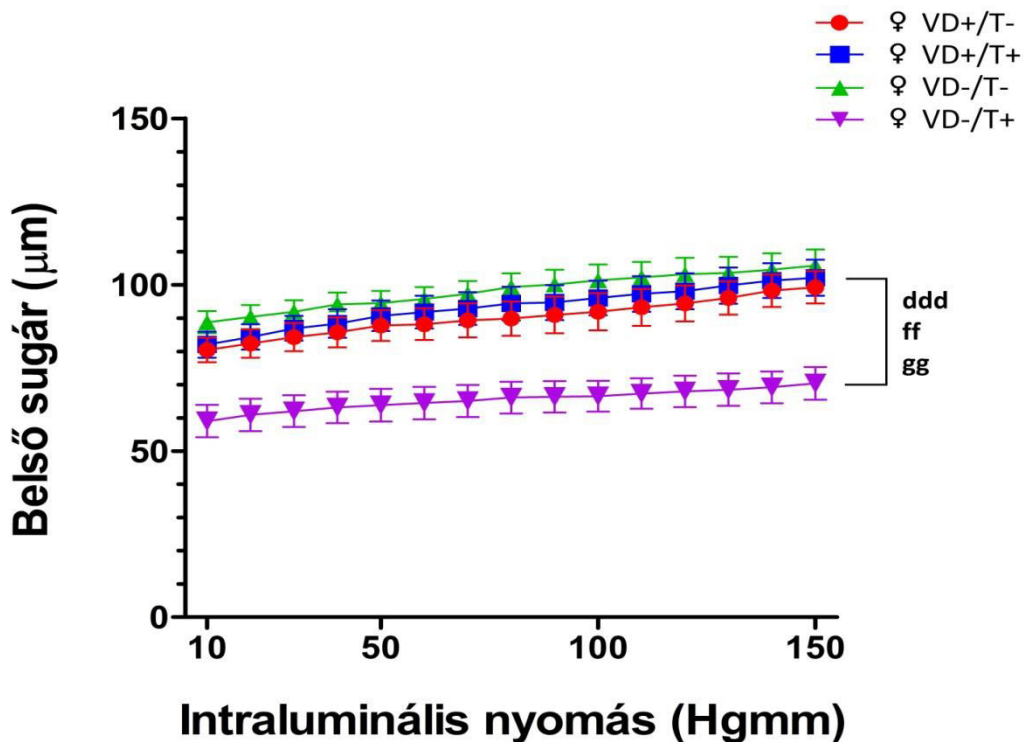


**11. ábra.** Reprezentatív képek hím patkány koronária arteriola Poli(ADP)ribóz (PAR), 3-nitrotirozin (NT) és  $\alpha$ -simaizom aktin ( $\alpha$ -SMA) immunhisztokémiai festett szegmensekről. Fekete skála: 100  $\mu$ m.

### 5.3. Agyi artéria szegmensek vizsgált jellemzői

#### 5.3.1. Artéria szegmens geometria

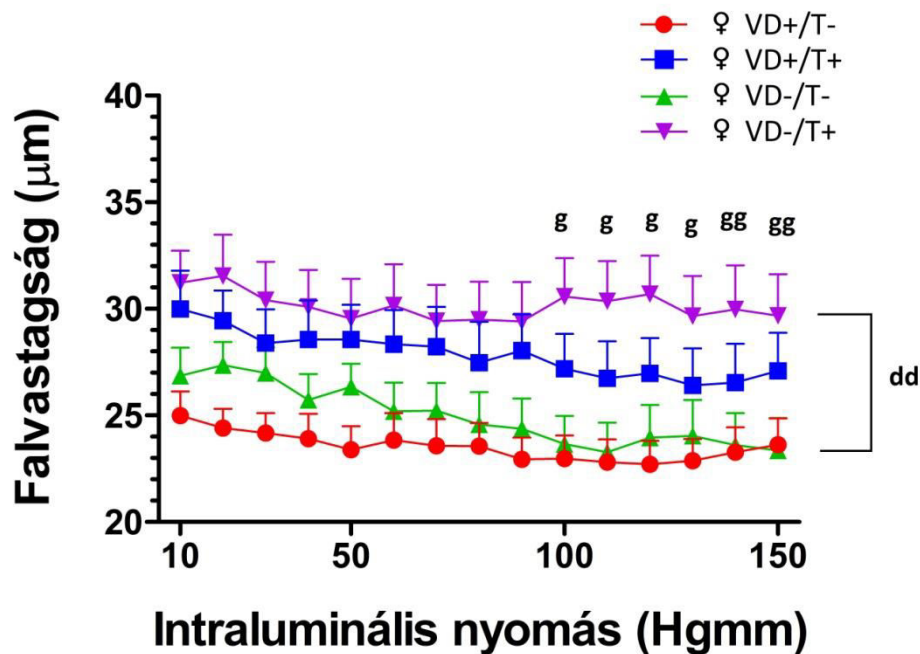
D-vitamin deficiens, tesztoszteron-kezelt nőstény (♀ VD-/T+) állatokból származó agyi érszegmenseknek szignifikánsan kisebb belső sugara volt a teljes nyomástartományon mindhárom másik csoporthoz képest (♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-:  $p < 0,001$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T+:  $p < 0,01$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-:  $p < 0,01$ ) [12. ábra] [167].



12. ábra. Artéria cerebri anterior A2 szegmensek belső sugara ( $\mu\text{m}$ ,  $n=11/\text{csoport}$ ) kalciummentes oldatban 10-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag  $\pm$  SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: **ddd**:  $p < 0,001$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T+: **ff**:  $p < 0,01$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-: **gg**:  $p < 0,01$ .



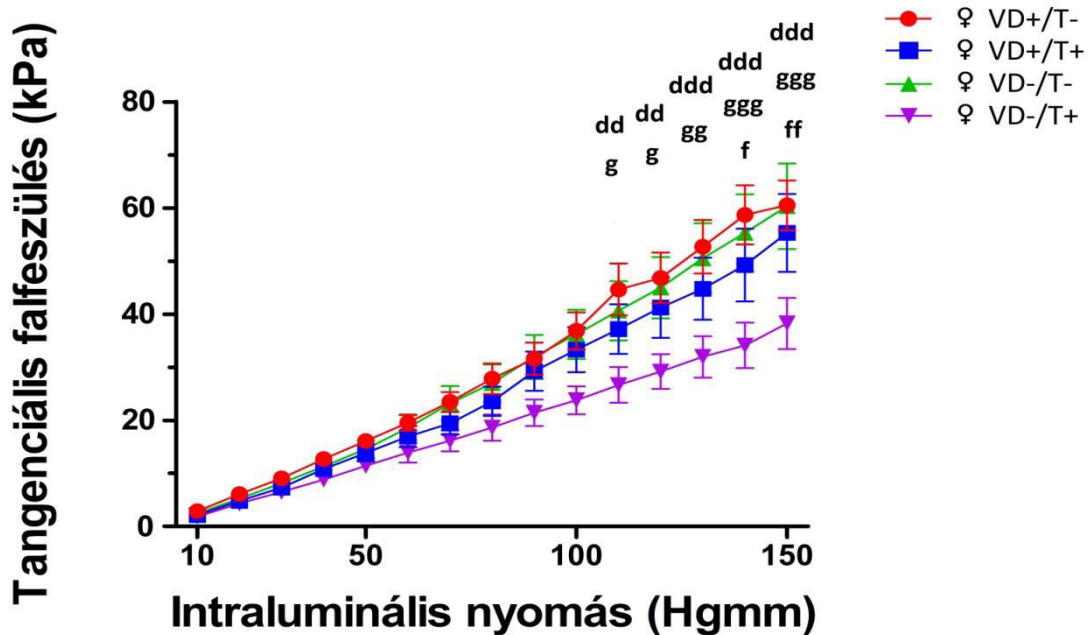
Szignifikánsan nagyobb falvastagság mutatkozott dupla károsító noxa esetében nőstény D-vitaminhiányos hiperandrogén (♀ VD-/T+) csoportban a teljes nyomástartományon a D-vitamin-pótoló, tesztoszteron-kezelésben nem részesült kontroll csoporthoz képest (♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-:  $p < 0,01$ ). Magasabb nyomástartományon ( $\geq 100$  Hgmm) a D-vitamin deficiens, tesztoszteron-kezelésben nem részesült csoporthoz viszonyítva is szignifikánsan magasabb falvastagság igazolódott (♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-:  $p < 0,05$  és  $p < 0,01$ ) [13. ábra] [167].



13. ábra. Artéria cerebri anterior A2 szegmensek falvastagsága ( $\mu\text{m}$ ,  $n=11/\text{csoport}$ ) kalciummentes oldatban 10-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag  $\pm$  SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: dd:  $p < 0,01$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-: g:  $p < 0,05$ , gg:  $p < 0,01$ .

### 5.3.2. Artéria szegmens elaszticitás

D-vitamin deficiens, tesztoszteron-kezelt nőstény (♀ VD-/T+) csoportban szignifikánsan kisebb tangenciális falfeszülés mutatkozott passzív körülmények között magasabb intraluminális nyomásokon (>100 Hgmm) a három másik csoporthoz képest páros összehasonlításban (♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-:  $p < 0,01$  és  $p < 0,001$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T+:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ) [14. ábra] [167].



14. ábra. Artéria cerebri anterior A2 szegmensek tangenciális falfeszülése (kPa,  $n=11$ /csoport) kalcium-mentes oldatban 10-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag  $\pm$  SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: **dd**:  $p < 0,01$ , **ddd**:  $p < 0,001$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD-/T-: **g**:  $p < 0,05$ , **gg**:  $p < 0,01$ , **ggg**:  $p < 0,001$ ; ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T+: **f**:  $p < 0,05$ , **ff**:  $p < 0,01$ .

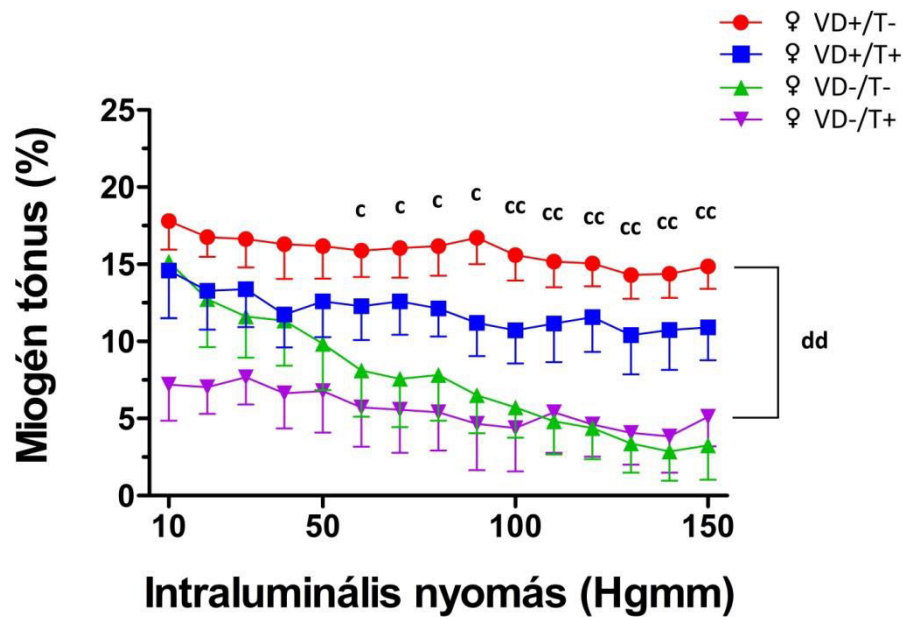
Az inkrementális elasztikus modulusban és a disztenzibilitásban nem mutatkozott szignifikáns különbség a nőstény csoportok között [167].

### 5.3.3. Miogén tónus

A dupla károsító tényező (D-vitamin deficiens és hiperandrogén állapot) szignifikánsan csökkent miogén tónust eredményezett a dupla kontroll (D-vitamin-pótolt és tesztoszteron-kezelésben nem részesült) csoporthoz képest (♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-;  $p < 0,01$ ).

Közepes és magasabb intraluminális nyomásokon (>60 Hgmm) a D-vitamin deficiens tesztoszteron-mentes csoportban is szignifikánsan csökkent miogén tónus mutatkozott a D-vitamin-pótolt tesztoszteron-mentes dupla kontroll csoporthoz viszonyítva (♀ VD-/T- vs. ♀ VD+/T-;  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ).

A D-vitamin deficiens nőstény állatok agyi érszegmenseinek miogén tónusa az intraluminális nyomás növelésével csökkenő tendenciát mutat, hasonlóan a D-vitamin deficiens hím koronária szegmensek miogén tónusához [15. és 8. ábra] [167].

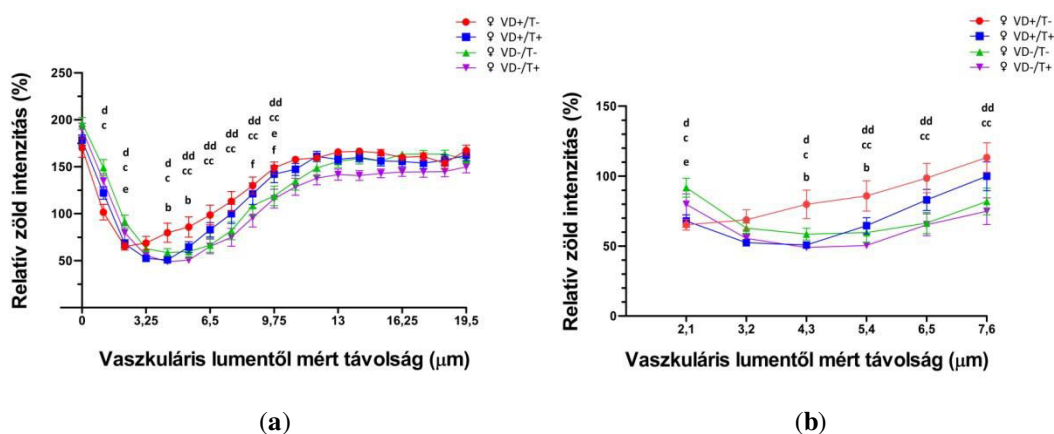


15. ábra. Artéria cerebri anterior A2 szegmensek miogén tónusa (%;  $n=11$ /csoport) kalciummentes oldatban 10-150 Hgmm-es nyomástartományon. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag  $\pm$  SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: dd:  $p < 0,01$ ; ♀ VD-/T- vs. ♀ VD+/T-: c:  $p < 0,05$ , cc:  $p < 0,01$ .

### 5.3.4. Szövettan

Az RF-festett metszeteken történt elasztikus rostdenzitás vizsgálat alapján a relatív zöld intenzitás szignifikánsan csökkent a belső elasztikus membrán rétegben D-vitaminhiányos csoportokban, függetlenül a tesztoszteron-kezeléstől (♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ; ♀ VD-/T- vs. ♀ VD+/T-:  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ).

A tesztoszteron-kezelés is befolyásolta a réteg felépítését: Tesztoszteron-kezelt D-vitamin-pótolts csoportban szignifikánsan csökkent a zöld intenzitás a dupla kontroll (♀ VD+/T+ vs. ♀ VD+/T-:  $p < 0,05$ ), valamint a D-vitaminhiányos tesztoszteron-kezelésben nem részesült (♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T-:  $p < 0,05$ ) és tesztoszteron-kezelt csoportokhoz képest (♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T+:  $p < 0,05$ ). A relatív zöld intenzitás ellentette a viola színre festődött elasztikus rostok denzitásának, ez alapján elmondható, hogy mindkét károsító hatás jelenléte – a D-vitamin deficiencia és a tesztoszteron-kezelés is – növelte a belső elasztikus membrán denzitását [16. ábra (a) és (b)] [167].



