

EGYETEMI DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

A thrombocyta-leukocyta vegyes aggregátum képződés, a thrombocyta EDRF/NO termelés és a haemorheologiai tényezők változása diabetes mellitusban, szerepük az angiopathia kialakulásában

Dr. Káplár Miklós

**DEBRECENI EGYETEM ORVOS- és EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
I. sz. BELGYÓGYÁSZATI KLINIKA
ANYAGCSEREBETEGSÉGEK TANSZÉKE
DEBRECEN
2002.**

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	2
BEVEZETÉS	3
IRODALMI ELŐZMÉNYEK.....	5
A diabeteses angiopathia megjelenési formái.....	5
Microangiopathia.....	5
Macroangiopathia.....	6
A magas thrombocyta számmal járó chronikus myeloproliferatív	
kórképekhez társuló érszövődmények jellemzői	7
A diabeteses angiopathia kialakulásában szerepet játszó fontosabb tényezők	8
Micro- és macroangiopathia szempontjából fontos tényezők	8
Hyperglykaemia	8
Fokozott oxidatív stressz (lipidperoxidáció).....	8
(plazmában és vörösvérsejtekben)	
Fokozott thrombocyta aktiváció	10
Az endothelium és a thrombocyták csökkent NO-termelése.....	11
Haemorheologiai változások.....	12
Döntően a microangiopathia kialakulását meghatározó tényezők	13
Fokozott AGE képződés	13
Polyol út.....	13
Döntően a macroangiopathia kialakulását meghatározó tényezők.....	14
Obesitas.....	14
Insulinresistentia/Hyperinsulinaemia.....	14
Hypertonia.....	15
Hypelipidaemia/Dyslipidaemia.....	15
Haemostasis praethrombotikus irányú eltolódása.....	15
A diabeteses angiopathia kialakulásában felmerülő újabb szempontok	16
Thrombocyta-leukocyta vegyes aggregátumok	
Nagyobb számú képződése	16
Acut (postprandialis, „meal-time”) hyperglykaemia	17
Homocystein	18
Helicobacter pylori.....	18
A chronikus myeloproliferatív kórképekhez társuló érszövődmények kialakulása ..	19
CÉLKITŰZÉSEK	21
MÓDSZEREK	23
EREDMÉNYEK	27
FONTOSABB MEGÁLLAPÍTÁSOK.....	40
ÖSSZEFOGLALÁS.....	46
IRODALMI HIVATKOZÁSOK	49
A TÉZISEKHEZ FELHASZNÁLT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE.....	57
A TÉZISEKHEZ KAPCSOLÓDÓ, ELSŐ SZERZŐKÉNT BEMUTATOTT	
KONGRESSZUSI ANYAGOK.....	58
EGYÉB, A TÉZISEKHEZ SZOROSAN NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK.....	60
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	62

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

βTG	β-thromboglobulin
ADP	adenosin diphosphate
DCCT	Diabetes Control and Complication Trial
EDRF/NO	endothelium eredető relaxáló faktor/nitrogén-monoxid
GPIb	thrombocyta felszíni glycoprotein Ib receptor
GPIIb/IIIa	thrombocyta felszíni glycoprotein IIb/IIIa receptor
HP	Helicobacter pylori
HRP	háttér retinopathia
L-NAME	nitro-L-arginine-metilészter
L-NNA	L-nitro-L-arginine
NOS	NO szintetáz enzim
PAI-1	plasminogen-aktivátor inhibitor-1
PDGF	thrombocyta eredetű növekedési faktor
PRP	proliferatív retinopathia
PSGL-1	P-selectin glycoprotein ligand-1
TAS	teljes antioxidáns státusz
TF	szöveti faktor
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VWF	von Willebrand faktor

BEVEZETÉS

A cukorbetegség a világ népességének egyre nagyobb hányadát érinti, incidenciája évről évre emelkedik, az utóbbi években már népbetegségként említjük¹⁻⁵. A diabeteses betegek megfelelő kezelése, gondozása mellett komoly feladatot jelent a betegséggel összefüggésben kialakuló szövődmények ellátása, melyek gyakorisága a diabeteses betegek számának emelkedését követi. A diabeteses angiopathia a betegek életminőségét és életkilátásait meghatározó fő tényezőnek tekinthető. A már kialakult érszövődmény okozta panaszokat sok esetben csak mérsékelni lehet, gyógyítani nem, a hangsúlyt a szövődmények megelőzésére kell helyezni.

A cukorbetegség érszövődményeinek megelőzésére irányuló törekvések az utóbbi években felerősödtek. A DCCT⁶⁻⁸ és a UKPDS tanulmányok eredményei egyértelműen igazolták a normoglykaemia angiopathia megelőzésben betöltött alapvető szerepét, emellett a UKPDS a normotensio fontosságát is hangsúlyozza^{9,10}. Irodalmi adatok szerint a szénhidrátháztartás és a vérnyomás normalizálása kb 30-70 százalékkal képes mérsékelni a kísér-szövődmények előfordulási gyakoriságát⁸. Az ennél is eredményesebb prevenció megvalósításának feltétele az érszövődmények kialakulásának az eddigieknél pontosabb megismerése. A legújabb kutatási eredmények szerint egyes nem glykaemia függő, örökletes tényezők, mint a vasanyagcsere - haemochromatosis heterozigóta állapot, haptoglobin polimorfizmus is jelentősek az érszövődmények kialakulásában, sőt, alkalmasak lehetnek az angiopathia-hajlam előrejelzésére¹¹⁻¹⁵.

Az elmúlt években számos kutatócsoport foglalkozott a diabeteses angiopathia kialakulását meghatározó tényezőkkel. Igazolták az oxidatív stressz^{16,17}, a fokozott thrombocyta aktiváció¹⁸, a haemorheológiai eltérések¹⁹, az endothelium diszfunkció²⁰, a glikációs folyamatok²¹ stb. szerepét. Egyes szerzők kiemelten fontosnak tartják az oxidatív folyamatokat, valamint az akut (étkezést követő), aránylag rövid ideig tartó vércukorszint emelkedést.

Magas thrombocyta számmal járó myeloproliferatív kórképekben szenvedő betegek gyakorta említenek kísér-szövődményekre, mikrocirkulációs zavarokra visszavezethető

panaszokat, mint ujjzsibbadás, szédülés, fejfájás stb. Ebben a betegcsoportban gyakrabban fordulnak elő thromboemboliás események mint egészségesekben, a betegség sajátos természetéből adódóan pedig vérzéses szövődmények is felléphetnek (pl. agyvérzés)²²⁻²⁴.

Ph.D. értekezésemben elsősorban a diabeteses angiopathia, kisebb részben a magas thrombocytá számmal járó myeloproliferatív kórképeket kísérő érszövődmények, ill. értünetek kialakulásában részt vevő tényezőkkel kívántam foglalkozni. Munkám súlyponti részét a fehérvérsejtek és thrombocyták összekapcsolódásából származó úgynevezett *vegyes aggregátumok* és a *thrombocytá NO termelés* vizsgálata képezik. Tanulmányoztam a *thrombocytá-leukocytá vegyes aggregátumok* számának alakulását diabeteses betegekben külön elemezve a két fő diabetesformára (1-es és 2-es típus), valamint az egyes érszövődmények szerint csoportosított betegekre vonatkozó adatokat. Cukorbetegben megfigyeltem a postprandialis vércukorszint emelkedés aggregátum képződésre gyakorolt hatását. A vegyes aggregátumok számát magas thrombocytá számmal járó myeloproliferatív kórképek esetén is tanulmányoztam, összefüggést kerestem a betegek értünetei és az aggregátum képződés mértéke között. A *haemorheologiai paraméterek* közül a plazmaviszkozitást és a vörösvérsejtek deformabilitását határoztuk meg, a fibrinogén- és von Willebrand faktor (vWF) szintek mérése rutin vizsgálat részeként történt. Mértük továbbá az *oxidatív folyamatokat* a plazmában és a vörösvérsejtekben. A vizelettel ürített NO₂/NO₃ mennyiségéből következtettünk az *endothelium EDRF/NO-termelésére*, a diabeteses betegekben nyert thrombocyták NO-termelés változásának ex-vivo vizsgálata egy külön tanulmány keretében NO-mérő készülékkel történt. A hyperhomocysteinaemia és a *Helicobacter pylori* diabeteses angiopathia kialakulását befolyásoló szerepét is tanulmányoztam.

Összefüggéseket kerestem az egyes pathogenetikai tényezők, a szénhidrát háztartás egyensúlya (HgbA_{1c} érték) és az érszövődmények kialakulása között.

Vizsgálataim azokhoz a törekvésekhez kívánok kiegészítő adatokat szolgáltatni, amelyek a diabeteses angiopathia pathogenesisének megértését, ezen keresztül hatékonyabb megelőzését és kezelését szolgálják.

IRODALMI ELŐZMÉNYEK

Ebben a részben rövid áttekintést adok a diabeteses angiopathia megjelenési formáiról, a micro- és macroangiopathiáról, a magas thrombocyta számmal járó myeloproliferatív kórképeket kísérő értünetekről, főbb jellemzőikről, majd a kialakulásukat befolyásoló tényezőkről, nagyobb hangsúlyt helyezve az általam is vizsgált pathogenetikai elemekre.

A diabeteses angiopathia megjelenési formái

Microangiopathia

A cukorbetegség késői, specifikus, nagyjából 1-es típusú betegekben kialakuló szövődményei a microangiopathiás szövődmények, nevezetesen a retinopathia, nephropathia és neuropathia diabetica, melyek az elmúlt évtized során a cukorbeteg gondozás meghatározó tényezőjévé váltak^{25,26}. A DCCT tanulmány ugyanis egyértelműen bizonyította, hogy régebbi felfogásunkkal ellentétben az angiopathia kialakulását a szénhidrátháztartás egyensúlya nagymértékben befolyásolja, szigorúbb szénhidrátháztartás-vezetés mellett a microvascularis szövődmények előfordulási gyakorisága szignifikáns mértékben csökken⁶⁻⁸. A diabetes gondozás célkitűzése értelemszerűen az élettantit minél jobban megközelítő vércukorértékek elérése lett. Az is ismertté vált azonban, hogy a vascularis szövődmények kialakulásában a szénhidrátháztartás rendezésén túl a genetikailag meghatározott fogékonyságnak is jelentős

érték szerepe van. A betegek kisebb hányadában (kb 5%) soha nem fejlődnek ki súlyos microvascularis szövődmények, függetlenül attól, hogy a beteg nem figyel a szénhidrátháztartás egyensúlyára. A betegek mintegy 10%-a ezzel szemben abba a csoportba tartozik, akikben szigorú életvitel, jó HgbA1c érték mellett is súlyos érszövődmények alakulnak ki. A többi beteg a két szélső közötti "széles skálán helyezhető el", akik esetében a szövődmények kialakulása különböző mértékben függ genetikai adottságaiktól és a cukorbetegség kezelésének szigorú vagy kevésbé szigorú voltától^{11,13,14}.

A betegek egy részében tehát akkor is megjelennek az életminőségüket negatív irányba befolyásoló érszövődmények, ha cukoranyagcseréjük optimális. Tudjuk, hogy a már kialakult szövődményeket gyógyítani nem lehet, a megelőzés jelenti az ideális megoldást. A megelőzendő betegség/szövődmény kialakulásának pontosabb ismerete eredményesebb prevenciót tesz lehetővé. Ez a felismerés ösztönzött számos kutatót a diabeteses érszövődmények pathomechanismusának feltárására. A microangiopathiás szövődmények kialakulásában számos tényező vesz részt, közülük némelyik specifikusnak mondható, ezekkel a következő fejezetben foglalkozok.

Macroangiopathia

A macroangiopathia, vagyis a nagyerek meszesedéssel járó elváltozása dominálónan 2-es típusú diabetesre jellemző, de 1-es típusban is kialakul. A 2-es típusú diabetes diagnózisának felállításakor a betegek több mint felében már kimutatható bizonyos fokú coronariaszűkület és körülbelül kétharmaduknál a halálok valamilyen macrovascularis szövődmény. A folyamat a coronariák mellett az agy, a mesenterium és az alsó végtag ütőereit is érinti. Cukorbetegség körében a nagyerek atherosclerosis kétszer-négyszer gyakrabban alakul ki mint egészséges anyagcseréjű egyéneknél. Ezen érbetegség főbb jellemzői közé tartozik, hogy kialakulásának mechanizmusát, a létrejövő morfológiai eltéréseket (atherosclerotikus plakkokat) tekintve (a Mönckeberg-arteriosclerosis kivételével) nem különbözik nem diabeteses egyének hasonló jellegű érelváltozásaitól, tehát nem diabetes-specifikus szövődményről van szó. Jelentős különbség tapasztalható azonban az

atherosclerosis megjelenésének idejében és a kialakulás ütemében, amennyiben fiatalabb életkorban, súlyosabb, multiplex formában és gyorsabb ütemben (accelerált módon) alakul ki²⁸. A macroangiopathia fiatalabb életkorban megfigyelhető és gyakoribb jelentkezése részben azzal magyarázható, hogy az egyes kockázati tényezők, mint a magas vérnyomás, zsírsanyagcsere zavara, az elhízás, kóros thrombocyta működés, emelkedett fibrinogénszint gyakrabban és egyidejűleg fordulnak elő. Az angiopathia előfordulásának nemek közötti különbsége, azaz a nők relatív védettsége nem figyelhető meg²⁹. Az utóbbi években folytatott prospektív vizsgálat az UKPDS hívta fel a figyelmet a hyperglykaemia és a hypertonia macroangiopathia kialakulásában betöltött együttes szerepére.

A micro- és macroangiopathia kialakulásában fontosnak tartott tényezők részben megegyeznek, átfedést mutatnak, vannak azonban az egyes érbetegségek kifejlődése szempontjából döntőbb jelentőségűnek mondható pathogenetikai tényezők, melyekről a következő fejezetben adok rövid áttekintést.

A magas thrombocyta számmal járó chronikus myeloproliferatív kórképekhez társuló érszövődmények jellemzői

A magas thrombocyta számmal járó chronikus myeloproliferatív kórképek (essentialis thrombocythaemia, chronikus granulocyta leukaemia, polycythaemia vera, myelofibrosis) thromboembolia és vérzésemes szövődmények kialakulására egyaránt hajlamosítanak. Leggyakrabban a végtagok és a központi idegrendszer keringési zavarával találkozunk, de a folyamat bármely szervet, szervrendszert érintheti. Gyakoriak a szokatlan helyen fellépő artériás és vénás thrombosisok, pl. a v. portaet, vagy mesenterica-rendszert (artériás és vénás oldalt egyaránt) érintő folyamatok. A betegek panaszai sokrétűek lehetnek, többnyire fejfájásra, szédülésre, kéz- és lábujjsibbadásra panaszkodnak, de időnként komolyabb panaszok is előfordulnak, a végtagok lividdé válhatnak, intenzívebb fejfájás léphet fel, akár fatális kimenetlű agyi katasztrófa is kialakulhat²²⁻²⁴.

A diabeteses angiopathia kialakulásában szerepet játszó fontosabb tényezők

Micro- és macroangiopathia pathogenesisében részt vevő tényezők

Hyperglykaemia

A diabeteses érszövődmények kialakulásának legfontosabb oka az emelkedett vércukorszint³⁰. A szénhidrátháztartás egyensúlya és a microvascularis szövődmények kialakulása közötti szoros összefüggést 1-es típusú cukorbetegség körében a DCCT tanulmány igazolta, rámutatva ezzel a szigorú vércukorkontroll szükségességére. A normoglykaemia - elsősorban az inzulinnal kezelt betegek esetében - nem könnyen valósítható meg a hypoglykaemiás epizódok számának gyakoribbá válása miatt, de még ennek elérése esetén is számos metabolikus eltérés mutatható ki, melyek az angiopathia kialakulását segítik. A micro- és macrovascularis szövődmények kifejlődése és a szénhidrátháztartás egyensúlya közötti feltételezett kapcsolatot 2-es típusú betegek esetében a UKPDS tanulmány bizonyította. A vizsgálat a vércukorkontroll mellett a magas vérnyomás angiopathia kifejlődésében betöltött szerepét is nyilvánvalóvá tette.

Az emelkedett vércukorszint önmagában is atherogén, más rizikófaktorral nem rendelkező cukorbetegben is gyakoribbá teszi a macroangiopathia előfordulását. Károsítja az endotheliumot, elősegíti az atherogénebb oxidált LDL és az AGE-termékek kialakulását és érfalba történő lerakódásukat³¹.

Fokozott oxidatív stressz (lipidperoxidáció)

Számos vizsgálat igazolja, hogy az emelkedett intra- és extracelluláris glukózsztint az oxidatív folyamatok felerősödéséhez vezet^{16,18,32}. A prooxidáns és antioxidáns tényezők egyensúlyi helyzetet biztosító aránya az előbbieket irányába tolódik el a cukorbetegségre

jellemző fokozott oxidatív stressz kialakulását eredményezve³³. A nagyobb mérvű szabadgyök képződés kimutatható a betegek plazmájából^{16,33,34} és különböző sejtjeiből egyaránt^{35,36}. A szabadgyökök közül elsősorban a reaktív oxigén-gyökök és a szuperoxid-anionok felszaporodását kell említeni. Állatkísérletek, valamint 1-es és 2-es típusú cukorbetegekben végzett humán vizsgálatok tanulságai szerint a glukóz autooxidáció, a glikációs folyamatok – a korai és kései glikációs termékek képződése, a polyol anyagcsereút termékei egyaránt részt vesznek az oxidatív stressz létrejöttében, sőt, egyes külső körülmények, mint pl. a dohányzás szerepe sem hanyagolható el. A nagyobb mennyiségben termelődő szabadgyökök a szervezet antioxidáns védekező rendszerének kimerítése után a szervezet saját, ép molekuláit, sejtjeit károsítják³⁷. Az extracelluláris mátrix makromolekulái, a sejtek struktúrfehérjéi, enzimek, lipoproteinek, nukleinsavak egyaránt károsodást szenvednek, megváltoznak továbbá a sejtmembrán fiziko-kémiai tulajdonságai, fluiditása^{38,39}. A magas glukózkoncentráció következtében kialakuló fokozott oxidatív stressz circulus vitiosusként negatív módon befolyásolja a cukorbetegség lefolyását. 1-es típusú diabetesesekben hozzájárul a pancreas beta-sejtjeinek pusztulásához (fokozza az apoptosist), 2-es típusú cukorbetegekben pedig növeli az insulinresistentiát. Utóbbi hatását a sejtmembrán tulajdonságainak megváltozásával, módosult receptor expresszióval és jelátvitellel stb. lehet magyarázni³⁴.

A fokozott oxidatív stressznek elsősorban a macroangiopathia kialakulásában van szerepe. Elősegíti az LDL → oxidált LDL átalakulást, mely komoly atherogén faktor, az atherosclerosis kifejlődését nagymértékben meghatározza. Az intracelluláris fokozott oxidatív stressz csökkenti a vörösvérsejt-membrán fluiditását, növeli annak rigiditását és a teljes vér viszkozitást. Ezen az úton a mikrocirkuláció is jelentősen károsodik^{40,41}.

Egyes szerzők szerint már az egyszeri étkezés után létrejövő, önmagában mérsékelt hyperglykaemia is fokozott szabadgyök képződéshez vezet^{41,42}.

Az oxidatív folyamatok jól követhetően a vörösvérsejtben is végbemennek⁴³. A lipidperoxidáció egyik végterméke a malondialdehid, melynek szintje jól mérhető és az oxidatív folyamatok mértékét tükrözi. Vörösvérsejtben megfigyelhető felszaporodása a glutathion oxidációja után következik be és az intracelluláris oxidatív stresszt tükrözi.

A malondialdehid fokozza a vörösvérsejt membránjának rigiditását, csökkenti fluiditásukat, mely a mikrocirkuláció romlásához vezet.

Fokozott thrombocyta aktiváció

A fokozott thrombocyta aktivációval számos vizsgáló foglalkozott és ez a terület napjainkban is az angiopathia kutatásának fontos részét képezi. Cukorbetegekben a vérlemezkék anyagcseréje megváltozik, nagyobb mennyiségben termelnek thrombocyta eredetű növekedési faktort (PDGF), arachidonsav-anyagcseréjük fokozott ütemű, megnő thromboxan-képzésük és érzékenységük. Erőteljesebb a thrombocyta ahézió és aggregáció, nagyobb a thrombocyták volumene (ami a megszokottnál fiatalabb thrombocyta populációt jelez) és felületükön több GPIb és GPIIb/IIIa receptort hordoznak (fibrinogénköti receptor), sőt már a csontvelőben is nagyobb, polyploid megakariocyták képződnek⁴⁵⁻⁴⁷. A thrombocyta-thrombocyta kapcsolódás révén létrejövő vérlemezke aggregátumok is nagyobb számban fordulnak elő. A β -TG (béta-thromboglobulin) a thrombocyták α -denz granulumaiból szabadul fel az aktiválódás során, plazmában mérhető szintje a thrombocyta aktiváció mértékét jelzi. Korábbi munkánkban mi is beszámoltunk diabeteses betegekben észlelhető (1-es és 2-es típus egyaránt) emelkedett β -TG szintről^{18,32}. A vérlemezke aktiváció a felületükön található CD62 meghatározásával pontosabban monitorozható.

A fokozott thrombocyta aktiváció és a microvascularis szövődmények kapcsolata egyértelmű, elfogadott, bár a részletek korántsem tekinthetők tisztázottnak. Kérdéses, hogy mi az elsődleges eltérés, a fokozott thrombocyta-aktivitás vagy az angiopathia megjelenése. Másképpen, a thrombocyta-hyperfunkció oknak vagy következménynek tartandó⁴⁸. Kétségtelen, hogy mérsékelt thrombocyta-hyperfunkció korán, érszövődmények hiányában is kimutatható, sőt, 1-es típusú diabetesben szenvedő betegek nem cukorbeteg, szigetsejt ellenes antitest pozitív egyenes ágú rokonaikban is igazolható⁴⁹. Az sem vitatható azonban, hogy a már kialakult érszövődmények fokozott vérlemezke aktiváció kialakulásához vezetnek. Legvalószínűbbnek talán az az elképzelés tűnik, miszerint a microangiopathia előidézésében a glukometabolikus paramétereknek van elsődleges szerepe, a fokozott mértékben aktivált thrombocyták pedig az aktiváció mértékétől függően befolyásolják a szövődmény súlyosságát és kórlefolyását. Irodalmi adatok szerint a fokozott thrombocyta aktiváció nagyobb részt az 1-es típusú cukorbeteg érszövődményeinek kialakulását befolyásolja, 2-es típusú betegekben a csökkent fibrinolysis (emelkedett PAI-1 szint) dominál¹⁹.

Az endothelium és a trombocyták csökkent NO-termelése

Az erek belső felszínét borító endothelium szerteágazó biológiai funkcióval rendelkezik. Nem-thrombogén felszint biztosít, elejét véve az alvadási faktorok nem kellő időben és helyen történő aktiválódásának, továbbá a haemostasist befolyásoló vasoaktív anyagokat is termel - pl PAI-1, NO⁵⁰. Az NO antithrombotikus hatásához trombocyta aktivációt gátló hatása is hozzájárul, emellett vasodilatator jellege révén az értónus szabályozásában is szerepe van. Az endothelium sérülése a haemostatikus folyamatok aktiválódásához vezet, utóbbi pedig az atherogenezist fokozza. A vascularis endothelium tömege egy adott szervezetben 70-80 g körül mozog, az általa termelt EDRF-NO pedig jelentős mennyiségűnek mondható. Sokáig feltételezték, majd klinikai vizsgálatokban igazolást nyert, hogy diabeteses betegekben az endothelium károsodás következtében csökkenő vascularis EDRF-NO-termelés az angiopathia kialakulásának irányába ható fontos tényező^{32,51}.

A 90-es évek közepén vált ismertté, hogy a celluláris struktúra tekintetében meglehetősen egyszerű vérlemezkék rendelkeznek NO szintetáz (NOS) aktivitással⁵². A biokémiai vizsgálatok kétféle NOS izoform jelenlétét is igazolták a trombocytákban, egyfelől a kalcium independens indukálható NOS-t, másfelől a kalcium/calmodulin függő endotheliális típusú ec-NOS-t⁵³. Az ec-NOS-t a trombocyta aggregatio stimulálja, s így a vérlemezke aktiváció során NO képződik, mely az eddigi experimentális adatok alapján a további trombocyta aktiváció fékezésére is képes⁵⁴⁻⁵⁶.

A trombocyta NO képzés mennyiségét tekintve rendkívül csekély, ez a kis mennyiség is fontos lehet azonban a trombocyta aktiváció (adhesio és aggregatio) mérséklésére azokban a "kritikus" esetekben, amikor az endothelium már nem képes elegendő mennyiségű NO-produkcióra és az érlumen elzáródása vagy nyitva maradása a trombocyta mikroaggregátumok kialakulásától, illetve a trombocyták érfalhoz való kitapadásától függ. A minimális mennyiségben képződő NO mérésére speciális NO szenzitív elektród alkalmazására van szükség⁵⁷. Az in vitro felmérések alapján a nyugvó trombocyta nem termel számottevő mennyiségben NO-t, míg kollagén inger után NO képződik⁵⁶. Az ADP aktivációval kapcsolatos megfigyelések nem egyértelműek⁵⁴. Vannak kis számban klinikai megfigyelések

is. Így uraemiában a thrombocytá NO termelés fokozott, míg hypertóniában, migraine-ben, ill. súlyos coronariasclerosisban csökkent^{54,58,59}.

Haemorheológiai változások

A cukrobetegség szövődményeinek kialakulása szempontjából az általánosan jól ismert tényezők mellett a kevésbé említett rheológiai faktorok is rendkívül jelentősek^{19,60,61}. A mikrocirkulációt alapvetően a *plazmaviszkozitás*, valamint a *vörösvérsejtek aggregációs készsége és deformabilitása* határozzák meg⁶². A haemorheológia diabetesben megfigyelhető kedvezőtlen változása kisebb részben a sejtes, nagyobb részben a plazmatikus tényezőknek tulajdoníthatók. A plazmatikus áramlási viszonyok szempontjából domináns elem a plazma fibrinogénszintje, mely mai tudásunk szerint az érbetegség kockázatát jelentősen befolyásoló paraméter, egyben a plazmaviszkozitás fő meghatározó eleme⁶³. A von Willebrand faktor (vWF) és a szöveti plasminogén aktivátor (tPA) is jelentősek, de kisebb mérvű hatást gyakorolnak az áramlás alakulására. A sejtes elemek tekintetében a vörösvérsejt aggregáció és deformabilitás változását kell említenünk⁶².

A vörösvérsejtek membránjának fontos alkotóeleme a spectrin nevű fehérje. Vizsgálattal igazolták, hogy ezen fehérje a glikáció és az oxidatív stressz hatására strukturálisan megváltozik, és a deformabilitás csökkenéséhez vezet⁶⁴. Lényeges továbbá a vörösvérsejtek membránjának külső felében bekövetkező lipidösszetétel változás is (a foszfolipid és LDL mennyisége emelkedik)^{38,40}.

A diabeteses betegekben eddig végzett vizsgálatok többnyire emelkedett plazma fibrinogénszintről és viszkozitásról, valamint csökkent vörösvérsejt deformabilitásról számolnak be^{19,38,64,65}. A vörösvérsejt deformabilitás csökkenés és az egyes diabeteses szövődmények megjelenése között egyes szerzők nem találtak összefüggést⁶⁶, mások kapcsolatot tudtak igazolni a neuropathia⁶⁷, ismét mások a nephropathia kialakulásával^{68,69}.