**16. ábra.** Artéria cerebri anterior A2 szegmensek elasztikus membrán denzitása (%;  $n=6$ /csoport) (a) Relatív zöld intenzitás (%) az endotheliális felszíntől radiális irányba mérve. (b) Relatív zöld intenzitás a belső elasztikus membránban. Repeated measures ANOVA, Tukey. Átlag  $\pm$  SEM. ♀ VD-/T+ vs. ♀ VD+/T-: **d**:  $p < 0,05$ , **dd**:  $p < 0,01$ ; ♀ VD-/T- vs. ♀ VD+/T-: **c**:  $p < 0,05$ , **cc**:  $p < 0,01$ ; ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD+/T-: **b**:  $p < 0,05$ ; ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T-: **e**:  $p < 0,05$ ; ♀ VD+/T+ vs. ♀ VD-/T+: **f**:  $p < 0,05$ .

Az arteriolák keresztmetszeti területében nem mutatkozott szignifikáns különbség a csoportok között [167].

## 6. Megbeszélés

### 6.1. Kezelés validálás, Vérnyomásmérés

A kísérletek végén mért szérumban 25-hidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin szintben kifejezett nemi különbséget azonosítottunk: az identikus D-vitamin szupplementációs protokollal alacsonyabb 25(OH)D<sub>3</sub> szinteket eredményezett hímekben, valamint a D-vitamin deficiens táplálás hímekben markánsabb D-vitaminhiányhoz vezetett, nőstényekhez képest.

Állatkísérleteink alapján hímekben magasabb exogén D-vitamin bevitelre lehet szükség az optimális D-vitamin céltartomány eléréséhez és az optimális D-vitamin ellátottság fenntartásához, valamint a D-vitaminhiány kifejezettebben jelentkezhet hímekben [34, 163], vagyis a D-vitamin-pótlás hatékonysága és a D-vitamin deficiencia súlyossága nemi különbségeket mutathat.

E megfigyelések hátterében több tényező állhat. Elképzelhető, hogy hím és nőstény fiatal felnőtt patkányokban nemi különbségek lehetnek a D-vitamin szintézisben-aktivációban-metabolizmusban, amely kialakulásában a szexuálissteroid hormonok is szerepet játszhatnak. Továbbá a női és a férfi immunrendszer működésbeli különbségei együttesen szintén befolyásolhatják az azonosított különbségek létrejöttét.

Fenti hipotézisek vizsgálatára további részletes, a nemi különbségekre fókuszáló kutatások szükségesek.

### 6.2. Nyomás mikroangiometriás mérések eredményei

#### 6.2.1. Artéria, arteriola szegmens geometria

Hím csoportjaink esetében, D-vitamin deficiens állapotban a koronária arteriola szegmensek belső sugara csökkent, falvastagságuk és falvastagság-lumenátmérő hányadosuk nőtt a kontroll csoporthoz képest, változatlan fal keresztmetszeti terület mellett.

Nőstény csoportok elülső agyi artéria szegmenseinél a D-vitamin deficiens, hiperandrogén csoportban mutatkozott csökkent belső sugár és megnövekedett falvastagság a kontroll csoporthoz képest, azonban magasabb nyomástartományokon az önálló D-vitamin hiányállapothoz képest is nagyobb falvastagság mutatkozott a két károsító tényező együttes jelenlétében – szintén változatlan keresztmetszeti területtel.

Nemtől, értípustól és érégiótól függetlenül hasonló vaszkuláris átalakulások mutatkoztak – amelyekhez hímek esetében a D-vitaminhiány, nőtények esetében a D-vitamin deficiencia és hiperandrogén állapot együttes jelenléte vezethetett.

A vaszkuláris remodelling típusát tekintve az átépülés a lumen átmérő csökkenése esetén lehet belső/„*inward*”, vagy növekedése esetén külső/„*outward*”, illetve csökkent, változatlan vagy megnövekedett fal keresztmetszeti terület alapján kategorizálható hipotróf, eutróp és hipertróf remodelling-ként [168].

Mindkét nemben, koronária arteriola és agyi érszegmensek csökkent belső sugara, megnövekedett falvastagsága (és falvastagság-lumenátmérő hányadosa) a változatlan fal keresztmetszeti területtel együttesen belső eutrófiás remodelling kialakulására utal, amely jellemző vaszkuláris károsodás esszenciális hipertóniában [169, 170]. A sejtes és nem-sejtes komponensek reorganizációja is okozhat falvastagság-változást és arteriola lumenszűkületet [170, 171].

Mivel sem a hím, sem a nőtény csoportokban nem mutatkozott a vérnyomás értékekben különbség [163, 166], a változatlan vérnyomás és egyidejű érremodelling jelenléte prehipertenzív károsodásra utal.

Esszenciális hipertónia korai stádiumában két fontos patológiás elváltozás a megnövekedett perifériás rezisztencia és a károsodott szív-érrendszeri struktúra [170]. Spontán hipertenzív (SH) hím patkányok mezenterialis rezisztencia ereit kisebb lumenátmérő, vastagabb fal és tunica media réteg jellemzi [172].

Analóg trófikus vaszkuláris változások – csökkent lumen és megnövekedett falvastagság – mutatkoztak D-vitamin deficiens nőtény patkányok koronária arteriola szegmenseiben [162], ami arra enged következtetni, hogy a kis intramurális koronária artériák prehipertenzív adaptációja nemtől független lehet.

Agyi erek tekintetében, D-vitamin deficiens hím patkányok agyi érszegmenseinek csökkenő tendenciát mutató belső sugara, megnövekedett falvastagsága, falvastagság-lumenátmérő hányadosa és megnövekedett fal keresztmetszeti területe belső hipertófiás remodellingre utal szintén változatlan vérnyomás értékek mellett [34], tehát az agyat ellátó erek prehipertenzív adaptációjában mutatkoznak nemi különbségek.

Elképzelhető, hogy az agyi erek esetében mutatkozó nemek közti eltérő artéria szegmens geometria és prehipertenzív vaszkuláris adaptáció hátterében a vér-agy gát D-vitamin-státusz-függő, eltérő működése állhat.

Hím patkányok ischaemiás stroke modelljében D-vitamin deficiens állapotban az IgG extravazáció, a mátrix metalloproteináz 9 (MMP-9), az 1-es glükóz transzporter, a VDR és az oszteopontin expresszió szignifikánsan nőtt, míg az okkludin és a klaudin-5 „tight junction” fehérjék szignifikánsan csökkentek, ami alapján a D-vitamin deficiencia fokozza a vér-agy gát diszfunkciót hím nemben a kontroll ischaemiás csoporthoz képest [173].

Nőstény patkányok ischaemiás stroke modelljében a D-vitamin deficiens állapot hatására szignifikánsan nagyobb kortikális és striatális infarktus területek képződtek, valamint a szenzorimotoros viselkedés tesztek alapján a D-vitamin deficiens nőstény állatoknál súlyosabb poszt-stroke viselkedési károsodások jelentkeztek, emellett az ischaemiás hemisphaeriumukban és a plazmájukban a neuroprotektív IGF-1 hormon szintje szignifikánsan csökkent és az anti-inflammatórikus citokinek (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$ ) expressziója is szignifikánsan csökkent az agyszövetükben. A D-vitamin deficiencia nőstény patkányokban a gyulladáshoz való válasz diszregulációjával és a neuroprotektív csökkenésével tovább fokozza a stroke súlyosságát [174]. Azonban további kutatások szükségesek a vér-agy gát lehetséges nemek közti különbségeinek és a D-vitamin státusz kapcsolatának vizsgálatára.

### **6.2.2. Artéria, arteriola szegmens elaszticitás**

D-vitamin deficiens hím koronária arteriola szegmensek, valamint D-vitamin deficiens és hiperandrogén nőstény agyi artéria szegmensek esetében is szignifikánsan csökkent tangenciális feszülés mutatkozott.

Hím D-vitamin deficiens patkányok koronária arteriola szegmensének inkrementális elasztikus modulusa szignifikánsan csökkent, azonban a nőstény csoportok agyi artéria szegmenseinek e paraméterében nem mutatkozott különbség.

A disztenzibilitásban nem volt azonosítható különbség sem a hím és nőstény csoportok között, sem az eltérő D-vitamin ellátottság és a tesztoszteron-kezelés tekintetében.

Hímekben azonosított változások mutatkoztak nőstény koronária arteriola szegmensek esetében is: csökkent tangenciális feszülés volt jellemző nőstény D-vitamin

deficiens patkányok koronária arteriola szegmenseinél – függetlenül attól, hogy részesültek-e tesztoszteron-kezelésben, emellett a D-vitamin deficiens állapot hatására csökkent a szegmensek inkrementális elasztikus modulusa, valamint a társuló hiperandrogén állapot tovább csökkentette az elasztikus modulust [162].

Hasonlóan a nőstény elülső agyi artéria szegmensek csökkent tangenciális feszüléséhez, hím agyi artéria szegmensek esetében is csökkent a tangenciális feszülés magasabb intraluminális nyomásokon, az inkrementális modulusban és a disztenzibilitásban hímekben sem volt különbség [34].

A csökkent tangenciális feszülés oka a kisebb belső sugár és a megnövekedett falvastagság lehet mindkét nem és értípus esetén. Az optimális falfeszüléstől történő bármely irányú eltérés értelmezhető az érfal alkotóelemeinek kóros állapothoz való kompenzatórikus adaptációjaként. A tangenciális falfeszülés csökkenését okozhatja az elasztikus és kollagén rostok, valamint a kontraktilis elemek arányában bekövetkező változás.

Eredményeink alapján úgy tűnik, elaszticitás tekintetében a szívet ellátó koronária arteriolák elasztikus tulajdonsága károsodik a prehipertenzív elváltozások részeként D-vitaminhiányos állapotban, azonban az elülső agyi artériák esetén ilyen károsodás nem azonosítható, amely fontos különbség lehet érrégió és értípus vonatkozásában – és fontos szempont lehet a megfelelő agyi autoreguláció minél további megőrzésében.

A koronária erek folyamatos mechanikai terhelésnek vannak kitéve a szív pumpafunkciója, a szisztolé és diasztolé periodikus ismétlődése által. A szívet ellátó erek elaszticitásában bekövetkező változás, rugalmasságuk csökkenése jelentős negatív következményekkel járhat rövid és hosszú távon egyaránt – a merevebb koszorúerek kevésbé tudnak alkalmazkodni környezetük változékonyságához.

Az agyi erek változatlan elasztikus tulajdonsága részben megérthető a Monroe-Kellie elv szempontjából: a koponyaüregben az intrakraniális vér, a cerebrospinalis folyadék mennyisége és az agyállomány térfogata állandó [32]. Az agyi autoreguláció mechanizmusával az agyi vaszkulátúra képes állandó átlagos cerebrális artériás nyomást fenntartani, a szisztolés vérnyomás azonnali megváltozásának ellenére is.



Az agyi erekben kialakult prehipertenzív változások háttérében a koszorúerek változásaitól eltérő funkcionális és szöveti-molekuláris-szignáltranszdukciós szintű mechanizmusok állhatnak.

### **6.2.3. Miogén tónus**

Hím D-vitamin deficiens állatokból származó koronária erek miogén tónusa magasabb intralumináris nyomásokon csökkenő tendenciát mutatott a kontroll csoporthoz képest, azonban a különbség nem érte el a szignifikancia szintjét.

Nőstény D-vitamin deficiens és hiperandrogén állatok agyi artéria szegmensének miogén tónusa a teljes nyomástartományon szignifikánsan alacsonyabb volt a kontroll nőstény csoporthoz képest.

A D-vitaminhiányos nőstényekből származó agyi erek miogén tónusa hasonlóan csökkenő tendenciát mutatott, mint a hím koronária erek tónusa, a nyomás-átmérő jelleggörbe lefutása nagyon hasonló, azonban a különbség nőstények esetében szignifikánsnak bizonyult a kontroll csoporthoz képest.

A kis cerebrális arteriolák alapvető szerepet játszanak az agyi autoregulációban a miogén aktivitásuk azonnali változtatásával, amennyiben e funkciójuk károsodik, az megváltozott agyi vérellátást eredményezhet.

Nőstény koronária erek miogén tónusa D-vitaminhiányban, hiperandrogén állapotban és e két kóros állapot együttes fennállása esetén szintén csökkent [162].

Hím D-vitaminhiányos állatok agyi ereinek miogén tónusa szignifikánsan nőtt a kontroll csoporthoz képest [34], amely jelentős tulajdonságbeli és nemi különbség agyi erek vonatkozásában.

Elképzelhető, hogy a miogén tónusban bekövetkező csökkenő tendencia a D-vitaminhiányos hím koronária és nőstény agyi erek esetében tranziens, aminek a két nemből és két értípusban eltérő okai lehetnek. Emellett lehetséges, hogy a D-vitamin státusz rendezése javíthat a károsodott spontán tónuson. Feltételezhető továbbá, hogy rövid távú D-vitaminhiányban csökkenő tendenciát mutató spontán tónus hosszú távú D-vitamin hiányállapotban tovább romlik, ezáltal prehipertenzív elváltozás kialakulásához vezethet.

Ugyanakkor, SH patkányok koronária artériái magasabb nyomásokon nagyobb miogén tónust generálnak, endothélium-denudációt követően alacsonyabb nyomásokon

is magasabb spontán tónus volt jellemző [175], SH patkányokból származó cerebrális erek szintén magasabb miogén tónust generálnak [176].

Felmerülhet továbbá a különböző ioncsatornák lehetséges megváltozott működése a károsodott miogén tónus kialakításában. Az érrendszerben a simaizom  $[Ca^{2+}]_{ic}$  változása kritikus a miogén tónus és a vazomóció szempontjából, amelyért egyrészt a simaizom sejtekben található intracelluláris  $Ca^{2+}$ -raktárak, másrészt többféle  $Ca^{2+}$  és  $K^+$  ioncsatorna működése felel, úgy mint [177]:

- Feszültség-függő L-típusú („Long-lasting”) és T-típusú (Tranziens)  $Ca^{2+}$ -csatornák (LVDCC és TVDCC),
- Nem-szelektív kation csatornák közül a TRP csatornák,
- valamint a Feszültség-függő  $K^+$ -csatornák (KCN).

A VDCC csatornákon keresztüli  $Ca^{2+}$ -influx vezet főként a simaizom sejt  $[Ca^{2+}]_{ic}$  globális növekedéséhez és vazokonstikcióhoz, amiben az L-típusú VDCC (LVDCC) csatorna játszik központi szerepet [177]. E csatorna felépítését tekintve a csatornát kialakító fehérje 4 alegysége közül ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2/\delta$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) az  $\alpha_1$  alegység alkotja a csatornát [178], ezáltal a  $Ca^{2+}$  legfontosabb belépési útvonala. Az LVDCC csatorna  $\alpha_1$  alegységét a CACNA1C gén kódolja, amely az agyban e csatorna aktivitásának 90%-áért felel [179].

A TRP csatornák C-alcsaládjának („*Canonical*”) 6-os tagja, a TRPC6  $Ca^{2+}$ -vezető ioncsatorna [180], amely VSM sejteken expresszálódik, ezáltal kulcsszerepet játszik funkciójukban, emellett a miogén kontrakcióban, valamint az agyi véráramlás autoregulációjában vesz részt [181].

A KCN csatorna B-alcsaládjának 1-es tagja, a KCNB1 vagy Kv2.1 megtalálható rágcsáló és humán agyszövetben (kéreg és hippocampusz) [182], valamint patkány mezenterialis artériák izolált simaizom sejtjeiben [183] és agyi ereiben (MCA) [184] egyaránt, és szintén alapvető szerepet játszik a VSM sejtek nyugalmi membránpotenciáljának szabályozásában [185].

A D-vitamin VDR-en keresztül mind a CACNA1C, mind a TRPC6 expressziót befolyásolhatja [179, 180]. A VDR down-regulációja – vagyis D-vitamin deficiens állapot – a CACNA1C mRNS és fehérje szintek megnövekedett expresszióját eredményezi [186].

A VDR közvetlenül a TRPC6 promóter régiójához köt, ennek megfelelően a D-vitamin gátolhatja a TRPC6 promóter aktivitását, 25-hidroxi-1- $\alpha$ -hidroxiláz knock-out – azaz D-vitaminhiányos – egerekben szignifikánsan megnövekedett glomeruláris TRPC6 mRNS-expresszió mutatkozott és a D-vitamin-kezelés a kontroll csoportban mért értékekre csökkentette a megnövekedett expressziót [187].