Döntően a microangiopathia kialakulását meghatározó tényezők

Fokozott AGE képződés

A glukóz a vércukorszinttől függő mértékben nem enzimatis úton kapcsolódik a fehérjemolekulák NH₂-csoportjához. A reakció eredményeként első lépésben Schiff-bázis keletkezik, majd lassan, hetek, hónapok alatt korai glikációs, ugynevezett Amadori termékek képződnek (ilyen pl. a HgbA1c). Az anyagcserehelyzettől függően a korai glikációs termékek mennyisége változó, a folyamat részben reverzibilis jellege és az érintett fehérjék rövid életideje miatt azonban a szervezetben nem halmozódnak fel, ezért alkalmasak a vérvételt megelőző 1-2 hónap anyagcserehelyzetének monitorozására^{70,71}.

A késői glikációs végtermékek igen lassan zajló biokémiai folyamatok eredményei. Hosszú életidejű szerkezeti fehérjemolekulákon (pl. kollagén) az Amadori termékek továbbalakulásával jönnek létre. A folyamat irreverzibilis, ez a magyarázata ezen termékek hosszú távon megfigyelhető felszaporodásának⁷⁰.

A glikációs termékek számos úton járulnak hozzá a diabeteses angiopathia kialakulásához. Csökkentik a vörösvérsejtmembrán deformabilitását és ezzel rontják a mikrocirkulációt. A capillárisok és a vese glomerulusainak basalis membránjában lerakódnak rontva a mikrocirkulációt és a filtrációt. A macroangiopathia progressziójához is hozzájárulnak, az aorta és egyéb nagyerek falában képződő késői glikációs termékek a kollagén rostok között keresztkötéseket hoznak létre, csökkentik az érfal rugalmasságát, egyúttal az LDL-glikációjával csökkentik annak clearance-t, a fokozott oxidatív stressz miatt pedig nagyobb mennyiségben képződik oxidált LDL (small dense LDL)^{72,73}.

Polyol anyagcsereút

Az insulin independens szövetek sejtjeinek glukózkoncentrációját a szervezet vércukorszintje határozza meg. Az intracellulárisan felszaporodott glukóz egy specifikus enzim, az aldóz-reduktáz hatására szorbitollá alakul, ez utóbbi pedig szorbitol-dehidrogenáz

segítségével D-fruktózzá. A polyol anyagcsereút termékei intracellularisan felszaporodnak és az érintett sejtek, szövetek ozmotikus károsodását eredményezik. Csökken a sejtek mioinozitol- és Na-K-ATP-áz aktivitása. A polyol anyagcsereútnak elsősorban a diabeteses neuropathia kialakulásában tulajdonítanak szerepet⁷⁴.

Döntően a macroangiopathia kialakulását meghatározó tényezők

A microangiopathia pathogenesisében részt vevő tényezők a macroangiopathia kialakulását is befolyásolják, ebben a vonatkozásban azonban döntően az alább felsorolt faktorok jelentősek, ezért ezeket külön csoportosításban sorolom fel.

Obesitas

A 2-es típusú cukorbetegség körülbelül 85-90%-a obesitasban is szenved. Mivel a visceralis zsírfelszaporodás inzulinrezisztenciát okoz - a betegek nagyrésze ebbe a csoportba tartozik - az elhízás mintegy jelzi az inzulinrezisztenciát, a következményes hyperinsulinaemiát és zsíryanycsere zavart⁷⁵.

Inzulinrezisztencia/Hyperinsulinaemia

Az inzulinrezisztencia következményes kompenzatórikus hyperinsulinaemia kialakulását vonja maga után. 2-es típusú diabetes manifesztálódásakor, illetve az azt megelőző időszakban magasabb inzulinszint mérhető, később a betegség progressziója során (a β -sejtek inzulintermelő képességének csökkenésével) egyre alacsonyabb értékeket észlelhetünk. Az inzulin proliferatív hatást gyakorol az érfal simaizomsejtjeire, hozzájárul a magas vérnyomás és lipogenetikus hatása révén az obesitas kialakulásához és progressziójához. Kedvezőtlenül befolyásolja a zsíryanycserét, amennyiben a Tg és a small dense LDL szintek emelkedéséhez vezet⁷⁵.

Hypertonia

Az inzulin fokozza a vese distalis tubulusaiban a Na⁺ visszaszívást, mely hypervolaemiához és a vérnyomás emelkedéséhez vezet. Az érfal simaizomsejtjeinek ion-anyagcseréje kedvezőtlen irányba tolódik el, emelkedik az intracellularis Ca- és Na-szint, ez szintén a magas vérnyomás kialakulásának kedvez. A szimpatikus idegrendszer aktivitása fokozódik és megnő az erek angiotenzin-II iránti érzékenysége. Az érfalban fellépő simaizomsejt-proliferáció irreverzibilissé teszi az imént említett, többnyire még visszafordítható folyamatokat⁷⁶.

Hyperlipidaemia/Dyslipidaemia

Az inzulinrezisztencia következtében csökken a LPL aktivitása, ugyanakkor a zsírszövetből történő szabad zsírsav felszabadulás kifejezettebb (elsősorban a viscerális zsírszövetből). Ezen folyamatok eredménye a triglycerid szint emelkedése, mely diabeteses betegekben az atherogenesis komoly rizikótényezője. Diabetes esetén minden lipidfrakció triglycerid tartalma emelkedett. Csökken a HDL-szint és emelkednek a kifejezetten veszélyes “small dense” (LDL₃) koleszterin frakció. A fokozott lipidperoxidáció kedvez az oxidált LDL kialakulásának. A májsejtek képtelenek felvenni a nagyobb mennyiségben képződő LDL molekulákat, ezt a makrophagok teszik meg scavenger-receptorokkal. Az oxidált LDL-t azonban a makrophagok sem tudják feldolgozni, metabolizálni, ugynevezett habos sejtekké alakulnak, lerakódnak az artériák falában és az atherogenesis kiinduló pontjait képezik^{77,78}.

A haemostasis praethrombotikus irányú eltolódása

A haemostasis paraméterek diabetesben megfigyelhető praethrombotikus irányú eltolódásáról több vizsgáló beszámolt. Cukorbetegekben magasabb az aktív VII. és VIII. faktor szintje, fokozott a thrombingeneráció és emelkedett a fibrinogénszint^{48,79,80}. Csökkent ugyanakkor a fibrinolysis, mivel a szöveti plasminogén-aktivátor kisebb, a PAI-1 pedig

nagyobb mennyiségben termelődik. Az AT-III szintjének emelkedettsége ellenére a molekula biológiai aktivitása a glikáció miatt csökken, s bár mérsékelt, mégis a thrombosis hajlamot fokozó eltérést eredményez⁸¹.

A diabeteses angiopathia kialakulásában felmerülő újabb szempontok

Leukocytá-thrombocytá vegyes aggregátumok nagyobb számú képződése

Először Larsen figyelt fel in vitro vizsgálatai alapján arra a jelenségre, hogy a thrombocyták és a fehérvérsejtek összekapcsolódva ún. *vegyes aggregátumokat* képeznek⁸². Később in vivo is igazolni tudták a vegyes aggregátumok jelenlétét és számukat egyes kóros állapotokban, sőt fokozott fizikai igénybevétel mellett egészséges egyéneknél is emelkedettnek találták. A kóros állapotok közül az extracorporális keringés mellett végzett szívműtétek (Rinder, 1992)⁸³, haemodialysis (Gawaz, 1994)⁸⁴, acut myocardialis infarctus (Tschoepe, 1996)^{85,86} említhetők. A kapcsolódás a thrombocyták felszínén megjelenő selectin (CD62) és a fehérvérsejteken található integrin (CD15, kisebb részben CD11b/18, valamint CD62 - PSGL-1 - P-selectin glikoprotein ligand) révén valósul meg^{82,87-89}, több szerző szerint azonban a vérlemezkék felszínén lévő GPIIb/IIIa (fibrinogén kötő receptor) is részt vesz a folyamatban⁹⁰. Nem egyszerű "passzív" kapcsolódásról van szó, nyugvó fehérvérsejtek ugyanis nyugvó thrombocytákat nem kötnek meg felszínükön. A kapcsolat kialakulása tehát bizonyos "előzetes" aktiváltságot feltételez, kötődés után pedig kölcsönösen fokozzák egymás aktivitását⁹¹. Különböző mediátorok jutnak át a fehérvérsejtekből a thrombocytákba és viszont. Így pl. az aktivált granulocytákból cathepsin-G szabadul fel, amely fokozza az endothel sejtek és a thrombocyták felszínén a P-selectin expresszióját. A granulocytákból arachidonsav, ill. leukotrién-A₄ jut át a vérlemezkékbe és ott ezen mediátorokból leukotrién-B₄, ill. leukotrién-C₄ szintetizálódik^{92,93}. A vegyes aggregátumokat formáló thrombocyták és monocyták haemostatikus tulajdonságai egyaránt megváltoznak, a thrombocyták felszínén nő a GPIIb/IIIa (fibrinogén receptor) denzitása, a monocyták szöveti faktor (TF) termelése pedig fokozódik^{90,94}. A vegyes aggregátumok szabadon keringve vagy érfalhoz rögzült formában fordulnak elő. Az érfalhoz kötődés ép endothelium mellett az endothel sejtek felszínén lévő P-

selectin révén jön létre, mely fehérvérsejtet köt, ezen fehérvérsejtekhez pedig thrombocyták kapcsolódnak. Sérült endothelium mellett a fehérvérsejtek a subendotheliális matrixhoz kitapadt thrombocyták segítségével kötődnek⁸⁶.

A vegyes aggregatumok több úton járulhatnak hozzá az érszövődmények kialakulásához. Az aktivált thrombocyták és monocyták fokozott mértékben termelnek vasoaktív cytokineket: vasoconstrictor, mitogén és oxidatív anyagokat (pl. thromboxan A₂, PDGF - thrombocytá eredetű növekedési faktor, TF - szöveti faktor stb.), melyek fontos szereppel bírnak az atherogenesisben, elsősorban a már meglévő plakkok növekedését eredményezik.

Akut artériás thrombosis, a kapillárosokban pedig microembolizációt okozhatnak. Utóbbi közvetlen szervkárosodáshoz vezethet, a nagyerek vérellátását biztosító vasa vasorum károsításával pedig azok vérellátási zavarát, az érfal sérülését okozhatják. Egyes vélemények szerint az érfal sérülése a macroangiopathia kialakulásának alapja lehet, vagyis a macroangiopathiát az érfalat ellátó vasa vasorum microangiopathiája okozza. Az aktivált thrombocyták és a thrombocytá aggregátumok hasonló módon befolyásolják a szövődmények kialakulását⁹⁵.

Kevés adat áll rendelkezésre a vegyes aggregatumok diabeteses betegekben, valamint a diabeteses angiopathiában való előfordulását illetően.

Akut (postprandiális, "meal-time") hyperglykaemia

Az emelkedett vércukorértékek diabeteses angiopathia kialakulásában betöltött szerepét korábban már említettem. Fontossága miatt külön kiemelem az étkezést követő időszakra (1/2-1 órára) jellemző vércukorszint-emelkedést, melyre az utóbbi évek megfigyelései hívták fel a figyelmet^{17,41,96}. A DCCT és az UKPDS tanulmányokban az érszövődmények kifejlődése és a szénhidrátháztartás egyensúlya közötti összefüggés elemzésekor a HgbA_{1c} értékét vették figyelembe. Tudjuk, hogy a HgbA_{1c} értéke a vérvételt megelőző hat hetes időszak vércukorértékeinek átlagát tükrözi. Mivel átlagról van szó nem tudhatjuk, hogy pl. normál tartományba eső HgbA_{1c} érték esetén a betegnek ténylegesen a fiziológiás vagy ahhoz közeli tartományban mozogtak-e vércukorértékei, vagy pusztán egymást követő hyper- és hypoglykaemiás periódusok átlageredményéről van szó. Az étkezést követő aránylag rövid ideig tartó, mérsékelt hyperglykaemiás periódusok nem

feltétlenül tükröződnek a HgbA1c eredményében, ugyanakkor elősegítik az angiopathia kialakulását, illetve progresszióját. In vitro vizsgálatokkal sikerült igazolni, hogy már mérsékelt postprandialis vércukorszint-emelkedés is egyes haemostasis paraméterek praethrombotikus irányú eltolódását eredményezi⁹⁷. Később az oxidatív stressz hasonló körülmények között megfigyelt fokozódásáról számoltak be⁴¹, az utóbbi évek klinikai kutatásai pedig a gyakorlatban is igazolták, hogy a coronariasclerosis kialakulásában a tartósan emelkedett vércukorértékek mellett a postprandiális vércukorszint-emelkedések is fontosak^{98,99}. Nagy nemzetközi tanulmányok igazolták, hogy az izolált postprandiális hyperglykaemia a coronaria-események önálló rizikótényezője⁹⁹. Figyelmet érdemel, hogy a diabetes megjelenésekor sokszor a postprandiális hyperglykaemia az első laboratóriumi eltérés és ez hosszú ideig rejtve maradhat. Ezen cukorbeteg kb 50%-a nem is tud betegségéről és kb 70%-ának az éhomi vércukorszintje a normál tartományban mozog. Következésképp a cukorbetegség korai felismeréséhez és a megfelelő kezelés kiválasztásához nem elegendő pusztán az éhomi vércukorszint meghatározása, a postprandiális értéket is ellenőriznünk kell, sőt a diagnózis felállításához gyakran orális glukóz tolerancia teszt végzése szükséges⁹⁹.

Homocystein

Irodalmi adatok szerint az emelkedett homocystein szint mellett g yakrabban fordulnak elő artériás throbosisok (myocardialis infarctus, stroke, perifériás érbetegség). Hyperhomocysteinaemiát eredményezhet enzimdefektus (cystationin szintetáz) és folsav, ill. B12-vitamin hiány. Diabeteses betegek körében végezett vizsgálatunkkal kapcsolatot kerestünk a diabeteses angiopathia kialakulása és a hyperhomocysteinaemia között^{100,101}.

Helicobacter pylori fertőzés

Az utóbbi években egyértelműen elfogadottá vált a *Helicobacter pylori* gyomor-bélrendszeri betegségek kialakulásában betöltött oki szerepe. A különböző betegségek közül

elsősorban az ulcus említhető. Később felmerült annak lehetősége, hogy a baktérium bizonyos extragastrointestinalis betegségek kialakulását, valamint a betegség progresszióját is elősegíti. Egyes vizsgálók összefüggést tudtak igazolni a *Helicobacter pylori* fertőzés és az ischemiás szívbetegség kialakulása között, mások ezen összefüggést nem tudták megerősíteni. Szorosabb összefüggés volt igazolható az immunológiai, valamint máj- és epeúti betegségekkel^{102,103}.

Az érbetegség kialakulásával való összefüggés magyarázata a fertőzéssel összefüggésben emelkedő triglycerid- és fibrinogénszint, valamint a csökkenő HDL szint lehet. Eradikációval a fibrinogénszint csökkenthető volt. Az immunológiai betegségekkel való összefüggést az ITP-ban szenvedő betegek eradikációját követő ellenanyag-titer csökkenés igazolja. RA-ben szenvedő betegek állapotjavulását is megfigyelték¹⁰³.

A HP fertőzés incidenciája széles határok között mozog, nagymértékben függ az adott népcsoport, ország fejlettségi szintjétől és az életkortól. Az életkor előrehaladtával a fertőzöttek száma emelkedik. Míg fejlett országokban 20 éves kor felett 7-54% a fertőzöttek aránya, addig a fejlődő országokban 64-94% közötti. 1995-ben végzett felmérés szerint Magyarország átmenetet képvisel a fejlett és fejlődő országok között. Debreceni viszonylatban a *Helicobacter* fertőzöttség gyakorisága 50-55% körüli (Klinikai Biokémiai és Molekuláris Pathológiai Intézet adatai).

Logikusan vethető fel az a kérdés, vajon diabeteses betegek érszövődményeinek kialakulását befolyásolja-e, és ha igen milyen mértékben a baktériummal való fertőzöttség.

A magas thrombocyta számmal járó chronikus myeloproliferatív kórképekhez társuló érszövődmények kialakulásában szerepet játszó tényezők

A vérlemezkék a különböző, döntően az artériás oldalon kialakuló vascularis események fontos részesei. A thrombocyták száma, adhesiós és aggregációs hajlama alapvető fontosságú ebben a vonatkozásban. A chronikus myeloproliferatív kórképeket kísérő

vérlemezke szám emelkedés önmagában is nagyobb számú thrombocyta-thrombocyta és thrombocyta-leukocyta vegyes aggregátum kialakulására hajlamosít és ezen aggregátumok a már korábban említett módon vezethetnek keringési zavarhoz. Számottevő a nagyobb mennyiségben termelődő, értónust szabályozó cytokinek hatása is^{23,24}.

CÉLKITŰZÉSEK

Munkám során a következő kérdésekre kerestem választ:

1. 1-es és 2-es típusú diabetesesekben, valamint magas thrombocyta számmal járó myeloproliferatív kórképekben szenvedő betegekben emelkedett-e a leukocytathrombocyta vegyes aggregátumok száma?
2. Diabeteses betegekben kimutatható-e összefüggés a vegyes aggregátum képződés és a szénhidrátháztartás egyensúlya (HgbA1c) között?
3. Diabeteses angiopathia eseteiben milyen az aggregátumok előfordulási gyakorisága, valószínűsíthető-e az aggregátumok érszövődmények kialakulásában betöltött szerepe? A postprandiális vércukorszint emelkedés hatást gyakorol-e a vegyes aggregátum képződésre?
4. Magas thrombocyta számmal járó myeloproliferatív kórképekben gyakran fellépő értünetek (fejfájás, szédülés, ujjzsibbadás stb.) kialakulásában valószínűsíthető-e a vegyes aggregátumok szerepe?
5. Miként változik diabeteses betegek thrombocytáinak NO termelése különböző fiziológias stimulusok hatására?
6. A mikrocirkulációt meghatározó haemorheológiai tényezők hogyan változnak diabeteses betegekben (plazmaviszkozitás, vörösvérsejt deformabilitás)?

7. Miként változnak az oxidatív folyamatok, a lipidperoxidáció cukorbetegék plazmájában és vörösvérsejtjeiben?
8. Kimutatható-e összefüggés az egyes, diabeteses érszövődmények kialakulása szempontjából jelentős pathogenetikai tényezők között?
9. Hatást gyakorol-e az emelkedett homocysteinszint a diabeteses érszövődmények kialakulására?
10. Valószínűsíthető-e a *Helicobacter pylori* szerepe a diabeteses angiopathia létrejöttében?

MÓDSZEREK

Összesen kilencven, 1-es és 2-es típusú diabetes mellitusban szenvedő beteg esetében mértük a vegyes aggregátumok számát (az életkorra, nemek szerinti megoszlásra és betegségstadiumra vonatkozó adatokat az 1. táblázatban tüntettem fel), közülük 54 esetben (27 1-es típusú, átlag életkor: 36 ± 14 év, 27 2-es típusú átlag életkor: 56 ± 10 év) a vörösvérsejtek deformabilitását és intracelluláris lipidperoxidációját, a plazma lipidperoxidációt, a szérum és vizelet NO₂/NO₃ ürítést, a fibrinogénszintet és a plazmaviszkozitást is meghatároztuk.

	Esetszám (n), nemek megoszlása	Kor \pm SD (év)	Betegségstadium \pm SD (év)
1. típ. diab. mell.	n=29 ffi: 12 nő: 17	36 ± 14	$9,6 \pm 11,7$
2. típ. diab. mell.	n=61 ffi: 37 nő: 24	58 ± 11	$8,8 \pm 5,9$
Kontroll	n=23 ffi: 12 nő: 11	35 ± 15	-

1. táblázat

A Helicobacter pozitívitas meghatározást, a homocysteinszint és thrombocytá NO mérést más-más betegcsoportokon végeztük. Helicobacter pylori jelenlétét teszteltük 100 beteg esetében (51 ffi, 49 nő, 10 1-es típusú 90 2-es típusú diabeteses beteg, átlagéletkor: $58,5 \pm 12,9$ év). Kontrollnak a Klinikai Biokémiai és Molekuláris Pathológiai Intézet adatait tekintettük, mely szerint Debrecen környékén a Helicobacter pylori előfordulási gyakorisága 50-55% körüli (korra vonatkozó statisztikai adatok nem állnak rendelkezésre). 79 esetben (15 1-es, 64 2-es típusú beteg) határoztuk meg az össz homocysteinszintet. A thrombocytá NO mérésben az egészséges kontroll csoportot 13 normoglykaemiás önkéntes (klinikai munkatárs, 3 nő, 10 férfi, átlagos életkor $38,5 \pm 6,2$ év) alkotta. Az 1-es típusú cukorbeteg csoportba tíz

személy tartozott (7 férfi, 3 nő, átlagos életkor $22,3 \pm 4,1$ év), míg a 2-es típusú diabeteses csoport 12 betegből (9 nő, 3 férfi, életkor $62,3 \pm 11,4$ év) állt.

A vizsgálatban részt vevő betegek metabolikusan stabil állapotban voltak, súlyos hyper- vagy hypoglykaemia esetén nem kerülhettek be a vizsgálati csoportokba. Egyik csoport tagja sem kapott nitrit tartalmú gyógyszert, ill. a vizsgálatot megelőző tíz nap során a thrombocyta működést befolyásoló vagy más antithrombotikus szert.

A vegyes aggregátumok számának méréséhez heparinnal alvadásgátolt vérmintákat használtunk. Egységesen a vérvétel után 60 perccel dolgoztuk fel a mintákat. (Előzetes méréseink szerint az első 60 percen nem változik számottevően a vegyes aggregátumok száma, majd ezután szignifikánsan emelkedik.) Először FITC-cel jelölt CD42a (Becton Dickinson, San Jose, CA) és PE-Cy5-tel jelzett CD45 (DAKO Glostrup, Dánia) ellen termeltetett monoklonális antitesteket adtunk a vérmintához, majd 20 perces sötétben végzett inkubálás után lizáltuk a vörösvérsejteket (FACS lizáló oldat). A fehérvérsejteket kétszer mostuk foszfát-pufferben (PBS) majd 1%-os paraformaldehiddel fixáltunk. A CD42a thrombocyta specifikus marker (a glikoprotein IX egyik komponense), a CD45 pedig a magvas vérsejtek felületén található pan-leukocyta marker. Áramlási-cytometerrel (FACScan, Becton Dickinson, San Jose, CA) mértük a kettős pozitív jelet adó, tehát felületükön thrombocytákat hordozó fehérvérsejtek számát. Kettős jelöléssel kizárható, hogy a flow-cytometerrel történő mérés során a nagyobb thrombocyta aggregátumokat mint fehérvérsejteket értékeljük. A perifériás vér leukocyta populációit a CD45 marker és oldalszórás dot plot képek alapján azonosítottuk. Egy alkalommal 10.000 CD45 pozitív fehérvérsejtet vizsgáltunk, a vegyes aggregátumot alkotó (tehát CD45 és CD42a pozitív) fehérvérsejtek arányát százalékban fejeztük ki¹⁰⁴.

A vegyes aggregátumok számának alakulását az *akut vércukorszint-változás* függvényében is megfigyeltük. Olyan 2-es típusú diabetesben szenvedő betegeket választottunk ki a vizsgálatra akik csak diétával (4 beteg) vagy diéta mellett szedett acarboseval (6 beteg) tartották egyensúlyban szénhidrát háztartásukat. Három beteg az acarbose mellett kis dózisban sulfonylurea készítményt is szedett. (A sulfonylurea készítményt is szedő betegek a vizsgálat alatt csak acarbose-t vettek be.) Összesen tehát 13 beteget vontunk be a vizsgálatba, mely két egymást követő napon történt. Vérvételeket éhomi állapotban és 50 g szénhidrát tartalmú reggeli elfogyasztása után a 60. és a 120. percben végeztünk. Az első nap a betegek nem

vettek be gyógyszert, a második nap közvetlenül a reggeli elfogyasztása előtt 100 mg acarbose-t vettek be.

Magas thrombocytá számmal járó myeloproliferatív kórképben szenvedő betegeknél a fentebb vázoltak szerint határoztuk meg a vegyes aggregátumok számát.

A plazmaviszkózitást Haake mikroviszkoziméterrel mértük, eredményeinket mPas-ban fejeztük ki (Cerat Diagnosztika, Budapest).

A vörösvérsejtek deformabilitását St. George típusú filtrométer segítségével határoztuk meg. 5 µm pórusátmérőjű szűrőket alkalmaztunk. A sejtek deformabilitását a relatív sejtt tranzit idő (RCCT) jellemzi, alakváltozásuktól függően mennyi idő alatt jutnak át a szűrőn^{105,106}.

A fibrinogénszint mérését rutin haemostasis vizsgálat keretében végeztük (derivált fibrinogén módszer).

A vörösvérsejtek intracelluláris lipidperoxidációját a sejtek malondialdehid szintjének mérésével határoztuk meg. Tiobarbitursavas módszert alkalmaztunk, 532 és 600 nm-en végzett fotometrállással határoztuk meg a malondialdehid szintet, melyet gramm haemoglobinra számított nmol malondialdehidben adtunk meg (nmol MDA/g Hgb).

A plazma lipidperoxidációra a teljes antioxidáns státusz (TAS) méréséből következtettünk, a lipidperoxidáció ugyanis a teljes antioxidáns státusz inverz képe. Méréseinkhez Randox kitet használtunk⁴.

Az endothelium NO-termelésére a szérumban és vizeletben mért NO₃/NO₂ szintből következtettünk. Az NO rendkívül rövid féléletidejű molekula (3-5 másodperc), hamar NO₂-vé, ill. NO₃-má alakul, melyek szintje jól mérhető. Az elfogyasztott élelmiszerek fehérje tartalma nagymértékben befolyásolhatja az ürített NO₂/NO₃ mennyiségét, ezért a vizsgálatban részt vevő betegek a vizsgálatot megelőző nap 60 g fehérjetartalmú diétát tartottak és nitrát-tartalmú gyógyszert nem vettek be.

A thrombocyták NO-termelését ex vivo NO-mérő készülékkel határoztuk meg. Vénás alvadást gátló vérmintából származó vérlemezkéket (ACD /citrát/ oldat, Beckton-Dickinson) három ízben mostuk HEPES-pufferben (pH 7,4), majd a harmadik mosás után 0,9%-os NaCl-ben resuspendáltuk. A mosott thrombocytá suspensió NO termelésének mérése: a méréseket NO-szenzitív mikroelektrodájú, az in vitro celluláris NO termelés céljára kifejlesztett speciális készülékkel (ISONOP 200, ISO-NO WPI, Sarasota, Florida) végeztük. Az NO mennyiség

standardizálására gyár által mellékelt SNAP donort használtuk, hat koncentrációt felvéve. Az eredményeket egységesen 100000 thrombocytra vonatkoztatva adtuk meg. L-Arg tartalmú pufferben vizsgáltuk a vérlemezkék nyugalmi NO képzését, s ezt alapvonalnak tekintve alkalmaztuk az aktivátorokat: kollagént (2,5 mg/ml), thrombint (3,1 mE/ml), adrenalin (0,25 ug/ml), ristomycin (31,5 ug/ml). A zárójelben levő számok a mérőfolyadékban levő aktivátor végkoncentrációkat jelzik. Minden esetben elvégeztük az inkubációt és a mérést az L-Arg kompetitív metabolikus inhibitorai jelenlétében is (így nem képes NO képződni) is, e célra a más közleményekben is alkalmazott L-NAME (nitro-L-arginine-metilészter)-t, és L-NNA (L-nitro-L-arginine)-t használtunk (9).