KCN csatornák vonatkozásában patkány oszteoblasztokon a D-vitamin metabolitok korai, azonnali rövid és rapid kálium-áram válaszokat váltottak ki amelyek a klasszikus D-vitamin receptortól függetlenül alakulhatnak ki [188].

Az androgének sokrétű hatásai közé tartozik a klasszikus nukleáris AR-ok aktiválása mellett a feszültség-függő és ligand-függő ioncsatornák és transzporterek működésének direkt modulációja, valamint képesek másodpercek-percek alatt változtatni az intracelluláris  $Ca^{2+}$  koncentrációt, ezzel  $Ca^{2+}$ -oszcillációt előidézve többek között vaszkuláris simaizmokon AR-függő és AR-független (leginkább G-protein kapcsolt) útvonalakon keresztül [75].

Tehát elképzelhető, hogy a D-vitaminhiány és az androgén hormonok befolyásolhatják az érrendszer és a különböző érrégiók ioncsatornáinak működését mindkét nemben.

Az erek funkcionális tulajdonságai mellett a farmakológiai válaszkészség, vagyis a különböző hatóanyagokra bekövetkező vazorelaxáció és vazokonstrikció is megváltozhat, emellett a hipertóniás adaptáció különböző fajokban, érrégiókban-érterületeken, valamint a hipertónia különböző súlyossági fokaiban eltérő lehet.

Nőstény D-vitaminhiányos és hiperandrogén állatokból származó agyi erek UTP-indukált vazokonstrikciója és bradykinin-indukált vazorelaxációja szignifikánsan csökkent a kontroll csoporthoz képest [167].

Hím D-vitaminhiányos koronária erekben a TXA<sub>2</sub>-indukált vazokonstrikció, valamint az E<sub>2</sub> és T szexuálszteroidokra bekövetkező vazorelaxációk szignifikáns csökkenést mutattak a kontroll csoporthoz képest, azonban ezen eredmények munkacsoportunk eddig még publikálatlan eredményei, a kézirat publikációja jelenleg is folyamatban van.

Hím D-vitaminhiányos állatok és nőstény D-vitamin deficiens és egyúttal hiperandrogén állatok agyi ereiben a T-indukált „vazokonstrikciót” (ellentétes számítás)

vizsgálva a kontroll csoportokhoz képest mindkét esetben szignifikánsan megnőtt vazokonstrikción mutatkozott [149].

Nőstény D-vitaminhiányos koronária erek TXA<sub>2</sub>-indukált vazokonstrikcója és adenzin-indukált vazorelaxációja szignifikánsan csökkent a kontroll csoporthoz képest, függetlenül a hiperandrogén állapottól [162].

Hím koronária erekben a D-vitamin hiányállapot és nőstény agyi erekben a D-vitamin deficienciához társuló hiperandrogén státusz az érremodelling, a csökkenő tendenciájú és csökkent miogén tónus mellett az erek farmakológiai adaptációs tartományának beszűkülésére, károsodására utal, ami az erek alkalmazkodóképességét hátrányosan befolyásolja.

### **6.3. Szövettani, Immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei**

#### **6.3.1. Szövettani vizsgálatok eredményei**

Resorcin-Fuchsin és Hematoxylin-Eosin festett metszeteken történt szövettani vizsgálataink eredményei alapján érdekes különbségek voltak megfigyelhetők a hím koronária és a nőstény agyi érszögmensek hisztológiai tulajdonságait tekintve.

Hím koronária erek esetében a D-vitamin deficiens állatokból származó érszögmensek tunica media rétegében a simaizom sejtmagok száma és az  $\alpha$ -simaizom aktin expresszió változatlan volt, a tunica intima-tunica media rétegek területszázalékában sem mutatkozott különbség, ugyanakkor a media réteg resorcin-fuchsin festésének optikai denzitása szignifikánsan csökkent a kontroll csoporthoz képest.

Eredményeinkből arra következtethetünk, hogy hím D-vitamin deficiens koronária erek falának kontraktilis elemei nem változtak, azonban az elasztikus komponensekben markáns eltéréseket azonosítottunk, amely eredményeink összhangban állnak az *in vitro* mikroangiometriás vizsgálat segítségével azonosított arteriola elaszticitásbeli eltérésekkel.

Ezzel szemben nőstény agyi ereknél D-vitamin deficiens csoportokban és a tesztoszteron-kezelt csoportokban is növekedett a belső elasztikus membrán denzitása, valamint a tunica media réteg vastagsága szignifikánsan csökkent a D-vitaminhiányos csoportokban [167].

Az eredmények alapján nőstény agyi érszégmensek esetében mind D-vitaminhiányban, mind hiperandrogén állapotban az érfal elasztikus komponense megnő, D-vitaminhiányban emellett a kontraktilis elemek száma is csökken. A mikroangiometriás vizsgálatok szerint ugyanakkor az arteriola elaszticitásban nem következett be változás (változatlan elasztikus modulus és disztenzibilitás), ami az érfal összetételének kóros megváltozására utal, azonban ez a funkcióban (még) nem manifesztálódott.

A prehipertenzív károsodások kialakulásának hátterében eltérő szöveti, molekuláris és szignáltranszdukciós szintű pathomechanizmusok állhatnak D-vitamin deficiens hím koronária és D-vitamin deficiens és hiperandrogén nőstény agyi erekben.

Az erek elasztikus és kontraktilis komponenseiben bekövetkező változásokért többféle mechanizmus felelhet.

A Mátrix metalloproteinázok (MMP) az ECM átalakulását és a szöveti remodellinget szabályozó egyik legfontosabb proteolitikus enzimes család tagjai.

Kétféle osztályozásuk ismert:

- 1) **Szubsztrát alapú** kasszifikációjuk alapján megkülönböztethetők kollagenázok, zselatinázok, stromelizinek, mátrilizinek, membrán típusú és egyéb típusú mátrix metalloproteinázok.
- 2) **Alternatív, domén alapú** osztályozásuk megkülönböztet archetipikus mátrix metalloproteinázokat, mátrilizineket, zselatinázokat és furin-aktiválható mátrix metalloproteinázokat [189].

Az MMP-k a négyféle endogén mátrix metalloproteináz szöveti inhibitorokkal (TIMP 1-4) együtt az ECM homeosztázisért felelnek, dinamikusán változtatják az ECM struktúrájának alkotóelemeit [189]. Az ECM homeosztázis számos exogén és endogén ágenstől és különböző egészségi állapottól függhet. Úgy tűnik, a D-vitamin deficiens állapot, az oxidatív stressz, valamint a szív-érrendszeri és cerebrovaszkuláris betegségek negatívan befolyásolják az érzékeny egyensúlyt.

Kardio- és cerebrovaszkuláris betegségek vonatkozásában a leginkább tanulmányozott MMP-k a zselatináz csoportba tartozó MMP-2 és MMP-9, amelyek nemcsak különböző típusú kollagént [190], hanem fibronektint, aggregánt és egyéb nem-ECM alkotóelemet is emésztenek [189].

Szív-érrendszer vonatkozásában, D-vitamin receptor mutáns egerek aortájában csökkent az elasztikus rosttartalom [191], diéta-indukált D-vitamin hiányos egerek aortájában megnövekedett MMP-2 és MMP-9 expresszió mutatkozott [192]. Humán vizsgálatban D-vitamin deficiens obez betegekben a D-vitamin szupplementáció súlycsökkentő diétával kombinálva szignifikánsan csökkentette a szérum MMP-9 szintet, de nem okozott változást az MMP-2 szintben [193]. Koszorúér betegségben szenvedő páciensek szérumában szignifikánsan emelkedett MMP-9 szint volt mérhető, amely hozzájárulhat a betegség patogeneziséhez [194]. Az MMP-k a stabil koszorúér betegség értékes diagnosztikus biomarkerei lehetnek [194, 195].

Cerebrovaszkuláris betegségek szempontjából hím Sprague-Dawley patkányokban indukált cerebrális aneurizmákban az MMP-2 és MMP-9 mRNS-expresszió szignifikánsan megnőtt a kontroll csoporthoz képest [196], nőstény és hím Sprague-Dawley patkányokban kialakított intrakraniális aneurizma modell alcsoportjaiban szignifikánsan magasabb MMP-2 és MMP-9 mRNS expresszió mutatkozott a kontroll csoporthoz képest – függetlenül az alcsoportokban alkalmazott kezelésektől [197]. Humán cerebrális aneurizmában az MMP-2 expresszió megnövekedett és a normál diffúz MMP-9 expresszió helyett fokális MMP-9 expresszió növekedés mutatkozott az aneurizma falban kontroll agyi erekhez viszonyítva [198].

Ugyanakkor feltételezik az MMP-k vaszkuláris kalcifikációban betöltött szerepét is, frissebb adatok alapján az MMP-k a gyulladás és az oszteogenezis fontos regulátorai lehetnek [199]. Rágcsáló VSM sejtvonalakban kalcium és foszfát tartalmú kalcifikáló médiummal meszesedést előidézve a kezelt sejtek felülúszó folyadékában magasabb MMP-2 és MMP-9 mRNS expresszió mutatkozott a kontrollhoz képest [200]. Hím Sprague-Dawley patkányokban toxikus dózisu D-vitaminnal (12,5 mg = 500 000 NE D-vitamin/testsúlykg [201]) előidézett patkány thoracalis aorta kalcifikációs modellben a kezelt csoport mellkasi aorta szegmensében kiterjedt mineralizációs lerakódást, az elasztikus rostok és az ECM degradációját, valamint szignifikánsan nagyobb MMP-2 mRNS expressziót detektáltak a kontroll csoporthoz képest [202]. Humán meszes aortabillentyűk szerkezetében mikroszkópos vizsgálattal diffúz fibrózis, abnormális ECM remodelling, kollagén dezorganizáltság, valamint mineralizáció volt észlelhető, emellett a meszes területekben, porcos nodulusokban fehérje expressziós és immunhisztokémiai vizsgálatokkal egyaránt szignifikánsan magasabb MMP-9 szintek

voltak mérhetőek [203]. Az elasztokalcinózt artériák elasztikus lamelláiban lerakódó hidroxipapatit depozitumok jellemzik, mely szérum és mátrix proteinek által kontrollált aktív folyamatnak bizonyult, amelyben az MMP-k szerepét is feltételezik [204]. Valószínűsíthető, hogy a kalcium sók specifikusan az elasztinhoz kötődnek inkább, mint az elasztikus szövet minor komponenseihez [205]. Hím Wistar patkányokban warfarin+K<sub>1</sub>-vitamin által indukált elasztokalcinózis modellben aorta gyűrűkben változatlan MMP-2 és szignifikáns átmeneti MMP-9 aktivitás-emelkedést figyeltek meg [204]. Hím Sprague-Dawley patkányok hátába szubdermálisan implantált tiszta elasztint vizsgálva az elasztin kalcifikáció korai stádiumában az MMP-2 és MMP-9 upregulált mRNS-expresszióját és megnövekedett enzimaktivitását azonosították [206].

Kardio- és cerebrovaszkuláris vonatkozások mellett az MMP-k továbbá szerepet játszhatnak a tüszőfejlődéshez kapcsolódó ECM remodellingben és ovárium diszfunkcióban [207, 208]. PCOS-ben szenvedő nők szérumában szignifikánsan magasabb MMP-2 és MMP-9 szinteket mértek kontroll egészséges nőkben mért értékekhez képest, ami alapján feltételezhető, hogy az emelkedett MMP-koncentráció összefügghet a PCOS-ben jellemző fokozott kardiovaszkuláris rizikóval is [207]. *In vitro* fertilizációs kezeléshez történő ovárium stimulációból származó PCOS betegek luteinizáló granulosa sejtek follikuláris folyadékában szignifikánsan magasabb MMP-2 és MMP-9 szinteket mértek egészséges kontroll csoporthoz képest [209].

Lehetséges, hogy a károsító noxától, szervtől, valamint érrégiótól függően (koszorú- és agyi erek) az MMP-k működése eltérő: bizonyos értípusokban, rétegben lebonthatnak alkotóelemeket, ugyanakkor más érterületekben a lebontással párhuzamosan kóros érfal komponensek felszaporodását idézhetik elő, valamint a lebontási és kóros átépülési folyamatok időben egymást követhetik, a különböző értípusok-érrégiók esetében eltérő időtartamúak lehetnek és az érfal-komponensek más-más típusát különböző mértékben érinthetik.

Elképzelhető, hogy a D-vitamin deficiens hím patkányok koronária ereiben azonosított csökkent funkcionális és szöveti elaszticitás, valamint a nőstény agyi erek esetében a D-vitamin deficiens csoportokban és a tesztoszteron-kezelt csoportokban azonosított belső elasztikus membrándenitáz növekedés a mátrix metalloproteinázok D-vitaminhiány hatására kialakuló megváltozott aktivitásának következménye? Nőstény agyi erek esetében a kontraktilis elemekben is bekövetkezett változás [167].

Elképzelhető, hogy D-vitaminhiány és androgén túlsúly hatására a vaszkuláris simaizomsejtek számbeli, méretbeli tulajdonságai, ioncsatorna expressziós mintázata is megváltozik, amely akár szöveti szintű elváltozásokat is eredményezhet?

Fenti gondolatmenetek magyarázhatják az azonosított szöveti változásokat, ugyanakkor e hipotézisek vizsgálatára, valamint a folyamatokban részt vevő specifikus enzimek, molekulák azonosítására, azok aktivitás-változásának feltérképezésére, megismerésére további állatkísérletek és humán vizsgálatok szükségesek.

### **6.3.2. Hím koszorúér immunhisztokémiai vizsgálatok eredményei**

Hím koronária oxidatív-nitratív markerek vizsgálatára elvégzett immunhisztokémiai festések eredményei alapján a D-vitamin deficiens csoportban a HNE szint szignifikáns emelkedést, valamint ezzel párhuzamosan változatlan PAR és NT festődést azonosítottunk.

Az oxidatív-nitratív stressz lipid peroxidációt, fehérje károsodást, DNS/RNS károsodást, valamint számos biomarker megjelenésében bekövetkező változást okozhat. A HNE az egyik leggyakrabban használt lipid peroxidációs marker, valamint a NT szintén széles körben alkalmazott fehérje-károsodás marker [210].

A D-vitamin mind az oxidatív [137], mind a nitrozatív/nitratív stresszt befolyásolja. Alacsony (< 100 NE/kg) D-vitamin tartalmú diéta szignifikáns NT szint növekedést eredményezett hím patkány agyszövetben [211]. DHT-indukált PCOS patkánymodellben a DHT-kezelt nőstények keringő leukocitáiban, ovárium és thoracalis aorta szövetében megnövekedett NT mennyiség mutatkozott, amelyet a D-vitamin-kezelés részben mérsékel [156]. D-vitamin deficiens nőstény patkányok ovárium és májszövetében emelkedett NT szint mutatkozott [212].

A HNE által módosított makromolekulák felhalmozódása jelentősen befolyásol számos sejtfunkciót, sejt-sejt kölcsönhatást és metabolizmust: DNS-RNS-fehérje szintézis gátlást, mitokondriális diszfunkciót, fehérje aggregációt, sejtciklus gátlást, sejthalált és károsodott DNS-repair mechanizmust okozhat [213]. Abdominális aorta aneurizmával rendelkező páciensek szérumban a fehérje-kötött HNE szintje szignifikánsan magasabbnak bizonyult kontroll betegekben mértékhez képest, ami erősíti az oxidatív stressz patogén szerepét e vaszkuláris betegségben [214].

Kísérletünk során a megnövekedett HNE szint arra utal, hogy az azonosított elváltozások háttérében iniciális lipid peroxidáció formájában jelentkező oxidatív



károsodás állhat, mivel ezzel párhuzamosan a peroxinitrit és egyéb reaktív szabadgyökök termelése változatlan volt, a PAR és NT szintjében nem észleltünk változást. Egy, a miénkhez hasonló állatmodellben hím Wistar patkányok aortagyűrűiben a D-vitamin deficiens diéta megnövekedett vaszkuláris oxidatív stresszt eredményezett [215]. Leírásra került, hogy a megnövekedett lipid peroxidáció és a HNE produkció számos vaszkuláris betegséggel korrelál: ateroszklerózissal, cukorbetegséggel, valamint várandóssággal összefüggő betegségekkel [216].

A „*Nuclear factor erythroid 2-related faktor 2*” (Nrf2) szignál-transzdukciós rendszer az oxidatív károsodással szembeni ellenállás, az endogén védekező mechanizmusok, a gyulladás egyik legfőbb regulátora, valamint számos sejttípus és szervrendszer védelmezője [217]. Az Nrf2 szabályozza azon géneket, amelyek antioxidáns válaszelemeket („*Antioxidant Response Elements*”) tartalmaznak és ezen gének expressziójának szabályozásával csökkentheti az oxidatív stresszt [218].

E szignál-transzdukciós útvonal downregulációja oxidatív károsodáshoz, oxidatív stresszhez vezethet és mátrix metalloproteinázokat aktiválhat, valamint mindez ellenkező irányban is működhet: az oxidatív stressz hatással van az Nrf2 jelátvitelre és az MMP funkciókra. Hím Nrf2 knock-out kontroll egerek kortikális agyszövet lizátumában szignifikánsan magasabb HNE és NT szintek és szignifikánsan megnövekedett MMP-2 és MMP-9 szintek voltak mérhetőek a vad típusú kontroll állatokhoz képest traumás agysérülés állatmodellben [217]. Az oxidatív stressz módosíthatja az Nrf2-jelátvitelt továbbá azáltal, hogy megváltoztatja a jelátvitel elemeinek lebomlását, degradációját [218, 219].

A megnövekedett oxidatív stressz szintén hozzájárulhat a mátrix metalloproteinázok fokozott aktivációjához, amely elasztinolízist és vaszkuláris remodellinget eredményezhet [220].

A D-vitamin jótékony hatással lehet erre a jelátviteli útvonalra és annak hatásaira, azonban kevés tanulmány vizsgálja a köztük lévő kapcsolatot. Alzheimer-kór patkánymodelljében a D-vitamin analóggal történt kezelés szignifikánsan növelte az Nrf2 expressziót és szignifikánsan csökkentette egy lipid peroxidációs marker, a malondialdehid szintet a kezeletlen kontroll csoporthoz képest [221].

Egy másik tanulmány azt feltételezi, hogy a litokólsav képes kötődni a D-vitamin receptorhoz, és a VDR aktiválja az Nrf2 jelátviteli utat és ezáltal eredményezi a litokólsav sérült intesztinális barrier funkciókra kifejtett jótékony hatását [222].

Fenti ismeretek alapján a lipid peroxidáció lehet az első lépés, amely triggerelheti és kiválthatja a korai, kezdeti érkárosodásokat hím koszorúerekben, valamint a vaszkuláris diszfunkció és az oxidatív károsodás közötti molekuláris kapcsolat része lehet a különböző károsító tényezők hatására bekövetkező megváltozott Nrf2 szignáltranszdukciós útvonal és megváltozott aktivitású mátrix metalloproteinázok működése.

## 6.4. Érbio mechanikai és szövettani-immunhisztokémiai változások összefoglalása és összefüggései koszorú- és agyi erekben

A két nemre és két különböző érrégióra vonatkozó D-vitaminhiány és hiperandrogén állapot hatására kialakult eredményeinket összefoglalva:

Hím D-vitamin deficiens koronária erekben azonosított csökkent belső sugár, megnövekedett falvastagság és falvastagság-lumenátmérő hányados a változatlan fal keresztmetszeti területtel belső eutróphiás remodelling kialakulását igazolja. Emellett a csökkent tangenciális feszülés és inkrementális elasztikus modulus, valamint a csökkenő tendenciát mutató miogén tónus ezen erek funkcionális elasztikus tulajdonságainak károsodására utal, amelyet a tunica media réteg szövettanilag vizsgált csökkent optikai denzitása, változatlan simaizom sejtmagszáma és  $\alpha$ -SMA expressziója szintén alátámaszt. Oxidatív-nitratív paraméterek immunhisztokémiai vizsgálatával a változatlan PAR és NT szint, valamint kifejezett HNE szint-emelkedés mutatkozott, amely eredmények az azonosított érbiomechanikai és szövettani változások hátterében oxidatív károsodást, azon belül kezdeti lipid peroxidációt valószínűsítnek.

Nőstény D-vitamin deficiens és hiperandrogén agyi erekben a szintén csökkent belső sugár, megnövekedett falvastagság és változatlan fal keresztmetszeti terület ugyancsak belső eutróphiás remodelling kialakulására utal. A csökkent tangenciális falfeszülés, a változatlan inkrementális elasztikus modulus és disztenziilitás, valamint a teljes nyomástartományon csökkent miogén tónus a funkcionális tulajdonságok megváltozásának hátterében az érfal-komponensek minőségének és mennyiségének, arányának módosulására utalnak. Önálló D-vitaminhiányban alacsony nyomásokon szintén csökkenő tendenciájú, magasabb nyomásokon már csökkent miogén tónus mutatkozott.

Szövettani vizsgálatok alapján mind önálló D-vitaminhiányban és D-vitaminhiánnyal társuló hiperandrogén állapot esetén a belső elasztikus membrán denzitásának növekedése (és a tunica media réteg vastagságának csökkenése) volt megfigyelhető, ami a kóros érremodelling létrejöttét magyarázhatja. Nőstényekben önálló D-vitaminhiányban még nem alakult ki remodelling, azonban már elkezdődhetett az erek biomechanikai és szövettani tulajdonságainak megváltozása.

Mivel a D-vitaminhiány és a hiperandrogén állapotok egyik nemben sem okoztak különbséget a vérnyomás értékekben, a változatlan vérnyomás és a kialakult érremodelling prehipertenzív károsodásnak megfeleltethető.

Az azonosított funkcionális, mechanikai és strukturális-szöveti léziók változatlan vérnyomás esetén megnövekedett vaszkuláris ellenállást eredményeznek, ezáltal a koronária és a cerebri perfúzió károsodik, amely a szív és az agy vérellátásának romlásához vezethet.

Eredményeink összhangban állnak *Björn Folkow (1921-2012)* hipotézisével, miszerint nemcsak farmakológiai (renin-angiotenzin rendszer), hanem számos vaszkuláris - mechanikai tényező is részt vesz a hipertónia kialakulásában [223, 224].

Klasszikus nézet szerint egy adott ligandum képes a saját receptorának expresszióját upregulálni, tehát a D-vitamin fokozni képes saját receptorának expresszióját.

Azonban újabban leírásra kerültek a D-vitamin receptor D-vitamin-függő és -független hatásai, valamint a D-vitamin VDR-függő és -független hatásai. Ezek alapján megkülönböztethetők D-vitamin-független és D-vitamin-függő szervek és szövetek [225]. Ennek következtében D-vitaminhiányos állapotban néhány szerv és szövet VDR-expressziója növekedhet, így a D-vitamin ellátottság nem befolyásolja a célszerv funkcióját. Ezzel szemben D-vitamin-függőség állapotában, a szerv vagy a szövet nem képes receptor upregulációval adaptálódni a koncentrációváltozásokhoz, ezáltal érzékennyé és sérülékennyé válhat a D-vitamin deficienciával szemben.

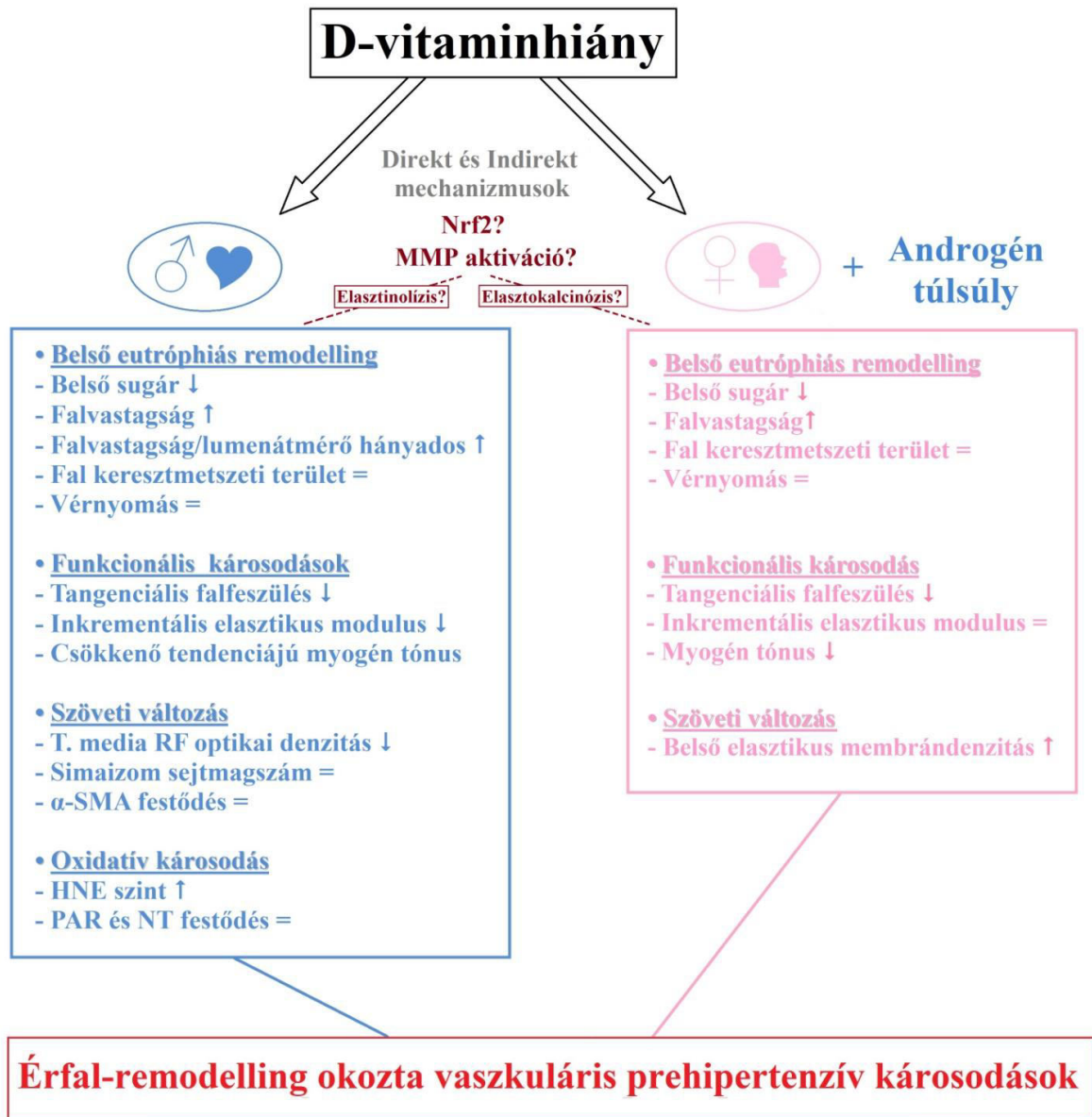
Jelenlegi és korábbi állatkísérletes eredményeink alapján, a szívből és agyból származó kiserek funkcionális és morfológiai tulajdonságait jelentősen befolyásolja a D-vitamin homeosztázis, mivel extrém D-vitamin deficiens milióban kifejezett változásokon mennek keresztül [34, 149, 162, 163, 166, 167], azonban ezen károsodások pathomechanizmusa vizsgálataink és eredményeink alapján attól függ, hogy a vizsgált erek melyik nemből, mely szervből és érrégióból származnak.

D-vitaminhiány és hiperandrogén állapot hatására bekövetkező érremodelling kialakulásában hím koronária és nőstény agyi érszégmensek esetében más-más pathomechanizmust feltételezünk:

Hím D-vitamin deficiens koronária erekben a csökkent funkcionális és szöveti elasztikus tulajdonságok hátterében a mátrix metalloproteinázok megváltozott

működése által előidézett elasztikus komponensek csökkenése, valamint a kezdeti lipid peroxidáció formájában jelentkező oxidatív károsodás feltételezhető, melyek többek között az Nrf2 szignáltranszdukciós útvonalon kapcsolódhatnak egymáshoz.

Nőstény D-vitaminhiányos és hiperandrogén agyi erekben a kóros elasztin felhalmozódás hátterében szintén a mátrix metalloproteinázok megváltozott működését feltételezzük [17. ábra].



17. ábra. Kísérleteink eredményeinek és a feltételezett pathomechanizmusok összefoglalása.

Rövidítések: ♂♥: Hím koronária erek; ♀🧠: Nőstény agyi erek;

MMP: mátrix metalloproteináz; T.media: tunica media; RF: Resorcin-fuchsin;

HNE: 4-hidroxi-2-nonenál; PAR: Poli(ADP)ribóz; NT: 3-nitrotirozin.

## 7. Következtetések

Állatkísérleteink során érbiomechanikai és szövettani vizsgálatokat végeztünk a D-vitaminhiány és az androgén hatás interakcióinak tanulmányozására hím és nőstény állatokban. Eltérő D-vitamin ellátottság hatását vizsgáltuk a szív közvetlen vérellátásáért felelős intramurális, bal anterior deszcendens koronária arteriola szegmensek érbiomechanikai-funkcionális és szöveti tulajdonságaira, valamint oxidatív károsodás markereire hím patkánymodellben. A D-vitaminhiány különböző modellekben való szerepeltetése és változatos érrégiók tanulmányozása érdekében nőstény patkányokban vizsgáltuk az eltérő D-vitamin ellátottság, a hiperandrogén állapot (Policisztás Ovárium Szindróma modell), valamint e két károsító noxa együttes hatásait az agy közvetlen vérellátásáért többek közt felelős artéria cerebri anterior A2 szegmenseinek funkcionális-érbiomechanikai és hisztológiai tulajdonságaira.

Eredményeink alapján D-vitamin deficiens hím koronária szegmensekben belső eutrófiás remodelling, funkcionális és szöveti szintű elasztikus elemeket érintő károsodás, valamint kezdeti lipid peroxidáció mutatkozott változatlan vérnyomás mellett, ami prehipertenzív elváltozásra utal. Az azonosított ártalmak hátterében a D-vitaminhiány hatására megváltozott mátrix metalloproteináz működést és expressziót, az oxidatív károsodás iniciális lépéseként megjelenő lipid peroxidációt feltételezzük.

Kutatásunk során D-vitaminhiányos és hiperandrogén nőstény agyi szegmensekben szintén változatlan vérnyomás mellett belső eutrófiás remodellinget, prehipertenzív károsodást, csökkent miogén funkciót, valamint szöveti szinten az elasztikus és kontraktilis elemek változását azonosítottuk. Önálló D-vitamin hiányállapotban e károsodások még csak részben jelentkeztek. A feltárt elváltozások hátterében a D-vitaminhiányos állapot és az androgén túlsúly hatására bekövetkező megváltozott mátrix metalloproteináz működést és expressziót valószínűsítjük.

Mindezzel egyidejűleg a D-vitamin szupplementáció és D-vitamin deficiencia nemi különbségeit is megfigyeltük: nőstényekben ugyanazon szupplementációs protokoll magasabb 25-hidroxi-D<sub>3</sub>-vitamin szinteket eredményezett, míg hímekben a D-vitaminhiány bizonyult markánsabbnak, amely eredmények a D-vitamin homeosztázis nemi különbségeire engednek következtetni.