Az NO termelés a pikoAmper (pA) nagyságrendű elektromos válaszként jelent meg az általunk alkalmazott thrombocyta/aktivátor rendszerben. A gyorsan emelkedő, majd tetőző áramerősség változást a reakcióidő függvényében görbeként ábráztuk, s azt az enzimkinetikából jól ismert paraméterekkel jellemeztük: így V_{max} : az időegységre jutó pA változás, a K_m a maximális válasz feléig eltelt idő. Az NO termelés mennyiségi változásaira a V_{max} a jellemző (ezt illesztettük a SNAP standard pontokhoz), míg a képződés gyorsaságát a K_m érték jelzi (értelemszerűen a nagyobb szám lassabb produkcióra utal).

Az *endothelium károsodás* mértékére a szérum vWF szintje utalt, melyet ELISA módszerrel mértünk.

A *homocystein* meghatározást HPLC módszerrel végeztük.

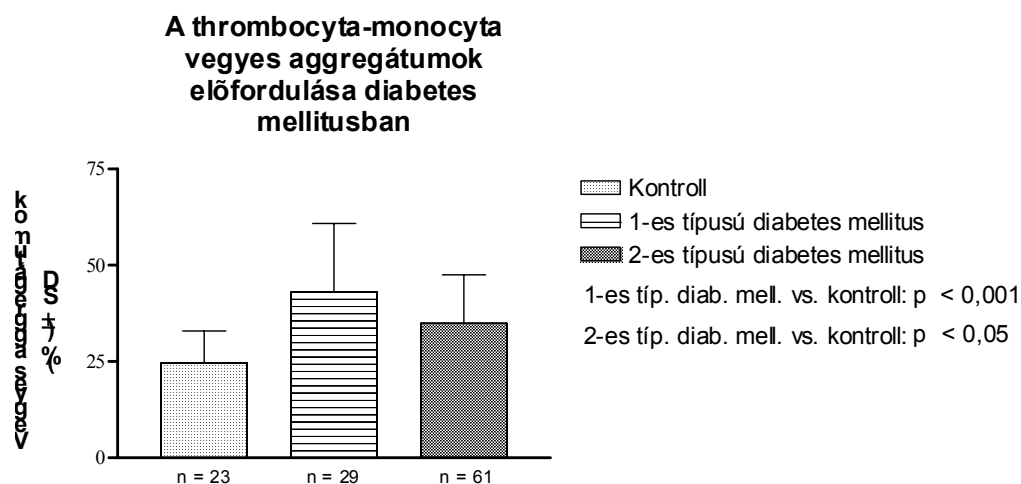
A *Helocobacter pylori pozitivitásra* urea-kilégzési teszt segítségével következtítettünk (UBT).

Az egyes mérési módszerek pontos, részletes leírását a vonatkozó közleménynek részletesen tartalmazzák.

Statisztikai kiértékelés: Az eredményeket átlag \pm szórás alakban adtuk meg. A csoportok átlagainak összehasonlítására egyszempontos varianciaanalízist alkalmaztunk, Tukey-Kramer próbával kiegészítve a páronkénti összehasonlításokhoz. A változók közötti függő viszonyt a Pearson-féle korrelációs együtthatóval (r) jellemeztük.

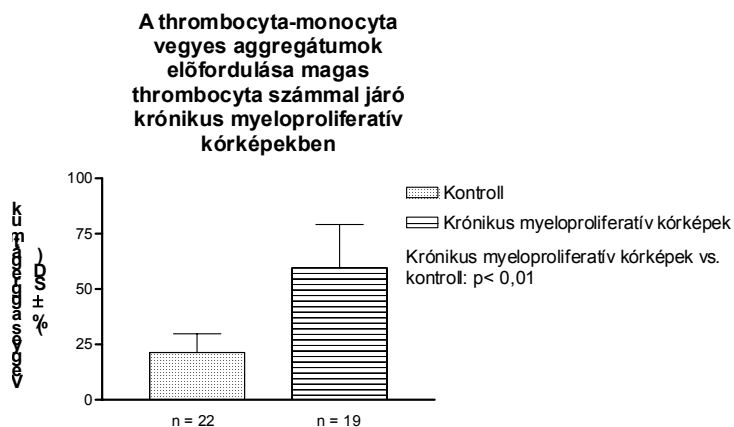
EREDMÉNYEK

A *thrombocyta-monocyta vegyes aggregatumok* számában észleltünk jelentős, szignifikáns különbséget a *diabeteses* és a kontroll csoport között, a két diabeteses csoport között azonban már nem (1-es típ. diab. mell.: $43,0 \pm 17,8$, 2-es típ. diab. mell.: $34,9 \pm 12,5$, kontroll: $24,6 \pm 8,2$; 1-es típ. diab. mell. vs kontroll: $p < 0,001$, 2-es típ. diab. mell. vs kontroll: $p < 0,05$, 1-es típ. diab. mell. vs 2-es típ. diab. mell.: $p > 0,05$, 1. ábra).



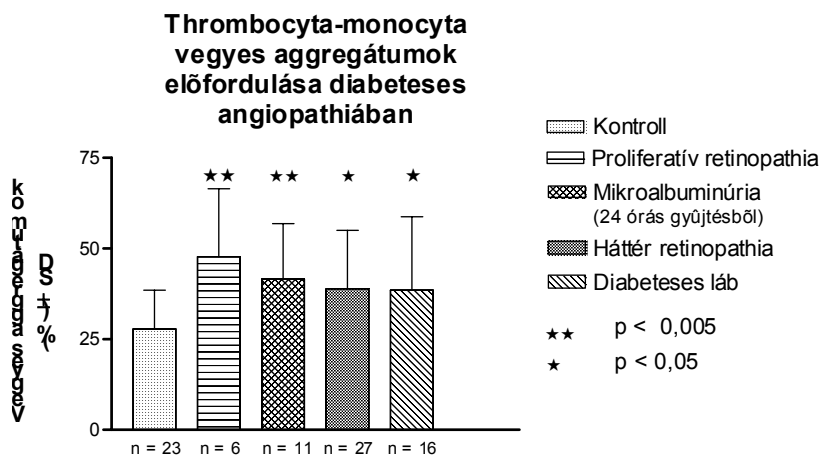
1. ábra

Magas thrombocyta számmal járó *krónikus myeloproliferatív kórképek* esetén még határozottabb thrombocyta-monocyta aggregátum szám emelkedést tapasztaltunk mint diabeteses betegekben (krónikus myeloproliferatív kórképek: , kontroll: 2. ábra).



2. ábra

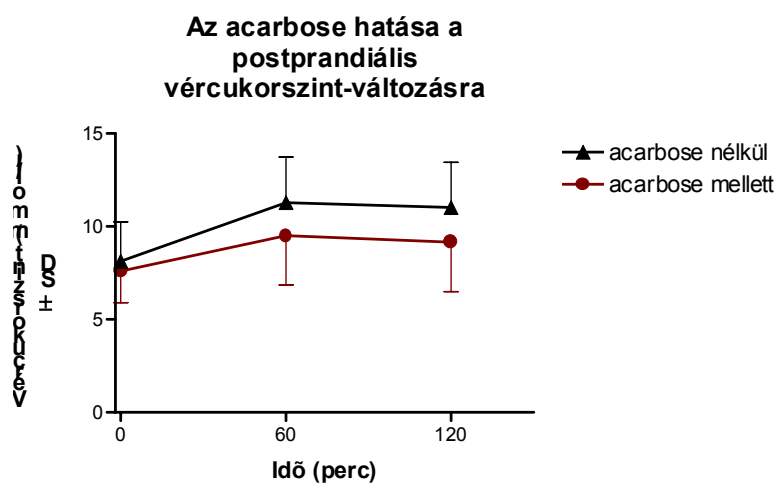
A thrombocyta-monocyta aggregátumok diabeteses érszövödmények szerinti előfordulását szemlélteti a 3. ábra. Proliferatív retinopathia és mikroalbuminuriával járó nephropathia eseteiben észleltük a leghatározottabb emelkedést (proliferatív retinopathia: $47,5 \pm 18,6$, nephropathia (mikroalbuminúria): $41,5 \pm 15,4$, 3. ábra).



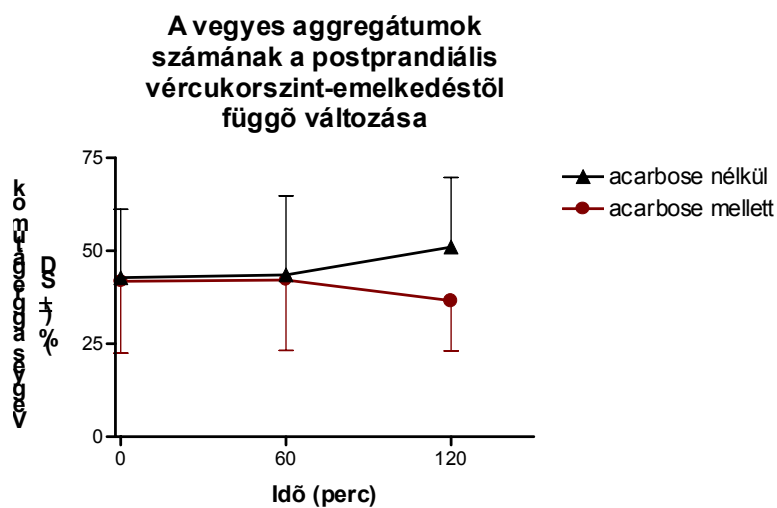
3. ábra

A vegyes aggregátumok számának **összefüggését az aktuális vércukorszint-változással** a 4/a és 4/b ábrák szemléltetik. A várakozásnak megfelelően a vércukorgörbék egymással paralell

futnak, az acarbose bevétele után alacsonyabbak. Az átlagérték különbségek a 60. percben 1,1 mmol/l-nek, a 120. percben pedig 0,5 mmol/l-nek adódtak. A vegyes aggregátumok aránya között a 60. percben nem észleltünk különbséget, a 120. percben azonban igen. A thrombocyta-monocyta vegyes aggregátumok aránya a 120. percben 52,6% volt a gyógyszert nem szedő, míg 44,8% az acarbose-t szedő csoportban.



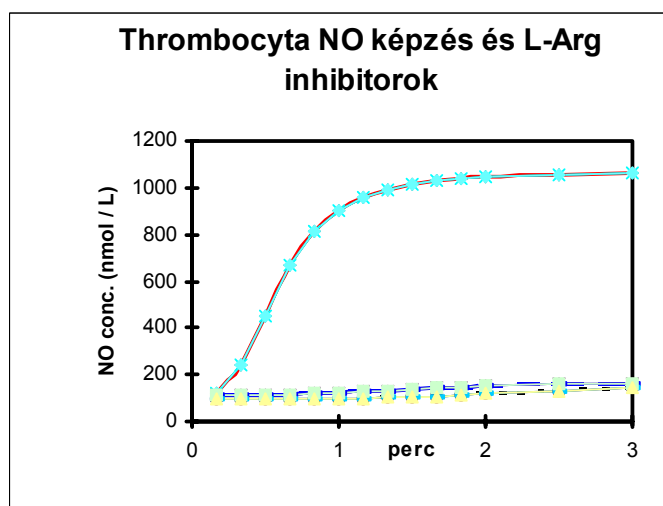
4/a ábra



4/b ábra

A szérum nitrit/nitrát szintjének és ennek következtében a vizelet nitrit/nitrát tartalmának csökkenése szignifikáns különbséget jelzett diabeteses betegek és egészséges kontrollok között (1-es típ. diab. mell.: szérum nitrit/nitrát: $14,10 \pm 7,10$ vs. kontroll: $25,30 \pm 10,70$, $p < 0,01$, vizelet nitrit/nitrát: 1-es típ.diab. mell.: $816,50 \pm 281,60$ vs. kontroll: 1254 ± 339 , $p < 0,01$; 2-es típ. diab. mell.: szérum nitrit/nitrát: $15,10 \pm 6,30$ vs. kontroll: $25,30 \pm 10,70$ $p < 0,05$, vizelet nitrit/nitrát 2-es típ. diab. mell.: $761,90 \pm 273,50$ vs. kontroll: 1254 ± 339 , $p < 0,01$, a nitrit/nitrát tartalom mértékegysége: $\mu\text{mol/l}$).

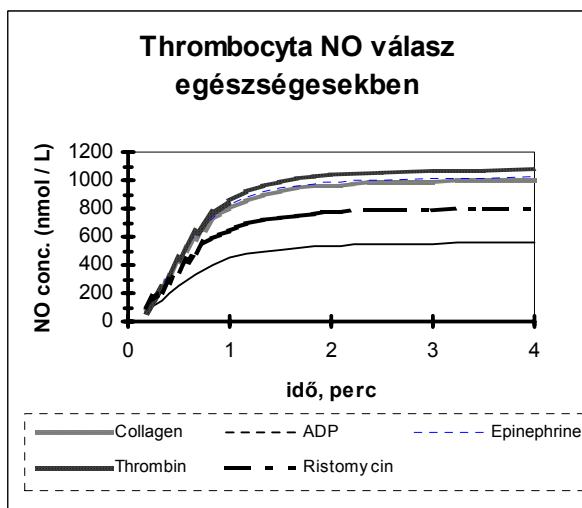
A thrombocyta NO válasz általában az aktivátor alkalmazását követően 20 - 40 másodpercen belül jelentkezett. Az 5. ábrán egészséges egyének thrombocytáinak kollagén stimulációt követő NO termelése látható, az L-Arg kompetitív antagonistái (L-NAME, L-NNA) jelenlétében NO válasz nem jelenik meg.