Összefoglalva, PhD-disszertációm új megállapításai a következők:

- A D-vitaminhiány hím koszorúereken:
  - csökkent belső sugarat, megnőtt falvastagságot és falvastagság-lumenátmérő hányadost eredményezett, változatlan falkeresztmetszeti terület mellett, mindez belső eutrófiás remodelling kialakulására utal. Változatlan vérnyomásértékek mellett ezen eltérések prehipertenzív elváltozásokként azonosíthatók.
  - csökkent tangenciális feszülést, inkrementális elasztikus modulust és csökkenő tendenciát mutató miogén tónust okozott.
  - szöveti szintű változás is kialakult: csökkent a tunica media réteg optikai denzitása, emelkedett egy oxidatív stressz marker, a 4-hidroxi-nonenál szint kifejezett emelkedést mutatott.
- A D-vitaminhiány és a hiperandrogén állapot nőstény agyi ereken:
  - csökkent belső sugarat, megnövekedett falvastagságot eredményezett, változatlan keresztmetszeti terület mellett, tehát belső eutrófiás remodelling alakult ki, a vérnyomás változatlansága prehipertenzív károsodások létrejöttét igazolja.
  - csökkent tangenciális feszülést és csökkent miogén tónust okozott, önálló D-vitaminhiányban még csak a magasabb nyomástományokon bekövetkező miogén tónus csökkenés volt megfigyelhető.
  - a D-vitamin hiányállapot és a hiperandrogén állapot együtt és külön-külön is az erek belső elasztikus membrán dezitálásának növekedését eredményezte.

## 8. Összefoglalás, Summary

**Bevezetés:** Az eltérő D-vitamin státusz szív- és agyi érrendszerre kifejtett hatásai férfi és női nemből kevésbé ismert endokrinológiai - keringésélettani terület. **Célkitűzésünk** a szív és az agy közvetlen vérellátásáért felelős, különböző érégióból származó kiserek alkalmazkodásának, változásainak, esetleges károsodásainak direkt vizsgálata eltérő D-vitamin ellátottság esetén, valamint a D-vitamin hiányállapot és androgén hatás interakcióinak vizsgálata a hím és női nemből, rágcsáló modellben. **Módszerek:** 8 hét alatt hím és nőstény Wistar patkányokban eltérő D-vitamin státuszt, D-vitaminhiányt idéztünk elő, nőstényekben emellett hiperandrogén állapotot is létrehoztunk. Bal anterior deszcendens koronária artéria és anterior cerebri artéria szegmensek biomechanikai és funkcionális tulajdonságait mikroangiometriával vizsgáltuk. Az erek másik része szövettani feldolgozásra került. **Eredmények:** Azonos D-vitamin-pótlás szignifikánsan magasabb 25(OH)D<sub>3</sub> szintet eredményezett nőstényekben a hímekhez képest. D-vitaminhiányos hímek koszorúereiben szignifikánsan kisebb belső sugár, megnövekedett falvastagság és falvastagság-lumenátmérő hányados és változatlan fal keresztmetszeti terület mellett szignifikánsan csökkent tangenciális feszülés, inkrementális elasztikus modulus volt megfigyelhető. D-vitaminhiányos hím coronariák tunica media rétegében szignifikánsan csökkent a resorcin-fuchsin optikai denzitás és szignifikánsan megnövekedett lipid peroxidációs marker szint mutatkozott. D-vitaminhiányos hiperandrogén nőstény agyi erekben szintén szignifikánsan csökkent belső sugár, megnövekedett falvastagság és változatlan fal keresztmetszeti terület mellett szignifikánsan csökkent tangenciális feszülés, változatlan inkrementális elasztikus modulus és disztenzibilitás mutatkozott, amelyet szignifikánsan csökkent miogén tónus kísért. D-vitaminhiányos hiperandrogén nőstény agyi erek szövettani vizsgálata során szignifikánsan megnövekedett belső elasztikus membrándenititás volt megfigyelhető. D-vitaminhiányos nőstény agyi erekben e károsodások csak részben jelentkeztek. **Következtetések:** Hímekben D-vitaminhiány a koszorúerek belső eutrófiás remodellingjét és csökkent funkcionális működését eredményezte, ennek hátterében az elasztikus komponensek csökkenését és kezdeti oxidatív károsodást találtunk. Női nemből a D-vitaminhiány és hiperandrogén állapot agyi erekben szintén belső eutrófiás remodellinget és funkcionális károsodásokat okozott, ennek hátterében káros elasztikus komponensek felhalmozódását igazoltuk.



**Introduction:** The effects of vitamin D and androgens and their interactions in cardio- and cerebrovascular regulation in male and female gender are a less-known area of endocrinology and circulatory-physiology. Our **aims** were the direct examination of the adaptation, changes and possible damage of small vessels from different vascular regions (responsible for direct blood supply of the heart and brain) in case of different vitamin D supply, and to investigate the interactions between vitamin D deficiency and androgen effect in male and female sex in a rodent model. **Methods:** During an 8-week-long protocol, we induced vitamin D deficiency in male and female Wistar rats. In the female sub-groups, we also created hyperandrogenic state. Biomechanical and functional properties of left anterior descendent coronary artery and anterior cerebral artery segments were examined by microangiometry. Other part of the vessels underwent histological analysis. **Results:** Identical vitamin D supplementation resulted in significantly higher 25(OH)D<sub>3</sub> levels in females compared to males. Vitamin D deficient males had significantly smaller inner radii, increased wall thickness and wall thickness-to-lumen ratio, unchanged wall cross sectional area, significantly reduced tangential stress and incremental elastic modulus. In vitamin D deficient male coronaries the tunica media layer showed significantly reduced optical density and a lipid peroxidation marker was significantly increased. Vitamin D deficient hyperandrogenic female cerebral arterioles had significantly reduced inner radii, enhanced wall thickness, unchanged wall cross sectional area, significantly reduced tangential stress and unaltered incremental elastic modulus and distensibility that was accompanied by significant reduction in myogenic tone. Histological examination of vitamin D deficient hyperandrogenic female cerebri arterioles showed enhanced internal elastic membrane density. In vitamin D deficient female brain vessels these alterations occurred only partially. **Conclusions:** In males, vitamin D deficiency caused inward eutrophic remodeling and decreased functions of coronary arteries. In the background of these changes, we found a decrease in elastic components and initial oxidative damage. In females, vitamin D deficiency and hyperandrogenic state generated inward eutrophic remodeling and functional impairments of cerebral arteries, which was accompanied by the accumulation of abnormal elastic components.

## 9. Irodalomjegyzék

1. Pasipoularides A. (2013) Historical Perspective: Harvey's epoch-making discovery of the Circulation, its historical antecedents, and some initial consequences on medical practice. *J Appl Physiol* (1985), 114(11): 1493-1503.
2. Rahman M, Siddik AB. Anatomy, Arterioles. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2014-, PMID: 32310381, Bookshelf ID: NBK555921.
3. Monos E. Az érfal biomechanikája. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1986: 76-95
4. Monos E. (1986) Biomechanical aspects of blood vessel function. *Connect Tissue Res*, 15(1-2): 85-96.
5. Szallasi A. (1974) [W. M. Bayliss (1880-1924)]. *Orv Hetil*, 115(40): 2380-2381.
6. Szállási Á. III. Fejezet, KÜLFÖLDI ORVOSOKRÓL Születésük időrendjében. W. M. Bayliss (1880-1924). In: Szállási Á (Gazda I). *Orvostörténeti és művelődéstörténeti tanulmányok I. rész. Magyar Tudománytörténeti és Egészségtudományi Intézet, Budapest, 2018: 216-217.*
7. Bayliss WM (1902) On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J Physiol*, 28(3): 220-231.
8. Scotland RS, Chauhan S, Davis C, De Felipe C, Hunt S, Kabir J, Kotsonis P, Oh U, Ahluwalia A. (2004) Vanilloid receptor TRPV1, sensory C-fibers, and vascular autoregulation: a novel mechanism involved in myogenic constriction. *Circ Res*, 95(10): 1027-1034.
9. Harraz OF, Jensen LJ. (2020) Aging, calcium channel signaling and vascular tone. *Mech Ageing Dev*, 191: 111336.
10. Delong C, Sharma S. Physiology, Peripheral Vascular Resistance. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2014-, PMID: 30855892, Bookshelf ID: NBK538308.
11. Barthó L, Pethő G, Kelemen K, Szebeni A. V. A SIMA- ÉS HARÁNTCSÍKOLT IZMOK MŰKÖDÉSÉRE HATÓ SZEREK. 21. A simaizmok működésére ható szerek. In: Gyires K, Fürst Z, Barthó L, Kerpel-

- Fronius S, Szilvássy Z, Varró A (szerk.). A farmakológia alapjai. Második kiadás. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2011: 317-327
12. Mollace V, Muscoli C, Masini E, Cuzzocrea S, Salvemini D. (2005) Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors. *Pharmacol Rev*, 57(2): 217-252.
  13. Angus, JA, Wright CE. (2000) Techniques to study the pharmacodynamics of isolated large and small blood vessels. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 44(2): 395-407.
  14. Mulvany MJ, Halpern W. (1977) Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ Res*, 41(1): 19-26.
  15. Nadasy GL, Szekeres M, Dezsi L, Varbiro S, Szekacs B, Monos E. (2001) Preparation of intramural small coronary artery and arteriole segments and resistance artery networks from the rat heart for microarteriography and for in situ perfusion video mapping. *Microvasc Res*, 61(3): 282-286.
  16. Casey S, Herath C, Rajapaksha I, Jones R, Angus P. (2018) Effects of angiotensin-(1-7) and angiotensin II on vascular tone in human cirrhotic splanchnic vessels. *Peptides*, 108: 25-33.
  17. Costa ED, Silva JF, Garcia DC, Wainstein AJ, Rezende BA, Tostes RC, Teixeira MM, Cortes SF, Lemos VS. (2020) Decreased expression of neuronal nitric oxide synthase contributes to the endothelial dysfunction associated with cigarette smoking in human. *Nitric Oxide*, 98: 20-28.
  18. Toth M, Nadasy GL, Nyar I, Kerenyi T, Monos E. (2000) Are there systemic changes in the arterial biomechanics of intracranial aneurysm patients? *Pflugers Arch*, 2000. 439(5): 573-578.
  19. Wappler EA, Antal P, Varbiro S, Szekacs B, Simon A, Nagy Z, Monos E, Nadasy GL. (2013) Network remodeling of intramural coronary resistance arteries in the aged rat: a statistical analysis of geometry. *Mech Ageing Dev*, 134(7-8): 307-313.
  20. Monori-Kiss A, Antal P, Szekeres M, Varbiro S, Fees A, Szekacs B, Nadasy GL. (2020) Morphological remodeling of the intramural coronary resistance

- artery network geometry in chronically Angiotensin II infused hypertensive female rats. *Heliyon*, 6(4): e03807.
21. Goodwill AG, Dick GM, Kiel AM, Tune JD. (2017) Regulation of Coronary Blood Flow. *Compr Physiol*, 7(2): 321-382.
  22. Juhasz-Nagy S. (1999) [Pathological action of endothelin-1 on the heart: coronary spasm and arrhythmia]. *Orv Hetil*, 140(25): 1395-1401.
  23. Varbiro S, Matrai M, Szekeres M, Nadasy GL, Szaky E, Mericli M, Banhidy F, Monos E, Szekacs B. (2006) Intramural coronary artery constrictor reactivity to thromboxane is higher in male than in female rats. *Gynecol Endocrinol*, 22(1): 44-47.
  24. Arsyad A, Dobson GP. (2016) Adenosine relaxation in isolated rat aortic rings and possible roles of smooth muscle Kv channels, KATP channels and A2a receptors. *BMC Pharmacol Toxicol*, 17(1): 23.
  25. Sun C, Jiao T, Merkus D, Duncker DJ, Mustafa SJ, Zhou Z. (2019) Activation of adenosine A2A but not A2B receptors is involved in uridine adenosine tetraphosphate-induced porcine coronary smooth muscle relaxation. *J Pharmacol Sci*, 141(1): 64-69.
  26. LeBlanc AJ, Kelm NQ. (2017) Thrombospondin-1, Free Radicals, and the Coronary Microcirculation: The Aging Conundrum. *Antioxid Redox Signal*, 27(12): 785-801.
  27. Lee PM, Gerriets V. Nitrates. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2014-, PMID: 31424733, Bookshelf ID: NBK545149.
  28. Sorop O, van de Wouw J, Chandler S, Ohanyan V, Tune JD, Chilian WM, Merkus D, Bender SB, Duncker DJ. (2020) Experimental animal models of coronary microvascular dysfunction. *Cardiovasc Res*, 116(4): 756-770.
  29. Fazmin IT, Achercouk Z, Edling CE, Said A, Jeevaratnam K. (2020) Circulating microRNA as a Biomarker for Coronary Artery Disease. *Biomolecules*, 10(10): 1354
  30. Murgia A, Balestrieri A, Crivelli P, Suri JS, Conti M, Cademartiri F, Saba L. (2020) Cardiac computed tomography radiomics: an emerging tool for the non-invasive assessment of coronary atherosclerosis. *Cardiovasc Diagn Ther*, 10(6): 2005-2017.

31. Toia P, La Grutta L, Smeraldi T, Agnello F, Grassedonio E, Maffei E, Midiri M, Cademartiri F. (2020) Updated diagnostic & prognostic paradigm for CAD: a narrative review. *Cardiovasc Diagn Ther*, 10(6): 1979-1991.
32. Yu R, Lui F. Neuroanatomy, Brain Arteries. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2014-, PMID: 31751084, Bookshelf ID: NBK549894.
33. Benyo Z, Ruisanchez E, Leszl-Ishiguro M, Sandor P, Pacher P. (2016) Endocannabinoids in cerebrovascular regulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 310(7): H785-H801.
34. Pal E, Hadjadj L, Fontanyi Z, Monori-Kiss A, Mezei Z, Lippai N, Magyar A, Heinzlmann A, Karvaly G, Monos E, Nadasy G, Benyo Z, Varbiro S. (2018) Vitamin D deficiency causes inward hypertrophic remodeling and alters vascular reactivity of rat cerebral arterioles. *PLoS One*, 13(2): e0192480.
35. Ruisanchez E, Cselenyak A, Papp RS, Nemeth T, Kaldi K, Sandor P, Benyo Z. (2012) Perivascular expression and potent vasoconstrictor effect of dynorphin A in cerebral arteries. *PLoS One*, 7(5): e37798.
36. Wahl M, Schilling L. (1993) Regulation of cerebral blood flow--a brief review. *Acta Neurochir Suppl (Wien)*, 59: 3-10.
37. Cipolla MJ. The Cerebral Circulation. Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function. Morgan & Claypool Life Sciences, San Rafael, California, USA, 2009: 1-59.
38. Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. (1990) Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*, 2(2): 161-192.
39. Ross JM, Kim C, Allen D, Crouch EE, Narsinh K, Cooke DL, Abla AA, Nowakowski TJ, Winkler EA. (2020) The Expanding Cell Diversity of the Brain Vasculature. *Front Physiol*, 11: 600767.
40. Delgado MG, Bogousslavsky J. (2020) Cerebral Hyperperfusion Syndrome and Related Conditions. *Eur Neurol*, 83(5): 453-457.
41. Wang J, Zhang P, Tang Z. (2020) Animal models of transient ischemic attack: a review. *Acta Neurol Belg*, 120(2): 267-275.