5.ábra Thrombocyta NO képzés, az L-Arg specifikus inhibitorainak hatása. Ábramagyarázat:

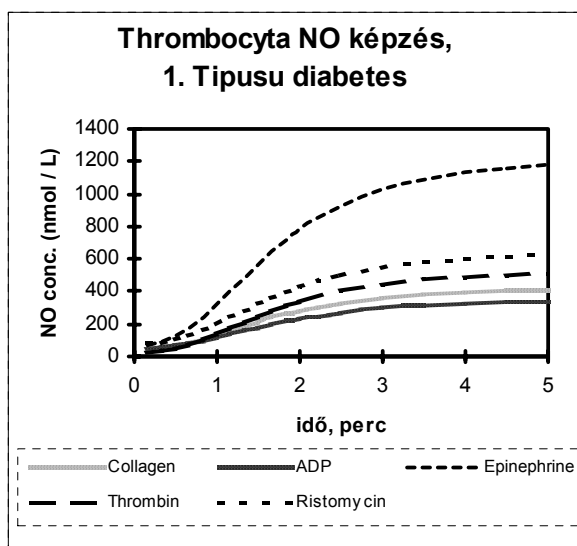
A felső görbe az L-Arg pufferben kollagén után megjelenő thrombocyta NO választ jelzi, míg az alsó két görbe esetén a pufferben az L-Arg mellett L-NAME vagy L-NNA (NO szintézis kompetitív inhibitorai) volt. Látható, hogy az inhibitorok mellett nem alakul ki rendszerünkben NO képződés.

A 6. ábrán jól követhető az egyes aktivátorokra adott NO válasz egészséges személy mosott thrombocytaiból készült suspensióban.

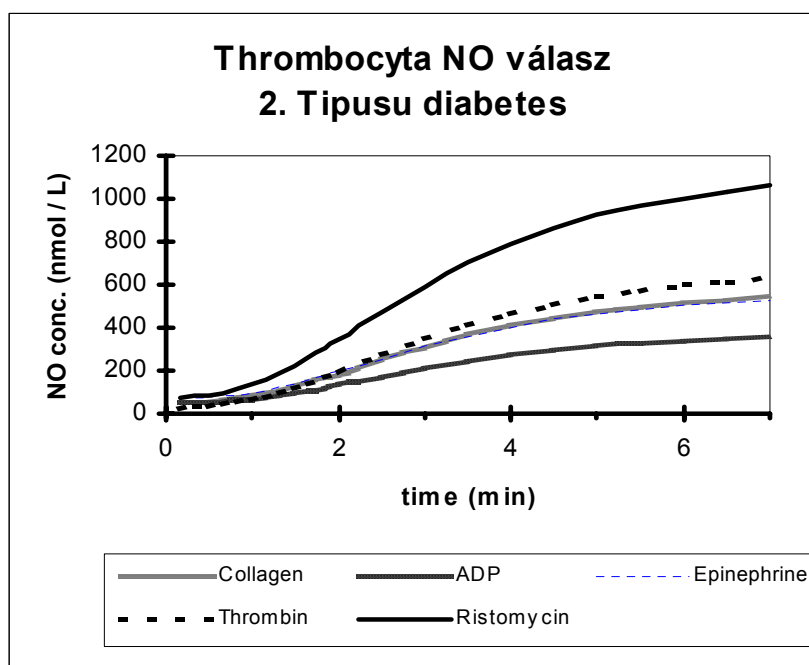


6. ábra Jellegzetes thrombocyta NO válasz vérlemezke aktivátorokra, kontroll

A 7. ábrán egy-egy cukorbeteg thrombocytainak tipikus NO válaszgörbéi láthatók, melyek jól demonstrálják a vérlemezke NO képzés csökkenését mindkét diabetes típusban.



7/a ábra Thrombocyta NO képzési görbék 1-es típusú diabetes mellitusban



7/b ábra. 2-es típusú diabetes mellitus

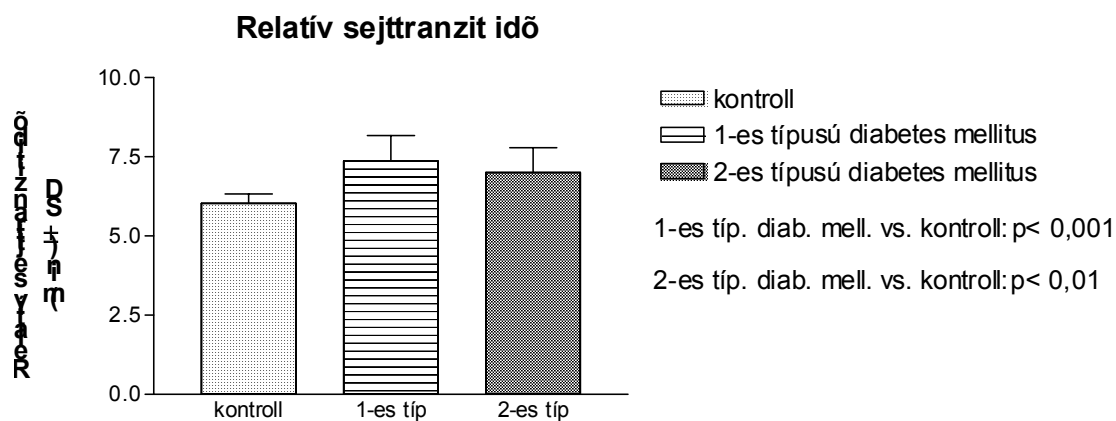
Az 2. Táblázatban a mosott vérelemezkekben a különféle ingerekre képződő, 100000 thrombocyta-ra számolt átlagos NO koncentrációt (nMol/l/100000 thrombocyta), valamint kinetikus paraméterként az átlagos Km értéket (ez abszolút értékében a reakció sebességével fordítottan arányos), valamint szórásaikat tüntettük fel.

<u>Vizsgált csoport</u>	<u>Kollagén</u>		<u>ADP</u>		<u>Adrenalin</u>		<u>Thrombin</u>		<u>Ristomycin</u>	
	Nano mol/l	Km	Nano mol/l	Km	Nano mol/l	Km	Nano mol/l	Km	Nano mol/l	Km
Kontroll	901,3	1,75	377,3	2,51	950,2	1,61	1049	1,66	682,2	1,44
	± 381,1	± 1,48	± 159,1	± 1,98	± 314,2	± 1,51	± 402,2	± 1,42	± 292,4	± 0,96
1-es típusú diabetes	529,1	1,77	188,6	2,25	821,9	2,18	555,4	1,18	823,0	1,70
	± 216,2	± 1,36	± 99,4	± 1,23	± 297,3	± 0,91	± 212,3	± 0,50	± 271,4	± 1,16
2-es típusú diabetes	606,6	1,31	221,6	1,44	807,5	3,87	605,5	1,87	868,7	2,37
	± 346,5	± 1,55	± 178,2	± 0,19	± 394,5	± 1,62	± 286,1	± 0,94	± 375,0	± 0,96

2. Táblázat. A thrombocyta NO képzés mennyisége (nmol/l/100000 thrombocyta) és sebessége (Km) a vizsgált egészségesekben és cukorbetegekben.

Az eredmények jelentős szórása ellenére 1-es típusú diabetesben a thrombocyta NO produkció statisztikailag is jelentős (szignifikáns) mértékben csökkentnek bizonyult a kontrolcsoporthoz képest kollagén, ADP, thrombin ingerléskor. Adrenalin esetében a képződött NO mennyisége nem csökkent, de a képzés üteme szignifikánsan késedelmes, lassult. 2-es típusú cukorbetegségben a thrombocyta NO képzés mennyiségi zavara enyhébb, szignifikáns mértékű csökkenés a thrombin esetében észlelhető. Az adrenalin és a ristomycin esetében a képzés sebessége azonban e betegcsoportban is statisztikailag jelentős mértékben lelassul. Sajátos módon ADP után az NO válasz gyorsabb a 2-es típusú cukorbetegben, mint az egészségesekben. A szignifikáns különbségeket a táblázatban árnyékolással jelezzük.

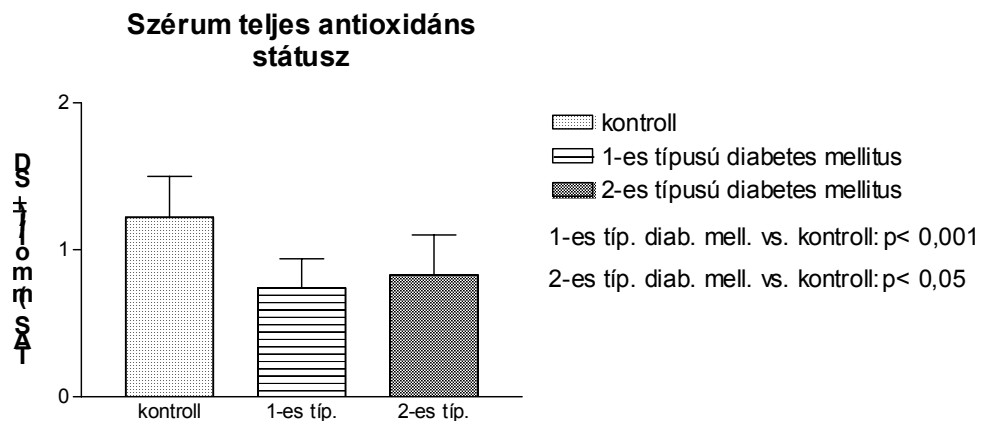
A vörösvérsejtek deformabilitásában észlelt csökkenés szignifikáns különbséget jelez a cukorbeteg és a kontroll csoport között, határozottabb eltérést 1-es típusú diabetes esetén láttunk (1-es típ. diab. mell.: $7,36 \pm 0,81$ vs. $6,03 \pm 0,30$, $p < 0,001$; 2-es típ. diab. mell.: $7,00 \pm 0,79$ vs. $6,03 \pm 0,30$, $p < 0,01$, 8. ábra).



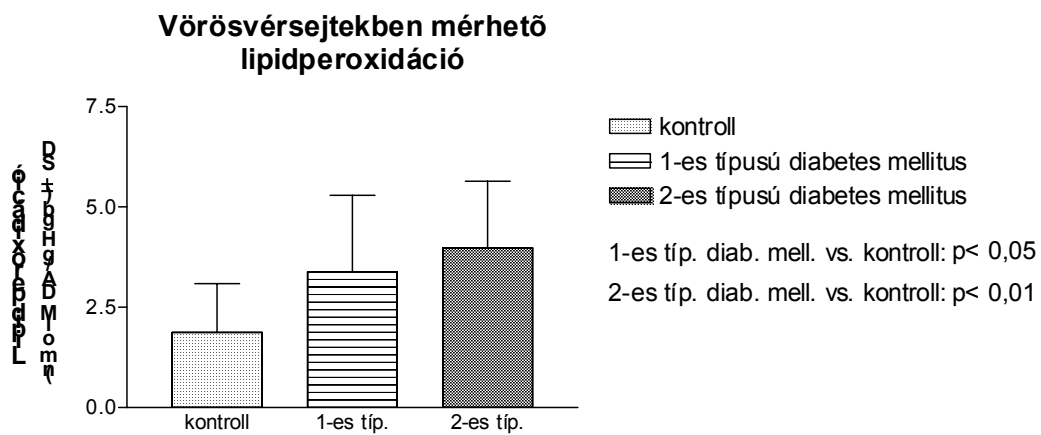
8. ábra

A TAS csökkenése, azaz a lipidperoxidáció plazmában mért fokozódása is szignifikáns, hasonlóan a vörösvérsejtek lipidperoxidációjának fokozódásához. (TAS (mmol/l): 1-es típ. diab. mell.: $0,74 \pm 0,20$ vs. kontroll: $1,22 \pm 0,28$, $p < 0,001$; 2-es típ. diab. mell.: $0,83 \pm 0,27$ vs. kontroll: $1,22 \pm 0,28$, $p < 0,05$; vörösvérsejtekben mérhető lipidperoxidáció

(nmol MDA/g Hgb): 1-es típ. diab. mell.: $3,38 \pm 1,91$ vs. kontroll: $1,87 \pm 1,22$, $p < 0,05$; 2-es típ. diab. mell.: $3,98 \pm 1,66$ vs kontroll: $1,87 \pm 1,22$, $p < 0,01$, lsd. 9/a és 9/b ábrákat)

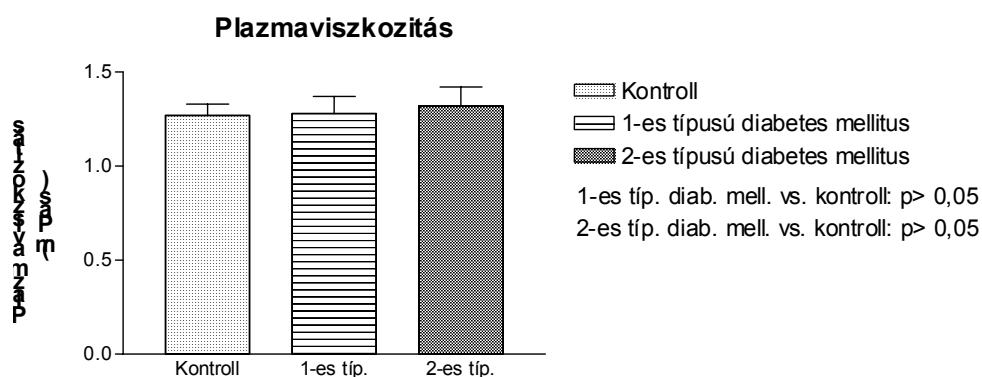


9/a ábra



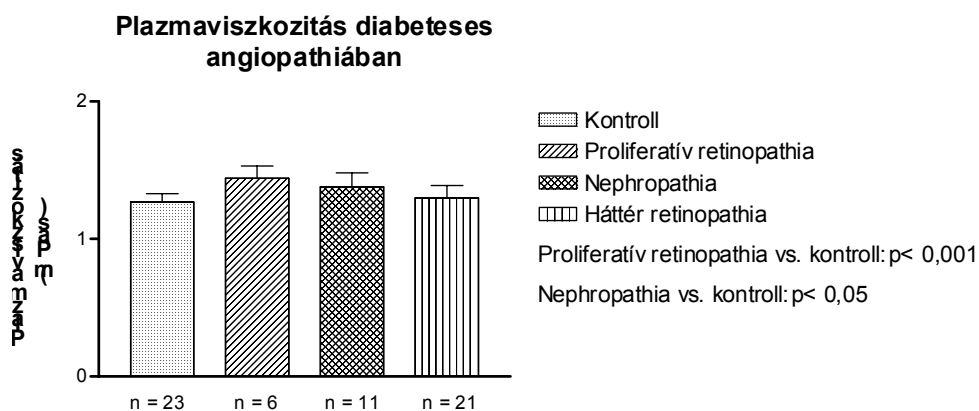
9/b ábra

A plazmaviszkozitásban nem volt jelentős különbség a diabeteses és kontroll csoport között, a fibrinogénszintben a szignifikancia szintjén mozgó különbséget találtunk. (Plazmaviszkozitás: 1-es típ. diab. mell.:1,28 vs. kontroll:1,27; 2-es típ. diab. mell.: 1,32±0,10 vs. kontroll: 1,27, $p>0,05$. Fibrinogénszint: 1-es típ. diab. mell.: 3,14±1,18 vs. kontroll: 2,46±0,90, $p>0,05$; 2-es típ. diab. mell.: 3,57±1,86 vs. kontroll: 2,46±0,90 $p=0,06$, lsd. 10. és 11. ábrákat)