42. Bai Q, Sheng Z, Liu Y, Zhang R, Yong VW, Xue M. (2020) Intracerebral haemorrhage: from clinical settings to animal models. *Stroke Vasc Neurol*, 5(4): 388-395.
43. Gross BA, Jankowitz BT, Friedlander RM. (2019) Cerebral Intraparenchymal Hemorrhage: A Review. *JAMA*, 321(13): 1295-1303.
44. Doubal FN, Hokke PE, Wardlaw JM. (2009) Retinal microvascular abnormalities and stroke: a systematic review. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 80(2): 158-165.
45. Mookiah MRK, Hogg S, MacGillivray TJ, Prathiba V, Pradeepa R, Mohan V, Anjana RM, Doney AS, Palmer CNA, Trucco E. (2020) A review of machine learning methods for retinal blood vessel segmentation and artery/vein classification. *Med Image Anal*, 68: 101905.
46. Wong TY, Klein R, Klein BE, Tielsch JM, Hubbard L, Nieto FJ. (2001) Retinal microvascular abnormalities and their relationship with hypertension, cardiovascular disease, and mortality. *Surv Ophthalmol*, 46(1): 59-80.
47. Fuentes N, Silveyra P. (2019) Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 116: 135-170.
48. Weinbauer GF, Luetjens CM, Simoni M, Nieschlag E. 2. Physiology of Testicular Function. In: Nieschlag E, Behre HM, Nieschlag S. *Andrology. Male Reproductive Health and Dysfunction*. 3rd, Completely Revised and Updated Edition. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg. 2010: 11-59.
49. Hariri L, Rehman A. Estradiol. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2014-, PMID: 31747204, Bookshelf ID: NBK549797.
50. Grandi G, Del Savio MC, Lopes da Silva-Filho A, Facchinetti F. (2020) Estetrol (E4): the new estrogenic component of combined oral contraceptives. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 13(4): 327-330.
51. Aryan L, Younessi D, Zargari M, Banerjee S, Agopian J, Rahman S, Borna R, Ruffenach G, Umar S, Eghbali M. (2020) The Role of Estrogen Receptors in Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*, 21(12): 4314
52. Guivarc'h E, Buscato M, Guihot AL, Favre J, Vessieres E, Grimaud L, Wakim J, Melhem NJ, Zahreddine R, Adlanmerini M, Loufrani L, Knauf C, Katzenellenbogen JA, Katzenellenbogen BS, Foidart JM, Gourdy P, Lenfant F,

- Arnal JF, Henrion D, Fontaine C. (2018) Predominant Role of Nuclear Versus Membrane Estrogen Receptor alpha in Arterial Protection: Implications for Estrogen Receptor alpha Modulation in Cardiovascular Prevention/Safety. *J Am Heart Assoc*, 7(13): e008950
53. Gurrula R, Kilanowski-Doroh IM, Hutson DD, Ogola BO, Zimmerman MA, Katakam PVG, Satou R, Mostany R, Lindsey SH. (2021) Alterations in the estrogen receptor profile of cardiovascular tissues during aging. *Geroscience*, 43(1): 433-442
  54. Pagano MT, Ortona E, Dupuis ML. (2020) A Role for Estrogen Receptor alpha36 in Cancer Progression. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 11: 506.
  55. Kim KH, Young BD, Bender JR. (2014) Endothelial estrogen receptor isoforms and cardiovascular disease. *Mol Cell Endocrinol*, 389(1-2): 65-70.
  56. Holesh JE, Bass AN, Lord M. Physiology, Ovulation. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2014-, PMID: 28723025, Bookshelf ID: NBK441996.
  57. Kakucs R, Varbiro S, Nadasy GL, Monos E, Szekacs B. (2001) Acute, nongenomic vasodilatory action of estradiol is attenuated by chronic estradiol treatment. *Exp Biol Med (Maywood)*, 226(6): 538-542.
  58. Kakucs R, Varbiro S, Szekacs B, Nadasy GL, Acs N, Monos E. (1998) Direct relaxing effect of estradiol-17beta and progesterone on rat saphenous artery. *Microvasc Res*, 56(2): 139-143.
  59. Yang XP, Reckelhoff JF. (2011) Estrogen, hormonal replacement therapy and cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 20(2): 133-138.
  60. Zhao D, Guallar E, Ouyang P, Subramanya V, Vaidya D, Ndumele CE, Lima JA, Allison MA, Shah SJ, Bertoni AG, Budoff MJ, Post WS, Michos ED. (2018) Endogenous Sex Hormones and Incident Cardiovascular Disease in Post-Menopausal Women. *J Am Coll Cardiol*, 71(22): 2555-2566.
  61. Handelsman DJ. Androgen Physiology, Pharmacology, Use and Misuse. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, McGee EA, McLachlan R, Morley JE, New M, Purnell J, Sahay R, Singer F, Stratakis CA,

- Trence DL, Wilson DP (szerk.). Endotext [Internet]. MDText.com, Inc., South Dartmouth, Massachusetts, USA, 2000-, PMID: 25905231. Bookshelf ID: NBK279000.
62. Storbeck KH, Mostaghel EA. (2019) Canonical and Noncanonical Androgen Metabolism and Activity. *Adv Exp Med Biol*, 1210: 239-277.
  63. Mostaghel EA. (2014) Beyond T and DHT - novel steroid derivatives capable of wild type androgen receptor activation. *Int J Biol Sci*, 10(6): 602-613.
  64. Moravek MB, Kinnear HM, George J, Batchelor J, Shikanov A, Padmanabhan V, Randolph JF. (2020) Impact of Exogenous Testosterone on Reproduction in Transgender Men. *Endocrinology*, 161(3): bqaa014
  65. Vogiatzi M, Tursi JP, Jaffe JS, Hobson S, Rogol AD. (2021) Testosterone Use in Adolescent Males: Current Practice and Unmet Needs. *J Endocr Soc*, 5(1): bvaa161.
  66. Perry JC, Schuetz TM, Memon MD, Faiz S, Cancarevic I. (2020) Anabolic Steroids and Cardiovascular Outcomes: The Controversy. *Cureus*, 12(7): e9333.
  67. Abi-Ghanem C, Robison LS, Zuloaga KL. (2020) Androgens' effects on cerebrovascular function in health and disease. *Biol Sex Differ*, 11(1): 35.
  68. Lu C, Brown LC, Antonarakis ES, Armstrong AJ, Luo J. (2020) Androgen receptor variant-driven prostate cancer II: advances in laboratory investigations. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 23(3): 381-397.
  69. Tietz KT, Dehm SM. (2020) Androgen receptor variants: RNA-based mechanisms and therapeutic targets. *Hum Mol Genet*, 29(R1): R19-R26.
  70. Watson PA, Chen YF, Balbas MD, Wongvipat J, Socci ND, Viale A, Kim K, Sawyers CL. (2010) Constitutively active androgen receptor splice variants expressed in castration-resistant prostate cancer require full-length androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107(39): 16759-16765.
  71. Agiannitopoulos K, Bakalgianni A, Marouli E, Zormpa I, Manginas A, Papamenzelopoulos S, Lamnissou K. (2016) Gender Specificity of a Genetic Variant of Androgen Receptor and Risk of Coronary Artery Disease. *J Clin Lab Anal*, 30(3): 204-207.



72. Carbajal-Garcia A, Reyes-Garcia J, Montano LM. (2020) Androgen Effects on the Adrenergic System of the Vascular, Airway, and Cardiac Myocytes and Their Relevance in Pathological Processes. *Int J Endocrinol*, 2020: 8849641.
73. Lorigo M, Mariana M, Oliveira N, Lemos MC, Cairrao E. (2020) Vascular Pathways of Testosterone: Clinical Implications. *J Cardiovasc Transl Res*, 13(1): 55-72.
74. Lucas-Herald AK, Alves-Lopes R, Montezano AC, Ahmed SF, Touyz RM. (2017) Genomic and non-genomic effects of androgens in the cardiovascular system: clinical implications. *Clin Sci (Lond)*, 131(13): 1405-1418.
75. Michels G, Hoppe UC. (2008) Rapid actions of androgens. *Front Neuroendocrinol*, 29(2): 182-198.
76. Dandona P, Dhindsa S, Ghanim H, Saad F. (2021) Mechanisms underlying the metabolic actions of testosterone in humans: A narrative review. *Diabetes Obes Metab*, 23(1): 18-28.
77. Kaufman JM, Lapauw B. (2020) Role of testosterone in cognition and mobility of aging men. *Andrology*, 8(6): 1567-1579.
78. Yeap BB, Dwivedi G, Chih HJ, Reid C. Androgens and Cardiovascular Disease in Men. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, McGee EA, McLachlan R, Morley JE, New M, Purnell J, Sahay R, Singer F, Stratakis CA, Trencé DL, Wilson DP (szerk.). *Endotext* [Internet]. MDText.com, Inc., South Dartmouth, Massachusetts, USA, 2000-, PMID: 25905374. Bookshelf ID: NBK279151.
79. Chistiakov DA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. (2018) Role of androgens in cardiovascular pathology. *Vasc Health Risk Manag*, 14: 283-290.
80. Nettleship J, Jones R, Channer K, Jones T. (2009) Testosterone and coronary artery disease. *Front Horm Res*, 37: 91-107.
81. Mason KA, Schoelwer MJ, Rogol AD. (2020) Androgens During Infancy, Childhood, and Adolescence: Physiology and Use in Clinical Practice. *Endocr Rev*, 41(3): bnaa003

82. Cooke PS, Nanjappa MK, Ko C, Prins GS, Hess RA. (2017) Estrogens in Male Physiology. *Physiol Rev*, 97(3): 995-1043.
83. Rochira V, Madeo B, Diazzi C, Zirilli L, Daniele S, Carani C. Estrogens and male reproduction. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, McGee EA, McLachlan R, Morley JE, New M, Purnell J, Sahay R, Singer F, Stratakis CA, Trencé DL, Wilson DP (szerk.). *Endotext* [Internet]. MDText.com, Inc., South Dartmouth, Massachusetts, USA, 2000-, PMID: 25905171. Bookshelf ID: NBK278933.
84. Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. (2001) Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod*, 2001. 16(5): 972-978.
85. Makieva S, Saunders PT, Norman JE. (2014) Androgens in pregnancy: roles in parturition. *Hum Reprod Update*, 20(4): 542-559.
86. Walters KA, Handelsman DJ. (2018) Role of androgens in the ovary. *Mol Cell Endocrinol*, 465: 36-47.
87. Rotterdam, ESHRE ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. (2004) Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*, 19(1): 41-47.
88. Rasquin Leon LI, Mayrin JV. Polycystic Ovarian Disease, In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2014-, PMID: 29083730, Bookshelf ID: NBK459251.
89. Jamil AS, Alalaf SK, Al-Tawil NG, Al-Shawaf T. (2015) A case-control observational study of insulin resistance and metabolic syndrome among the four phenotypes of polycystic ovary syndrome based on Rotterdam criteria. *Reprod Health*, 12: 7.
90. Glinborg D, Andersen M. (2017) MANAGEMENT OF ENDOCRINE DISEASE: Morbidity in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*, 176(2): R53-R65.
91. Dokras A. (2013) Cardiovascular disease risk in women with PCOS. *Steroids*, 78(8): 773-776.

92. Thomson RL, Spedding S, Buckley JD. (2012), Vitamin D in the aetiology and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012. 77(3): 343-350.
93. Reckelhoff JF. (2019) Androgens and Blood Pressure Control: Sex Differences and Mechanisms. *Mayo Clin Proc*, 94(3): 536-543.
94. Kharaba ZJ, Buabeid MA, Alfoteih YA. (2020) Effectiveness of testosterone therapy in hypogonadal patients and its controversial adverse impact on the cardiovascular system. *Crit Rev Toxicol*, 50(6): 491-512.
95. Kwong JCC, Krakowsky Y, Grober E. (2019) Testosterone Deficiency: A Review and Comparison of Current Guidelines. *J Sex Med*, 16(6): 812-820.
96. Streed CG Jr, Harfouch O, Marvel F, Blumenthal RS, Martin SS, Mukherjee M. (2017) Cardiovascular Disease Among Transgender Adults Receiving Hormone Therapy: A Narrative Review. *Ann Intern Med*, 167(4): 256-267.
97. Stone T, Stachenfeld NS. (2020) Pathophysiological effects of androgens on the female vascular system. *Biol Sex Differ*, 11(1): 45.
98. Hanel A, Carlberg C. (2020) Vitamin D and evolution: Pharmacologic implications. *Biochem Pharmacol*, 173: 113595.
99. Ramasamy I. (2020) Vitamin D Metabolism and Guidelines for Vitamin D Supplementation. *Clin Biochem Rev*, 41(3): 103-126.
100. Meza-Meza MR, Ruiz-Ballesteros AI, de la Cruz-Mosso U. (2020) Functional effects of vitamin D: From nutrient to immunomodulator. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020: 1-21.
101. Pilz S, Marz W, Cashman KD, Kiely ME, Whiting SJ, Holick MF, Grant WB, Pludowski P, Hilgsmann M, Trummer C, Schwetz V, Lerchbaum E, Pandis M, Tomaschitz A, Grubler MR, Gaksch M, Verheyen N, Hollis BW, Rejnmark L, Karras SN, Hahn A, Bischoff-Ferrari HA, Reichrath J, Jorde R, Elmadfa I, Vieth R, Scragg R, Calvo MS, van Schoor NM, Bouillon R, Lips P, Itkonen ST, Martineau AR, Lamberg-Allardt C, Zittermann A. (2018) Rationale and Plan for Vitamin D Food Fortification: A Review and Guidance Paper. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9: 373.
102. Pludowski P, Karczmarewicz E, Bayer M, Carter G, Chlebna-Sokol D, Czech-Kowalska J, Debski R, Decsi T, Dobrzanska A, Franek E, Gluszko P, Grant

- WB, Holick MF, Yankovskaya L, Konstantynowicz J, Ksiazyk JB, Ksiezopolska-Orlowska K, Lewinski A, Litwin M, Lohner S, Lorenc RS, Lukaszkievicz J, Marcinowska-Suchowierska E, Milewicz A, Misorowski W, Nowicki M, Povoroznyuk V, Rozentryt P, Rudenka E, Shoenfeld Y, Socha P, Solnica B, Szalecki M, Talalaj M, Varbiro S, Zmijewski MA. (2013) Practical guidelines for the supplementation of vitamin D and the treatment of deficits in Central Europe - recommended vitamin D intakes in the general population and groups at risk of vitamin D deficiency. *Endokrynol Pol*, 64(4): 319-327.
103. Hii CS, Ferrante A. (2016) The Non-Genomic Actions of Vitamin D. *Nutrients*, 8(3): 135.
104. Pike JW, Christakos S. (2017) Biology and Mechanisms of Action of the Vitamin D Hormone. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 46(4): 815-843.
105. Ruiz-Ballesteros AI, Meza-Meza MR, Vizmanos-Lamotte B, Parra-Rojas I, de la Cruz-Mosso U. (2020) Association of Vitamin D Metabolism Gene Polymorphisms with Autoimmunity: Evidence in Population Genetic Studies. *Int J Mol Sci*, 21(24): 9626
106. Krul-Poel YH, Snackey C, Louwers Y, Lips P, Lambalk CB, Laven JS, Simsek S. (2013) The role of vitamin D in metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Eur J Endocrinol*, 169(6): 853-865.
107. Mahmoudi T (2009) Genetic variation in the vitamin D receptor and polycystic ovary syndrome risk. *Fertil Steril*, 92(4): 1381-1383.
108. Wehr E, Trummer O, Giuliani A, Gruber HJ, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. (2011) Vitamin D-associated polymorphisms are related to insulin resistance and vitamin D deficiency in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*, 164(5): 741-749.
109. Nunes IFOC, Cavalcante AACM, Alencar MVOB, Carvalho MDF, Sarmiento JLR, Teixeira NSCCA, Paiva AA, Carvalho LR, Nascimento LFM, Cruz MSP, Rogero MM, Lima ACB, Carvalho CMRG. (2020) Meta-Analysis of the Association Between the rs228570 Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and Arterial Hypertension Risk. *Adv Nutr*, 11(5): 1211-1220.

110. Nakhl S, Sleilaty G, Chouery E, Salem N, Chahine R, Fares N. (2019) Fokl vitamin D receptor gene polymorphism and serum 25-hydroxyvitamin D in patients with cardiovascular risk. *Arch Med Sci Atheroscler Dis*, 4: e298-e303.
111. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, Lips P, Munns CF, Lazaretti-Castro M, Giustina A, Bilezikian J. (2019) Skeletal and Extraskelatal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. *Endocr Rev*, 40(4): 1109-1151.
112. Bikle D. (2009) Nonclassic actions of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(1): 26-34.
113. Bikle DD. (2016) Extraskelatal actions of vitamin D. *Ann N Y Acad Sci*, 1376(1): 29-52.
114. Takacs I, Benko I, Toldy E, Wikonkal N, Szekeres L, Bodolay E, Kiss E, Jambrik Z, Szabo B, Merkely B, Valkusz Z, Kovacs T, Szabo A, Grigoreff O, Nagy Z, Demeter J, Horvath HC, Bittner N, Varbiro S, Lakatos P. (2012) [Hungarian consensus regarding the role of vitamin D in the prevention and treatment of diseases]. *Orv Hetil*, 153 Suppl: 5-26.
115. Pludowski P, Grant WB, Bhattoa HP, Bayer M, Povoroznyuk V, Rudenka E, Ramanau H, Varbiro S, Rudenka A, Karczmarewicz E, Lorenc R, Czech-Kowalska J, Konstantynowicz J. (2014) Vitamin d status in central europe. *Int J Endocrinol*, 2014: 589587.
116. Pludowski P, Holick MF, Grant WB, Konstantynowicz J, Mascarenhas MR, Haq A, Povoroznyuk V, Balatska N, Barbosa AP, Karonova T, Rudenka E, Misiorowski W, Zakharova I, Rudenka A, Lukaszkiwicz J, Marciniowska-Suchowierska E, Laszcz N, Abramowicz P, Bhattoa HP, Wimalawansa SJ. (2018) Vitamin D supplementation guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 175: 125-135.
117. Palacios C, Gonzalez L. (2014) Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol*, 144 Pt A: 138-145.
118. Masjedi F, Keshtgar S, Zal F, Talaei-Khozani T, Sameti S, Fallahi S, Kazeroni M. (2020) Effects of vitamin D on steroidogenesis, reactive oxygen species production, and enzymatic antioxidant defense in human granulosa cells of normal and polycystic ovaries. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 197: 105521.

119. Hofer D, Munzker J, Schwetz V, Ulbing M, Hutz K, Stiegler P, Zigeuner R, Pieber TR, Muller H, Obermayer-Pietsch B. (2014) Testicular synthesis and vitamin D action. *J Clin Endocrinol Metab*, 99(10): 3766-3773.
120. Zhao D, Ouyang P, de Boer IH, Lutsey PL, Farag YM, Guallar E, Siscovick DS, Post WS, Kalyani RR, Billups KL, Michos ED. (2017) Serum vitamin D and sex hormones levels in men and women: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Maturitas*, 96: 95-102.
121. De-Regil LM, Palacios C, Lombardo LK, Pena-Rosas JP. (2016) Vitamin D supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*, (1): CD008873.
122. Mu Y, Cheng D, Yin TL, Yang J. (2020) Vitamin D and Polycystic Ovary Syndrome: a Narrative Review. *Reprod Sci*, doi: 10.1007/s43032-020-00369-2 Epub ahead of print.
123. Qiu Y, Yuan S, Wang H. (2020) Vitamin D status in endometriosis: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*, 302(1): 141-152.
124. Lerchbaum E. (2014) Vitamin D and menopause--a narrative review. *Maturitas*, 79(1): 3-7.
125. Kim HS, Cho MC. (2021) Low Serum 25-Hydroxyvitamin D Level as a Potential Risk Factor of Erectile Dysfunction in Elderly Men with Moderate to Severe Lower Urinary Tract Symptoms. *World J Mens Health*, doi: 10.5534/wjmh.200176 Online ahead of print.
126. Canguven O, Al Malki AH. (2021) Vitamin D and Male Erectile Function: An Updated Review. *World J Mens Health*, 39(1): 31-37.
127. Abd El Aal AM, GamalEl Din SF, Rashed LA, Tawfik A, ElSheemy MS. (2018) Serum vitamin D level may be a novel potential risk factor for premature ejaculation: a comparative study. *Int Urol Nephrol*, 50(11): 1975-1980.
128. Canat L, Degirmentepe RB, Atalay HA, Cakir SS, Alkan I, Culha MG, Ozbir S, Canat M. (2019) Low serum vitamin D is associated with an increased likelihood of acquired premature ejaculation. *Int Braz J Urol*, 45(3): 621-628.
129. Cito G, Cocci A, Micelli E, Gabutti A, Russo GI, Coccia ME, Franco G, Serni S, Carini M, Natali A. (2020) Vitamin D and Male Fertility: An Updated Review. *World J Mens Health*, 38(2): 164-177.

130. Trump DL, Aragon-Ching JB. (2018) Vitamin D in prostate cancer. *Asian J Androl*, 20(3): 244-252.
131. Nappi L, Ottaviano M, Rescigno P, Fazli L, Gleave ME, Damiano V, De Placido S, Palmieri G. (2018) Long term deficiency of vitamin D in germ cell testicular cancer survivors. *Oncotarget*, 9(30): 21078-21085.
132. McCombe PA, Greer JM. Chapter 24 - Sexual Dimorphism in the Immune System. In: Rose NR, Mackay IR. *The Autoimmune Diseases*. 4th Edition. Elsevier-Academic Press, Amsterdam-Boston-Heidelberg-London-New York-Oxford-Paris-San Diego-San Francisco-Singapore-Sydney-Tokyo, 2014: 319-328.
133. Crescioli C, Minisola S. (2017) Vitamin D : Autoimmunity and Gender. *Curr Med Chem*, 24(24): 2671-2686.
134. Skaaby T, Thuesen BH, Linneberg A. (2017) Vitamin D, Cardiovascular Disease and Risk Factors. *Adv Exp Med Biol*, 996: 221-230.
135. Trehan N, Afonso L, Levine DL, Levy PD. (2017) Vitamin D Deficiency, Supplementation, and Cardiovascular Health. *Crit Pathw Cardiol*, 16(3): 109-118.
136. Muscogiuri G, Annweiler C, Duval G, Karras S, Tirabassi G, Salvio G, Balercia G, Kimball S, Kotsa K, Mascitelli L, Bhattoa HP, Colao A. (2017) Vitamin D and cardiovascular disease: From atherosclerosis to myocardial infarction and stroke. *Int J Cardiol*, 230: 577-584.
137. Wimalawansa SJ. (2019) Vitamin D Deficiency: Effects on Oxidative Stress, Epigenetics, Gene Regulation, and Aging. *Biology (Basel)*, 8(2): 30.
138. Mozos I, Marginean O. (2015) Links between Vitamin D Deficiency and Cardiovascular Diseases. *Biomed Res Int*, 2015: 109275.
139. Weng S, Sprague JE, Oh J, Riek AE, Chin K, Garcia M, Bernal-Mizrachi C. (2013) Vitamin D deficiency induces high blood pressure and accelerates atherosclerosis in mice. *PLoS One*, 8(1): e54625.
140. Tare M, Emmett SJ, Coleman HA, Skordilis C, Eyles DW, Morley R, Parkington HC. (2011) Vitamin D insufficiency is associated with impaired vascular endothelial and smooth muscle function and hypertension in young rats. *J Physiol*, 589(Pt 19): 4777-4786.

141. Wolf ST, Jablonski NG, Ferguson SB, Alexander LM, Kenney WL. (2020) Four weeks of vitamin D supplementation improves nitric oxide-mediated microvascular function in college-aged African Americans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 319(4): H906-H914.
142. Manson JE, Cook NR, Lee IM, Christen W, Bassuk SS, Mora S, Gibson H, Gordon D, Copeland T, D'Agostino D, Friedenberg G, Ridge C, Bubes V, Giovannucci EL, Willett WC, Buring JE, Vital Research Group. (2019) Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*, 380(1): 33-44.
143. Tice JA, Halalau A, Burke H. (2020) Vitamin D Does Not Prevent Cancer or Cardiovascular Disease: The VITAL Trial : Manson JE, Cook NR, Lee IM, Christen W, Bassuk SS, Mora S, Gibson H, Gordon D, Copeland T, D'Agostino D, Friedenberg G, Ridge C, Bubes V, Giovannucci EL, Willett WC, Buring JE (2019) Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med* 380 (1):33-44. *J Gen Intern Med*, doi: 10.1007/s11606-020-05648-x. Online ahead of print.
144. Bischoff-Ferrari HA, Vellas B, Rizzoli R, Kressig RW, da Silva JAP, Blauth M, Felson DT, McCloskey EV, Watzl B, Hofbauer LC, Felsenberg D, Willett WC, Dawson-Hughes B, Manson JE, Siebert U, Theiler R, Staehelin HB, de Godoi Rezende Costa Molino C, Chocano-Bedoya PO, Abderhalden LA, Egli A, Kanis JA, Orav EJ, Do-Health Research Group. (2020) Effect of Vitamin D Supplementation, Omega-3 Fatty Acid Supplementation, or a Strength-Training Exercise Program on Clinical Outcomes in Older Adults: The DO-HEALTH Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 324(18): 1855-1868.
145. Sun Q, Shi L, Rimm EB, Giovannucci EL, Hu FB, Manson JE, Rexrode KM. (2011) Vitamin D intake and risk of cardiovascular disease in US men and women. *Am J Clin Nutr*, 94(2): 534-542.
146. Kienreich K, Tomaschitz A, Verheyen N, Pieber T, Gaksch M, Grubler MR, Pilz S. (2013) Vitamin D and cardiovascular disease. *Nutrients*, 5(8): 3005-3021.
147. Bouillon R. (2019) Vitamin D and cardiovascular disorders. *Osteoporos Int*, 30(11): 2167-2181.



148. Kannel WB, McGee DL. (1979) Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*, 241(19): 2035-2038.
149. Pal E, Hadjadj L, Fontanyi Z, Monori-Kiss A, Lippai N, Horvath EM, Magyar A, Horvath E, Monos E, Nadasy GL, Benyo Z, Varbiro S. (2019) Gender, hyperandrogenism and vitamin D deficiency related functional and morphological alterations of rat cerebral arteries. *PLoS One*, 14(5): e0216951.
150. Naghii MR, Darvishi P, Ebrahimpour Y, Ghanizadeh G, Mofid M, Hedayati M, Asgari AR. (2012) Effect of combination therapy of fatty acids, calcium, vitamin D and boron with regular physical activity on cardiovascular risk factors in rat. *J Oleo Sci*, 61(2): 103-111.
151. Wang J, Ma XJ, Liu YL, Zhao YY, Li ZZ, Guo F, Ma XK, Wu LN, Teng WP, Qin GJ. (2019) [25-hydroxyvitamin D, sex hormone levels and cardiovascular risk among men in northeast area of Henan province]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 58(9): 673-679.
152. Zittermann A, Ernst JB, Prokop S, Fuchs U, Dreier J, Kuhn J, Knabbe C, Berthold HK, Gouni-Berthold I, Gummert JF, Borgermann J, Pilz S. (2019) Vitamin D supplementation does not prevent the testosterone decline in males with advanced heart failure: the EVITA trial. *Eur J Nutr*, 58(2): 673-680.
153. Bhattoa HP, Nagy E, More C, Kappelmayer J, Balogh A, Kalina E, Antal-Szalmás P. (2013) Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in healthy Hungarian men over 50 years of age: the HunMen Study. *Osteoporos Int*, 24(1): 179-186.
154. Ryu Y, Kim SW, Kim YY, Ku SY. (2019) Animal Models for Human Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) Focused on the Use of Indirect Hormonal Perturbations: A Review of the Literature. *Int J Mol Sci*, 20(11): 2720
155. Shi D, Vine DF. (2012) Animal models of polycystic ovary syndrome: a focused review of rodent models in relationship to clinical phenotypes and cardiometabolic risk. *Fertil Steril*, 98(1): 185-193.
156. Masszi G, Benko R, Csibi N, Horvath EM, Tokes AM, Novak A, Beres NJ, Tarszabo R, Buday A, Repas C, Bekesi G, Patocs A, Nadasy GL, Hamar P, Benyo Z, Varbiro S. (2013) Endothelial relaxation mechanisms and nitrate

- stress are partly restored by Vitamin D3 therapy in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Life Sci*, 93(4): 133-138.
157. Masszi G, Horvath EM, Tarszabo R, Benko R, Novak A, Buday A, Tokes AM, Nadasy GL, Hamar P, Benyo Z, Varbiro S. (2013) Reduced estradiol-induced vasodilation and poly-(ADP-ribose) polymerase (PARP) activity in the aortas of rats with experimental polycystic ovary syndrome (PCOS). *PLoS One*, 8(3): e55589.
  158. Masszi G, Novak A, Tarszabo R, Horvath EM, Buday A, Ruisanchez E, Tokes AM, Sara L, Benko R, Nadasy GL, Revesz C, Hamar P, Benyo Z, Varbiro S. (2013) Effects of vitamin D3 derivative--calcitriol on pharmacological reactivity of aortic rings in a rodent PCOS model. *Pharmacol Rep*, 65(2): 476-483.
  159. Sara L, Antal P, Masszi G, Buday A, Horvath EM, Hamar P, Monos E, Nadasy GL, Varbiro S. (2012) Arteriolar insulin resistance in a rat model of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*, 97(2): 462-468.
  160. Sara L, Nadasy G, Antal P, Szekeres M, Monori-Kiss A, Horvath EM, Tokes AM, Masszi G, Monos E, Varbiro S. (2012) Arteriolar biomechanics in a rat polycystic ovary syndrome model - effects of parallel vitamin D3 treatment. *Acta Physiol Hung*, 99(3): 279-288.
  161. Sara L, Nadasy GL, Antal P, Monori-Kiss A, Szekeres M, Masszi G, Monos E, Varbiro S. (2012) Pharmacological reactivity of resistance vessels in a rat PCOS model - vascular effects of parallel vitamin D(3) treatment. *Gynecol Endocrinol*, 28(12): 961-964.
  162. Hadjadj L, Monori-Kiss A, Horvath EM, Heinzlmann A, Magyar A, Sziva RE, Miklos Z, Pal E, Gal J, Szabo I, Benyo Z, Nadasy GL, Varbiro S. (2019) Geometric, elastic and contractile-relaxation changes in coronary arterioles induced by Vitamin D deficiency in normal and hyperandrogenic female rats. *Microvasc Res*, 122: 78-84.
  163. Hadjadj L, Varbiro S, Horvath EM, Monori-Kiss A, Pal E, Karvaly GB, Heinzlmann A, Magyar A, Szabo I, Sziva RE, Benyo Z, Buday M, Nadasy GL. (2018) Insulin resistance in an animal model of polycystic ovary disease is aggravated by vitamin D deficiency: Vascular consequences. *Diab Vasc Dis Res*, 15(4): 294-301.

164. Atasayan K, Yoldemir T. (2021) The effect of PCOS status on atherosclerosis markers and cardiovascular disease risk factors in young women with vitamin D deficiency. *Gynecol Endocrinol*, 37(3): 225-229
165. Javed Z, Papageorgiou M, Deshmukh H, Kilpatrick ES, Mann V, Corless L, Abouda G, Rigby AS, Atkin SL, Sathyapalan T. (2019) A Randomized, Controlled Trial of Vitamin D Supplementation on Cardiovascular Risk Factors, Hormones, and Liver Markers in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Nutrients*, 11(1): 188
166. Sziva RE, Fontanyi Z, Pal E, Hadjadj L, Monori-Kiss A, Horvath EM, Benko R, Magyar A, Heinzlmann A, Benyo Z, Nadasy GL, Varbiro S. (2020) Vitamin D Deficiency Induces Elevated Oxidative and Biomechanical Damage in Coronary Arterioles in Male Rats. *Antioxidants (Basel)*, 9(10): 997
167. Hadjadj L, Pal E, Monori-Kiss A, Sziva RE, Korsos-Novak A, Horvath EM, Benko R, Magyar A, Magyar P, Benyo Z, Nadasy GL, Varbiro S. (2019) Vitamin D deficiency and androgen excess result eutrophic remodeling and reduced myogenic adaptation in small cerebral arterioles in female rats. *Gynecol Endocrinol*, 35(6): 529-534.
168. Matrai M, Szekacs B, Mericli M, Nadasy GL, Szekeres M, Banhidy F, Bekesi G, Monos E, Varbiro S. (2010) Biomechanics and vasoreactivity of female intramural coronaries in angiotensin II induced hypertension. *Acta Physiol Hung*, 97(1): 31-40.
169. Mulvany MJ. (1994) Mechanical and other factors involved in vascular injury related to hypertension. *Blood Press Suppl*, 1: 11-17.
170. Mulvany MJ. (2012) Small artery remodelling in hypertension. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 110(1): 49-55.
171. Renna NF, de Las Heras N, Miatello RM. (2013) Pathophysiology of vascular remodeling in hypertension. *Int J Hypertens*, 2013: 808353.
172. Mulvany MJ, Hansen OK, Aalkjaer C. (1978) Direct evidence that the greater contractility of resistance vessels in spontaneously hypertensive rats is associated with a narrowed lumen, a thickened media, and an increased number of smooth muscle cell layers. *Circ Res*, 43(6): 854-864.