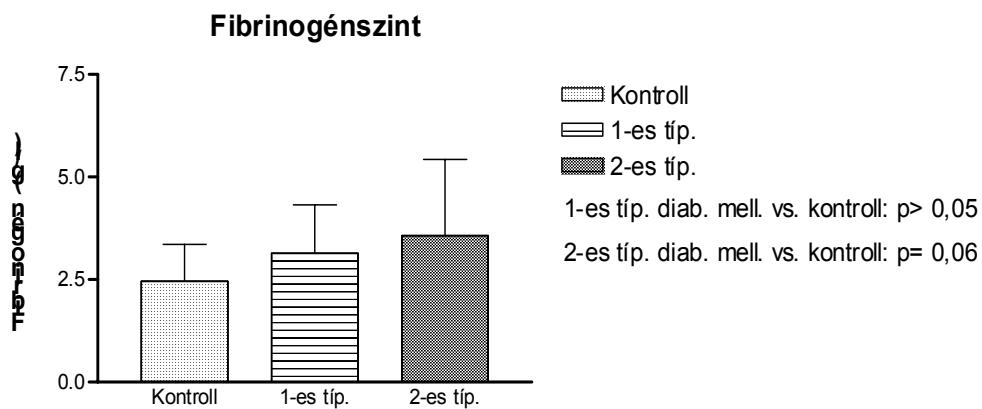


10. ábra

A plazmaviszkozitást egyes szövödményekre lebontva a **nephropathiás** és **proliferatív retinopathiás** betegcsoport és kontroll csoport, valamint a **proliferatív retinopathiás** és **háttér retinopathiás** esetek között szignifikáns különbséget észleltünk (nephropathia vs. kontroll $p<0,05$; PRP vs. kontroll $p<0,001$).

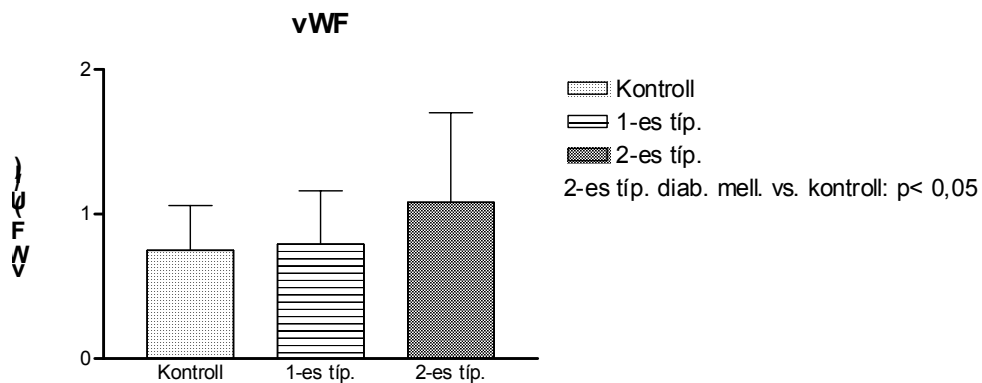


11. ábra



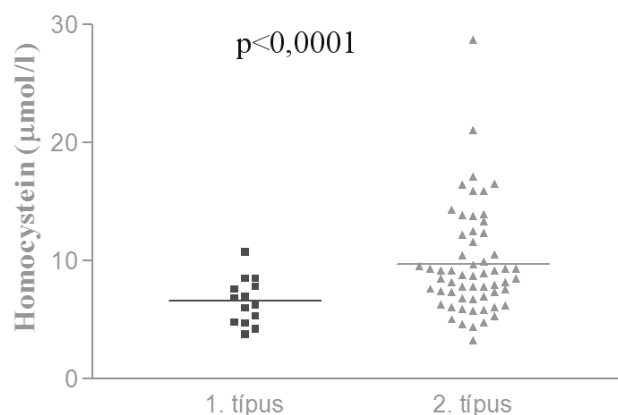
12. ábra

A *vWF* szintje 2-es típusú diabetesesekben volt szignifikáns mértékben emelkedett (Izd. 13. ábrát).



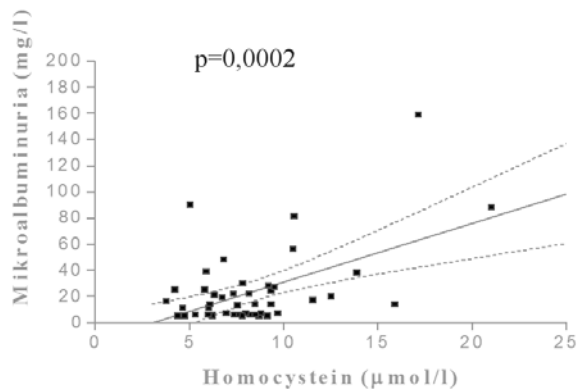
13. ábra

A *homocystein* szintet 2-es típusú diabeteses betegekben szignifikánsan magasabbnak találtuk mint 1-es típusúakban ($p < 0,0001$) (lsd. 14. ábrát).



14. ábra Homocysteinszint 1-es és 2-es típusú diabetes mellitusban

Az irodalomból ismert életkortól való függést eredményeink is tükrözték (a kor előrehaladtával szintje emelkedik). A nephropathiát jelző albuminürítés jól korrelált a homocystein szinttel, mikroalbuminuria mellett szignifikánsan magasabb értékeket mértünk (lsd. 15. ábrát), a diabeteses retinopathiával azonban nem találtunk összefüggést.

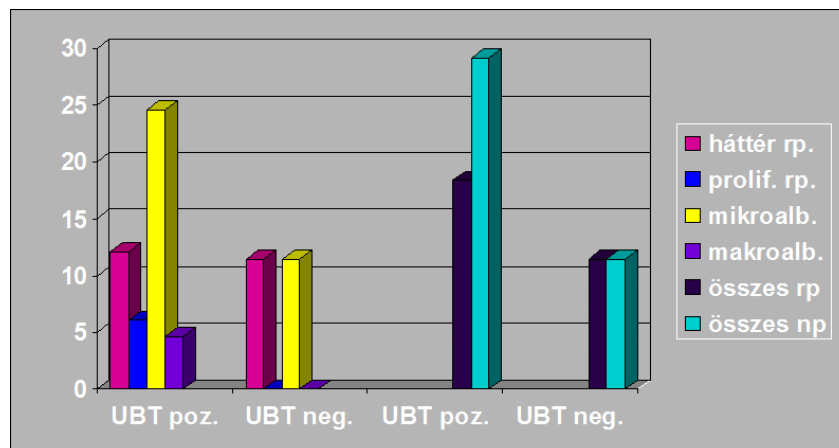


15. ábra Mikroalbuminuria a homocysteinszint függvényében

A *Helicobacter pylori* pozitív diabeteses betegek között gyakrabban fordult elő súlyos érszövődmény mint a Helicabacter negatív csoportban (lsd. 16. ábrát és 3. táblázatot).

	UBT poz.	UBT neg.	
betegszám	65	35	
retinopathia (háttér)	8 - 12,1%	4 - 11,4%	(eset,%)
retinopathia (prolif.)	4 - 6,1%	0	(eset,%)
mikroalbuminuria	16 - 24,6%	4 - 11,4%	(eset,%)
makroalbuminuria	3 - 4,6%	0	(eset,%)
diab.tartam	7,3 ± 6,9	5,2 ± 6,51	(év)
HgbA1c	7,7 ± 1,6	7,67 ± 2,1	(%)

3. táblázat



16. ábra

A cukorbetegség között általunk észlelt mintegy 65%-os *Helicobacter* előfordulási gyakoriság meghaladja a hasonló korú nem diabeteses kontroll csoportban észlelt értéket (50-55%). Eredményeink messzemenő következtetésekre nem adnak lehetőséget, inkább figyelem felkeltő jellegűnek tartjuk. A krónikus fertőzések és a diabeteses angiopathia kapcsolatát egyre több adat erősíti. További, nagyobb betegszámot felölelő vizsgálat szükséges a pontosabb összefüggések feltárására.

FONTOSABB MEGÁLLAPÍTÁSOK

1. Diabetesben, annak mindkét formájában és magas thrombocyta számmal járó myeloproliferatív kórképekben a thrombocyta-monocyta vegyes aggregátumok száma szignifikánsan nagyobb az egészséges kontroll csoport értékeihez viszonyítva.
2. Cukorbetegben nem mutatható ki összefüggés a szénhidrátháztartás egyensúlya (HgbA1c) és a vegyes aggregátumok száma között.
3. A thrombocyta–monocyta vegyes aggregátumok érszövődmények mellett fordulnak elő legnagyobb számban, elsősorban súlyos kísérbetegség eseteiben (proliferatív retinopathia és mikroalbuminuriával járó nephropathia). Meg kell jegyezni, hogy két beteg esetében súlyos érbetegség ellenére az átlagosnál alacsonyabb számú vegyes aggregátumot mértünk, ugyanakkor ennek ellenkezőjére is volt példa, amikor szövődménymentes betegekben (szintén 2 beteg) észleltünk emelkedett vegyes aggregátum számot. Összességében eredményeink arra utalnak, hogy a keringésben nagyobb arányban előforduló thrombocyta-monocyta vegyes aggregátumok hozzájárulnak a diabeteses angiopathia kialakulásához. További, részletes vizsgálatok szükségesek a szabadon keringő, valamint az érfalhoz kitapadt aggregátumok angiopathia pathogenesisében betöltött szerepének pontosabb meghatározására.
Fontosnak tartom annak megállapítását, hogy az étkezést követő, nem szignifikáns vércukorszint emelkedés is hatással van a vegyes aggregátum képződésre. Postprandialis állapotban a 60. perc után fokozódik a thrombocyta-monocyta aggregátumok képződése, melynek vélhetően szerepe van a diabeteses angiopathia kialakulásában és a szigorú postprandialis vércukorkontroll szükségességére hívja fel a figyelmet.
4. Magas thrombocyta számmal járó myeloproliferatív kórképekben jelentős számú thrombocyta-monocyta vegyes aggregátum képződést tapasztalható, közel kétszer nagyobb mértékű mint diabetes mellitusban. Az érszövődmények kialakulását magasabb vegyes aggregátum szám mellett gyakoribbnak észleltük, mely a vegyes aggregátumok

érszövődmények kialakulását befolyásoló szerepe mellett szól.

5. Vizsgálataink megerősítik a tényt, hogy a nyugvó thrombocyta nem termel NO-t in vitro feltételek között. A *thrombocytában*, in vitro rendszerben NO termelés indukálható L-Arg jelenlétében és az aggregometérben is használt, aggregometriás koncentrációjú, élettanilag és kórélettanilag releváns stimulánsok hatására. Ez a válasz a legkisebb ADP után és a leginkább jelentős mennyiségű thrombin hatására. A válasz általában fél percnél már jelentős, 1 percnél megközelíti a maximális koncentrációt, nagyságrendjét tekintve néhány száz nmol/l-t ér el, 100000 thrombocytára vonatkoztatva. Adataink arra utalnak, hogy a thrombocyta NO válasz az in vitro rendszerben a cukorbetegség mindkét típusában csökkent. A jelenség okára vonatkozóan csak feltételezésekre lehet alkalom, valószínű az L-Arg felhasználás diabetesben megjelenő zavarának lehet fontos pathogenetikai szerepe. A ristomycin válasz értelmezése annyiban más, hogy ez az antibiotikum nem élettani vérelezke inger, hanem a vérelezke adhézió, kitapadás szempontjából kiemelt fontosságú thrombocyta - von Willebrand faktor kölcsönhatás vizsgálatára (így a Willebrand betegség diagnosztikájára) is alkalmas anyag. Jól ismert, s indokolja a ristomycinnel végzett vizsgálatokat, hogy diabeteses angiopathiában a plazma von Willebrand faktor szintje jelentősen emelkedett. A thrombinra, kollagént adott válasz cukorbetegben csökkent mennyiségű. Adrenalin után nem annyira a válasz nagysága csökken, hanem az NO képződés időben válik késedelmessé. Ennek jelentősége lehet a thrombocyta thrombus képződése vonatkozásában is. Az ADP-re adott válaszok összehasonlítása eleve nehéz az NO válasz igen csekély mennyisége miatt. Az 1-es típusú cukorbetegségben a thrombocyta in vitro NO válasz csökkenése markánsabb, kifejezettebb mértékű a hasonló előjelű, de kisebb mértékű csökkenéshez képest, amelyet a 2-es típusú diabetesesekből származó thrombocyták esetében észleltünk. A leírt vérelezke NO válasz csökkenés szerepet játszhat a cukorbetegben ismert, többszörösen dokumentált thrombocyta túlműködés kialakulásában, amelynek a jelenség eddig nem felismert, azonosított kiváltó vagy súlyosbító tényezője lehet. Az adatsor új építőkö, elem lehet a diabeteses angiopathia és a vasculáris haematologia kapcsolatának elemzésében is. A kis esetszám nem ad alkalmat arra, hogy a diabetes tartama, az

érszövődmények kiterjedtsége, súlyossága és a talált eltérések között összefüggések legyenek megállapíthatók.