173. Sayeed I, Turan N, Stein DG, Wali B. (2019) Vitamin D deficiency increases blood-brain barrier dysfunction after ischemic stroke in male rats. *Exp Neurol*, 312: 63-71.
174. Balden R, Selvamani A, Sohrabji F. (2012) Vitamin D deficiency exacerbates experimental stroke injury and dysregulates ischemia-induced inflammation in adult rats. *Endocrinology*, 153(5): 2420-2435.
175. Garcia SR, Izzard AS, Heagerty AM, Bund SJ. (1997) Myogenic tone in coronary arteries from spontaneously hypertensive rats. *J Vasc Res*, 34(2): 109-116.
176. Sokolova IB, Lobov GI. (2019) Cerebral Blood Flow in SHR Rats after Transplantation of Mesenchymal Stem Cells. *Bull Exp Biol Med*, 166(4): 586-590.
177. McNeish AJ, Jimenez Altayo F, Garland CJ. (2010) Evidence both L-type and non-L-type voltage-dependent calcium channels contribute to cerebral artery vasospasm following loss of NO in the rat. *Vascul Pharmacol*, 53(3-4): 151-159.
178. Ádám V. 4. A membránok szerkezete. Membrántranszport-folyamatok. In: Ádám V, Dux L, Faragó A, Fésüs L, Machovich R, Mandl J, Sümegi B. *Orvosi Biokémia*. 3. kiadás. Medicina Könyvkiadó Zrt., Budapest, 2006: 421-444.
179. Wang L, Maldonado L, Beecham GW, Martin ER, Evatt ML, Ritchie JC, Haines JL, Zabetian CP, Payami H, Pericak-Vance MA, Vance JM, Scott WK. (2016) DNA variants in CACNA1C modify Parkinson disease risk only when vitamin D level is deficient. *Neurol Genet*, 2(3): e72.
180. Zhang X, Song Z, Guo Y, Zhou M. (2015) The novel role of TRPC6 in vitamin D ameliorating podocyte injury in STZ-induced diabetic rats. *Mol Cell Biochem*, 399(1-2): 155-165.
181. Nemeth Z, Hildebrandt E, Ryan MJ, Granger JP, Drummond HA. (2020) Pressure-induced constriction of the middle cerebral artery is abolished in TrpC6 knockout mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 319(1): H42-H50.
182. Wei Y, Shin MR, Sesti F. (2018) Oxidation of KCNB1 channels in the human brain and in mouse model of Alzheimer's disease. *Cell Death Dis*, 9(8): 820.

183. Xu C, Lu Y, Tang G, Wang R. (1999) Expression of voltage-dependent K(+) channel genes in mesenteric artery smooth muscle cells. *Am J Physiol*, 277(5): G1055-G1063.
184. Zhong XZ, Abd-Elrahman KS, Liao CH, El-Yazbi AF, Walsh EJ, Walsh MP, Cole WC. (2010) Stromatoxin-sensitive, heteromultimeric Kv2.1/Kv9.3 channels contribute to myogenic control of cerebral arterial diameter. *J Physiol*, 588(Pt 22): 4519-4537.
185. Ogiwara K, Ohya S, Suzuki Y, Yamamura H, Imaizumi Y. (2017) Up-Regulation of the Voltage-Gated KV2.1 K(+) Channel in the Renal Arterial Myocytes of Dahl Salt-Sensitive Hypertensive Rats. *Biol Pharm Bull*, 40(9): 1468-1474.
186. Gezen-Ak D, Dursun E, Yilmazer S. (2011) The effects of vitamin D receptor silencing on the expression of LVSCC-A1C and LVSCC-A1D and the release of NGF in cortical neurons. *PLoS One*, 6(3): e17553.
187. Sonneveld R, Ferre S, Hoenderop JG, Dijkman HB, Berden JH, Bindels RJ, Wetzels JF, van der Vlag J, Nijenhuis T. (2013) Vitamin D down-regulates TRPC6 expression in podocyte injury and proteinuric glomerular disease. *Am J Pathol*, 182(4): 1196-1204.
188. Chesnoy-Marchais D, Fritsch J. (1993) Potassium currents and effects of vitamin D-3 metabolites and cyclic GMP in rat osteoblastic cells. *Biochim Biophys Acta*, 1148(2): 239-248.
189. Li K, Tay FR, Yiu CKY. (2020) The past, present and future perspectives of matrix metalloproteinase inhibitors. *Pharmacol Ther*, 207: 107465.
190. Henriët P, Emonard H. (2019) Matrix metalloproteinase-2: Not (just) a "hero" of the past. *Biochimie*, 166: 223-232.
191. Andrukhova O, Slavic S, Zeitz U, Riesen SC, Heppelmann MS, Ambrisko TD, Markovic M, Kuebler WM, Erben RG. (2014) Vitamin D is a regulator of endothelial nitric oxide synthase and arterial stiffness in mice. *Mol Endocrinol*, 28(1): 53-64.
192. Nsengiyumva V, Krishna SM, Moran CS, Moxon JV, Morton S, Clarke M, Seto SW, Golledge J. (2020) Vitamin D deficiency promotes large rupture-prone abdominal aortic aneurysms and cholecalciferol supplementation limits

- progression of aneurysms in a mouse model. *Clin Sci (Lond)*, 134(18): 2521-2534
193. Aliashrafi S, Ebrahimi-Mameghani M, Jafarabadi MA, Lotfi-Dizaji L, Vaghef-Mehrabany E, Arefhosseini SR. (2020) Effect of high-dose vitamin D supplementation in combination with weight loss diet on glucose homeostasis, insulin resistance, and matrix metalloproteinases in obese subjects with vitamin D deficiency: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Appl Physiol Nutr Metab*, 45(10): 1092-1098
  194. Ebrahim HF, Abdel Hamid FF, Haykal MA, Soliman AF. (2020) Cyclophilin A and matrix metalloproteinase-9: Their relationship, association with, and diagnostic relevance in stable coronary artery disease. *Vascular*, 28(2): 212-221.
  195. Guizani I, Zidi W, Zayani Y, Boudiche S, Hadj-Taieb S, Sanhaji H, Zaroui A, Mechmeche R, Mourali MS, Feki M, Allal-Elasmi M. (2019) Matrix metalloproteinase-3 predicts clinical cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease: a 5 years cohort study. *Mol Biol Rep*, 46(5): 4699-4707.
  196. Li S, Tian Y, Huang X, Zhang Y, Wang D, Wei H, Dong J, Jiang R, Zhang J. (2014) Intravenous transfusion of endothelial colony-forming cells attenuates vascular degeneration after cerebral aneurysm induction. *Brain Res*, 1593: 65-75.
  197. Lai XL, Deng ZF, Zhu XG, Chen ZH. (2019) Apc gene suppresses intracranial aneurysm formation and rupture through inhibiting the NF-kappaB signaling pathway mediated inflammatory response. *Biosci Rep*, 39(3): BSR20181909
  198. Bruno G, Todor R, Lewis I, Chyatte D. (1998) Vascular extracellular matrix remodeling in cerebral aneurysms. *J Neurosurg*, 89(3): 431-440.
  199. Irwin CL, GuzmanRJ. (2009) Matrix metalloproteinases in medial arterial calcification: potential mechanisms and actions. *Vascular*, 17 Suppl 1: S40-S44.
  200. Freise C, Kim KY, Querfeld U. (2015) A *Lindera obtusiloba* Extract Blocks Calcium-/Phosphate-Induced Transdifferentiation and Calcification of Vascular Smooth Muscle Cells and Interferes with Matrix Metalloproteinase-2 and Metalloproteinase-9 and NF-kappaB. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2015: 679238.

201. Price PA, Buckley JR, Williamson MK. (2001) The amino bisphosphonate ibandronate prevents vitamin D toxicity and inhibits vitamin D-induced calcification of arteries, cartilage, lungs and kidneys in rats. *J Nutr*, 131(11): 2910-2915.
202. Jiang W, Zhang Z, Yang H, Lin Q, Han C, Qin X. (2017) The Involvement of miR-29b-3p in Arterial Calcification by Targeting Matrix Metalloproteinase-2. *Biomed Res Int*, 2017: 6713606.
203. Perrotta I, Sciangula A, Aquila S, Mazzulla S. (2016) Matrix Metalloproteinase-9 Expression in Calcified Human Aortic Valves: A Histopathologic, Immunohistochemical, and Ultrastructural Study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 24(2): 128-137.
204. Bouvet C, Moreau S, Blanchette J, de Blois D, Moreau P. (2008) Sequential activation of matrix metalloproteinase 9 and transforming growth factor beta in arterial elastocalcinosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28(5): 856-862.
205. Greenwald SE. (2007) Ageing of the conduit arteries. *J Pathol*, 211(2): 157-172.
206. Bailey M, Pillarisetti S, Jones P, Xiao H, Simionescu D, Vyavahare N. (2004) Involvement of matrix metalloproteinases and tenascin-C in elastin calcification. *Cardiovasc Pathol*, 13(3): 146-155.
207. Lewandowski KC, Komorowski J, O'Callaghan CJ, Tan BK, Chen J, Prelevic GM, Randeve HS. (2006) Increased circulating levels of matrix metalloproteinase-2 and -9 in women with the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 91(3): 1173-1177.
208. Goldman S, Shalev E. (2004) MMPS and TIMPS in ovarian physiology and pathophysiology. *Front Biosci*, 9: 2474-2483.
209. Shalev E, Goldman S, Ben-Shlomo I. (2001) The balance between MMP-9 and MMP-2 and their tissue inhibitor (TIMP)-1 in luteinized granulosa cells: comparison between women with PCOS and normal ovulatory women. *Mol Hum Reprod*, 7(4): 325-331.
210. Steffensen IL, Dirven H, Couderq S, David A, D'Cruz SC, Fernandez MF, Mustieles V, Rodriguez-Carrillo A, Hofer T. (2020) Bisphenols and Oxidative Stress Biomarkers-Associations Found in Human Studies, Evaluation of

- Methods Used, and Strengths and Weaknesses of the Biomarkers. *Int J Environ Res Public Health*, 17(10): 3609
211. Keeney JTR, Forster S, Sultana R, Brewer LD, Latimer CS, Cai J, Klein JB, Porter NM, Butterfield DA. (2013) Dietary vitamin D deficiency in rats from middle to old age leads to elevated tyrosine nitration and proteomics changes in levels of key proteins in brain: implications for low vitamin D-dependent age-related cognitive decline. *Free Radic Biol Med*, 65: 324-334.
  212. Lajtai K, Nagy CT, Tarszabo R, Benko R, Hadjadj L, Sziva RE, Gerszi D, Banyai B, Ferdinandy P, Nadasy GL, Giricz Z, Horvath EM, Varbiro S. (2019) Effects of Vitamin D Deficiency on Proliferation and Autophagy of Ovarian and Liver Tissues in a Rat Model of Polycystic Ovary Syndrome. *Biomolecules*, 9(9): 471.
  213. Luczaj W, Gegotek A, Skrzydlewska E. (2017) Antioxidants and HNE in redox homeostasis. *Free Radic Biol Med*, 111: 87-101.
  214. Spadaccio C, Coccia R, Perluigi M, Pupo G, Schinina ME, Giorgi A, Blarzino C, Nappi F, Sutherland FW, Chello M, Di Domenico F. (2016) Redox proteomic analysis of serum from aortic aneurysm patients: insights on oxidation of specific protein target. *Mol Biosyst*, 12(7): 2168-2177.
  215. Argacha JF, Egrise D, Pochet S, Fontaine D, Lefort A, Libert F, Goldman S, van de Borne P, Berkenboom G, Moreno-Reyes R. (2011) Vitamin D deficiency-induced hypertension is associated with vascular oxidative stress and altered heart gene expression. *J Cardiovasc Pharmacol*, 58(1): 65-71.
  216. Chapple SJ, Cheng X, Mann GE. (2013) Effects of 4-hydroxynonenal on vascular endothelial and smooth muscle cell redox signaling and function in health and disease. *Redox Biol*, 1: 319-331.
  217. Bhowmick S, D'Mello V, Caruso D, Abdul-Muneer PM. (2019) Traumatic brain injury-induced downregulation of Nrf2 activates inflammatory response and apoptotic cell death. *J Mol Med (Berl)*, 97(12): 1627-1641.
  218. Nair N, Gongora E. (2017) Oxidative Stress and Cardiovascular Aging: Interaction Between NRF-2 and ADMA. *Curr Cardiol Rev*, 13(3): 183-188.



219. Ooi BK, Goh BH, Yap WH. (2017) Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases: Involvement of Nrf2 Antioxidant Redox Signaling in Macrophage Foam Cells Formation. *Int J Mol Sci*, 18(11): 2336
220. Steed MM, Tyagi SC. (2011) Mechanisms of cardiovascular remodeling in hyperhomocysteinemia. *Antioxid Redox Signal*, 15(7): 1927-1943.
221. Saad El-Din S, Rashed L, Medhat E, Emad Aboulhoda B, Desoky Badawy A, Mohammed ShamsEldeen A, Abdelgwad M. (2020) Active form of vitamin D analogue mitigates neurodegenerative changes in Alzheimer's disease in rats by targeting Keap1/Nrf2 and MAPK-38p/ERK signaling pathways. *Steroids*, 156: 108586.
222. Yao B, He J, Yin X, Shi Y, Wan J, Tian Z. (2019) The protective effect of lithocholic acid on the intestinal epithelial barrier is mediated by the vitamin D receptor via a SIRT1/Nrf2 and NF-kappaB dependent mechanism in Caco-2 cells. *Toxicol Lett*, 316: 109-118.
223. Folkow B. (1990) "Structural factor" in primary and secondary hypertension. *Hypertension*, 16(1): 89-101.
224. DiBona GF, Mark AL. (2013) Bjorn Folkow. *Hypertension*, 61(1): 4.
225. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. (2005) Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289(1): F8-F28.

## 10. Saját publikációk jegyzéke

### Disszertáció alapját képező közlemények:

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

### Disszertáció témájától független közlemények:

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

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

ÖSSZESÍTETT IMPAKT FAKTOR (2021.04.16.):

E IF = 25,376

(\*: Várható IF értékek)

## 11. Köszönetnyilvánítás

Szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Dr. Várbíró Szabolcsnak a folyamatos segítségnyújtásért, támogatásért és motivációért.

Hálával tartozom társ-témavezetőmnek, Dr. Horváth Eszter Máriának az útmutatásért, biztatásért és a laboratóriumi háttér biztosításáért, valamint köszönöm Dr. Nádasy Györgynek, hogy évekkkel ezelőtt, orvostanhallgató koromban meglátta bennem a tudomány iránti fogékonyságot és azóta is támogat.

Köszönet illeti a kísérletek összes résztvevőjét, embereket és a kísérleti állatokat egyaránt.

Köszönöm az inspiráló közös munkát Dr. Benkő Ritának, Dr. Hadjadj Leilának és Dr. Pál Évának, valamint munkacsoportunk aktuális PhD- és TDK-hallgatóinak.

Köszönetemet szeretném kifejezni Prof. Dr. Ács Nándornak, a Semmelweis Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika igazgatójának, Prof. Dr. Benyó Zoltánnak, a Semmelweis Egyetem – korábbi nevén Klinikai Kísérleti Kutató- és Humánélettan Intézet, ma – Transzlációs Medicina Intézet igazgatójának, valamint Prof. Dr. Hunyady Lászlónak, a Semmelweis Egyetem Élettani Intézet igazgatójának, hogy PhD-tanulmányaimat alap-, transzlációs és klinikai kutatási intézményi együttműködések keretében folytathattam.

Köszönöm Édesanyámnak, Sziva Jenőné Füredi Ilona Margitnak és Nővéremnek, Sziva Imolának, valamint az egész Családomnak a folyamatos támogatást, a nehéz időszakok alatt irántam tanúsított türelmet, megértést. Köszönöm, hogy mindig mellettem állnak és bármikor számíthatok rájuk.

Köszönöm disszertációm bírálóinak a jövőbeli értékelést és visszajelzést, valamint bízom benne, hogy a leendő Olvasók számára kutatásaink összefoglalása érdekes olvasmányként szolgál.