Természetesen az eredmények értékelése komoly kritikát és óvatosságot igényel, az alábbi okok miatt:

- A vizsgálatok in vitro jellegűek, ezért valamennyi klinikailag releváns következtetés, hypothesisen alapul.
- A thrombocyta preparátum az ismételt mosás ellenére sem tekinthető teljesen tisztának. A további mosás vagy tisztítás azonban a thrombocyta szám és funkció vesztesét eredményezte volna, a tisztaság már nem javult a mosások további ismétlése után.
- A vizsgálat munkaiigényes, bonyolult volta sem változtat azon, hogy az esetszám kicsi. Jelentős a különbség az életkor és nem tekintetében a csoportok között, melyek nem tekinthetők teljesen homogén módon összevethetőnek.
- A légköri és táplálkozási, ivóvízzel, esetleg gyógyszerrel történő nitritbevitel esetleges különbségei az in vitro NO mérés eredményeit jelentősen torzíthatják, bár ezek a tényezők általában megtévesztően magas NO értékeket eredményezhetnek. A csökkent válasz nem lehet efféle artefactum eredménye. A nyugvó thrombocyta esetében nincs NO produkció, s ez is a külső zavaró tényezők, artefactumok lehetősége ellen szólhat.

6. A plazmaviszkózítás nem, míg a fibrinogénszint a szignifikancia határán mozogva különbözik a diabeteses és egészséges csoport között. A plazmaviszkózításban talált különbség a nephropathiás és proliferatív retinopathiás betegcsoport és kontroll csoport, valamint a proliferatív retinopathiás és háttér retinopathiás esetek között szignifikáns (nephropathia vs. kontroll $p < 0,05$; PRP vs. kontroll $p < 0,001$; PRP vs. RP $p < 0,007$). Adataink szerint a háttér retinopathiában szenvedő betegek száma a kor előrehaladtával emelkedik, a proliferatív retinopathiás betegek fiatalabbak és a plazmaviszkózítás nem korrelál az életkorral, tehát a proliferatív retinopathia kialakulásának háttérében nem az életkorral járó változások állnak. A plazmaviszkózítás a háttér retinopathiás csoportban is emelkedett, a szignifikancia határához közeli, de nem éri el azt. Irodalmi adatok szerint a plazmaviszkózítás és a fibrinogénszint diabeteses betegekben emelkedett az egészségesekhez képest. Az emelkedettség mértékét egyes szerzők csak bizonyos érszövődmények (diabeteses neuropathia, illetve nephropathia) eseteiben találták

szignifikánsnak, azonban olyan vizsgálatokról is beszámolnak, amelyekben nem volt különbség a haemorheologiai paraméterekben a diabeteses angiopathia szerint⁴⁻⁷. Saját eredményeink nem jeleznek határozott különbséget a teljes diabeteses és egészséges csoport értékei között, szövődményekre lebontva azonban nephropathia és proliferatív retinopathia eseteiben szignifikánsan magasabb értékeket kaptunk. A plazmaviszkozitás mértékét a betegség tartam (elsősorban 1-es típusú diabetes), továbbá a szénhidrát háztartás egyensúlya, a plazma fibrinogén és vWF szintjei (elsősorban 2-es típusú diabetes) alakítják. A vörösvérsejtek deformabilitása mindkét diabeteses csoportban szignifikáns mértékben csökkent. Az irodalmi adatok némileg ellentmondásosak. Több közlemény számol be cukorbetegségben kialakuló csökkenésről, egyes vizsgálok azonban nem tudtak különbséget kimutatni az egészséges és diabeteses csoport között, mások pedig csak bizonyos szövődmények - neuropathia vagy nephropathia - egyidejű fennállásakor találtak kifejezett csökkenést. Egyes feltételezések szerint a vörösvérsejtek membránjában létrejövő lipidösszetétel változás (emelkedett foszfolipid és LDL szint) tehető felelőssé a membrán fluiditásának csökkenéséért⁹⁻¹¹. Mások a vörösvérsejt membrán fontos alkotóelemének, a spectrin nevű fehérje oxidatív stressz és glikáció révén létrejövő károsodásának tulajdonítanak fontos szerepet¹². Ismét mások a haemoglobin magas vércukorszint (nem enzimatis glikáció) hatására kialakuló strukturális változását tartják döntőnek, melynek következménye az intracelluláris viszkozitás fokozódása és ez arányban áll a sejtek deformabilitás csökkenésével¹³. Saját eredményeink diabeteses betegekben szignifikáns deformabilitás csökkenést igazolnak, a nephropathia és a retinopathia előfordulásával, ill. egyéb, az angiopathia kialakulásában szerepet játszó tényezővel azonban nem találtunk összefüggést.

7. A vörösvérsejtekben és a szérumban mérhető lipidperoxidáció fokozódás mindkét diabeteses csoportban szignifikáns. Előbbi az 1-es típusú, utóbbi a 2-es típusú betegcsoportban kifejezettebb. A fokozott oxidatív stressz angiopathia létrejöttében betöltött szerepéről számos közlemény beszámol. Munkánkban mind 1-es, mind 2-es típusú diabetesben az antioxidáns státusz erőteljes csökkenését tapasztaltuk ($p < 0,001$). 1-es típusú diabetesben a szénhidrát háztartás egyensúlyával (HgbA1C), 2-es típusúban pedig a betegségtartammal igazolódott szignifikáns korreláció.

A lipidperoxidáció (plazmában és a vörösvérsejtekben egyaránt) az irodalmi adatok szerint is mindkét diabetes formában szignifikánsan emelkedett¹⁴⁻¹⁶. A vörösvérsejt membrán fluiditása, deformabilitása és a lipidperoxidáció közötti logikus, korábban már leírt összefüggést saját vizsgálataink nem erősítik meg. Ennek egyik oka lehet, hogy a vörösvérsejtek lipidperoxidációja nagymértékben függ az aktuális vércukorszinttől, aránylag rövid ideig tartó hyperglykaemia is jelentősen fokozza azt^{17,18}.

8. Eredményeink alapján az egyes, diabeteses angiopathia kialakulása szempontjából fontos pathogenetikai tényezők között az alábbi összefüggések állapíthatók meg::

1-es és 2-es típusú diabetesben szenvedő betegekben korreláció észlelhető a thrombocyta-monocyta és a thrombocyta-granulocyta vegyes aggregatumok között ($r=0,50$, ill $r=0,54$), vagyis ezen aggregatumok aránya együtt változik, nevezetesen emelkedik. Az emelkedés mértéke a thrombocyta-monocyta aggregatumok esetén szignifikáns. Negatív korreláció állapítható meg a *szénhidrátháztartás egyensúlya* és a TAS között 1-es típusú diabetesesekben ($r=-0,630$, $p=0,012$), azaz pozitív korreláció a *lipidperoxidációval*. Ez az összefüggés nem igazolódott a 2-es típusú betegcsoportban ($r= -0,058$), ugyanakkor utóbbi esetben a *TAS a betegség tartammal* mutat negatív összefüggést ($r= -0,641$, $p=0,025$). A *plazmaviszkozitás* 1-es típusú betegek körében a *diabetes tartammal*, míg 2-es típusú esetekben a *szénhidrát háztartás egyensúlyával és a fibrinogén szinttel* mutat pozitív korrelációt ($r = 0,448$, ill. $r = 0,399$ és $0,499$). 2-es típusú betegek között a *fibrinogénszint és a vWF-szint között* is pozitív összefüggés igazolható ($r=0,626$, $p<0,01$).

9. 2-es típusú diabeteses betegekben szignifikánsan magasabb homocysteinszintet mértünk mint 1-es típusúakban ($p < 0,0001$). A hyperhomocysteinaemia és a mikroalbuminuriával jellemzett nephropathia között észleltünk korrelációt, az irodalomból ismert életkorral való összefüggést is sikerült igazolnunk. Más tanulmányok ismeretében feltételezhető, hogy a cukorbetegség - angiopathia – cardiovascularis betegség kapcsolatának a homocystein meghatározó eleme lehet.

10. A *Helicobacter Pylori* diabeteses angiopathia létrejöttében játszott esetleges szerepe kis betegszámon végzett vizsgálatunk eredménye alapján felvethető. Az a tény, hogy diabetesesek körében gyakoribb volt a HP pozitivitás (65%) mint nem diabeteses kontrollok között (50-55%) és az érszövődmények is gyakrabban fordultak elő a HP pozitív csoportban, ennek lehetőségére és nagyobb betegszámon végzendő vizsgálat szükségességére hívja fel a figyelmet.

ÖSSZEFOGLALÁS

A diabeteses angiopathia kialakulása összetett folyamat. A már meglévő érszövődmények kezelése szükségszerű, de nem megoldott, teljes gyógyulásra többnyire nincs lehetőség. Megfelelő kezeléssel és a szénhidrátháztartás rendezésével a további progresszió lassítható, megállítható, illetve több-kevesebb javulás is elérhető. Jelen ismereteink szerint a legjobb „megoldást” a megelőzés jelenti. Jelentős, pozitív szemléletváltozást tükröz az a tény, hogy a prevenció az elmúlt években a cukorbeteg-gondozás meghatározó elemévé vált.

Az érszövődmények megelőzésének és kezelésének fontos feltétele a pathomechanismus minél pontosabb ismerete és az érbetegségek korai stádiumban való felismerése. Nagy előrelépést jelenthet ezen a téren az angiopathia-hajlam előrejelzésének lehetősége, az ide vonatkozó legfrissebb kutatási eredmények biztatóak. Az angiopathia-rizikó ismeretének jelentőségét hangsúlyozza, hogy a cukorbetegséghez kapcsolódó érbetegségek megjelenése csak részben glykaemia függő folyamatok eredménye. A betegek kb 5%-ában akkor is csak enyhe angiopathia alakul ki, ha nem kezelik megfelelően cukorbetegségüket, míg 10-15%-ban gondos kezelés mellett is súlyos szövődmények lépnek fel. Feltételezhető tehát egy bizonyos öröklött, nem glykaemia függő angiopathia-hajlam, melynek ismerete előrevetíti az érbetegség kialakulásának kockázatát.

Az utóbbi évtizedekben az angiopathia pathogenesisét számos vizsgáló különböző szempontok szerint elemezte és több részletét, részfolyamatát tárták fel. A technikai lehetőségek bővülésével mélyrehatóbb vizsgálatokra nyílt lehetőség és egyre inkább gyűlnek az érszövődmények kialakulását magyarázó, illetve azzal összefüggésbe hozható adatok, a részletekbe menőbb megfigyelések pedig újabb és újabb szempontokat vetnek fel.

Utóbbiak közé sorolhatók a fehérvérsejtek és thrombocyták kapcsolódásakor kialakuló ún. vegyes aggregátumok, a thrombocyták NO-termelésének csökkenése stb. A legfrissebb elgondolások, vizsgálati eredmények szerint a vasanyagcsere - haemochromatosis heterozygota állapot és a haptoglobin polimorfizmus az örökletes angiopathia-hajlam előrejelzésében lehetnek fontosak.

Célul tűztem ki a diabeteses angiopathia kialakulásának több szempontból való vizsgálatát és összefüggéseket kerestem az egyes patogenetikai tényezők között. Munkám

súlyponti részét a thrombocyta-leukocyta vegyes aggregátumok és a thrombocyták nitrogén-monoxid (NO) termelésének vizsgálata képezik. A vegyes aggregátumok számának alakulását magas thrombocyta számmal járó myeloproliferatív kórképekben is tanulmányoztam. Elemeztem továbbá a lipidperoxidáció, a homocysteinszint és a haemorheológiai tényezők cukorbetegekben létrejövő változását. A *Helicobacter pylori* diabeteses érszövődmények kialakulását elősegítő feltételezett hatását is vizsgáltam egy kisebb betegcsoportban.

Irodalmi adatok szerint a thrombocyta-leukocyta vegyes aggregátumok számát egyes kóros állapotokban (pl. myocardialis infarctus akut szakában, extracorporalis keringés mellett végzett szívműtétek kapcsán, stb.) emelkedettnek találták. Vizsgálataink szerint a monocyta-thrombocyta vegyes aggregátumok szignifikánsan nagyobb arányban fordulnak elő diabeteses betegekben az egészséges kontroll csoporttal szemben. Súlyos kísérbetegségek esetén az aggregátumok számának emelkedése kifejezettebb volt. Ez a tény megerősíti az aggregátumok érszövődmények pathogenesisében betöltött szerepére vonatkozó feltételezésünket. Figyelemfelkeltő, új megállapításnak tartom a thrombocyta-monocyta vegyes aggregátumok számának postprandialis vércukorszint emelkedéssel párhuzamosan megfigyelhető növekedését.

Magas thrombocyta számmal járó chronikus myeloproliferatív kórképekben a thrombocyta-monocyta aggregátumok számának emelkedése jelentős, meghaladja a diabeteses betegekben mért értékeket. Értünetek mellett (ujjsibbadás, szédülés, stroke) az emelkedés mértéke még határozottabb.

A vérlemezék NO-termelése mindkét diabetes formában csökkent. Az önmagában nem jelentős mennyiségű NO-nak mint „utolsó szalmaszálnak” szerepe lehet egy esetleges érelzáródás megelőzésében. Hasonló eredményt kaptunk a vizelettel ürített, endothelium NO termelését tükröző NO₂/NO₃ mennyiségében is.

A haemorheológiai tényezők közül a vörösvérsejtek deformabilitását jelző relatív sejtranzit időt, a plazma fibrinogénszintet és viszkozitást határoztuk meg. A relatív sejtranzit idő diabetesben megfigyelhető változására vonatkozó irodalmi adatok kissé ellentmondásosak, többnyire emelkedésről számolnak be. Saját vizsgálatunkban a vörösvérsejtek sejtranzit idejének fokozódását észleltük. A plazmaviszkozitásban nem volt különbség a két diabeteses és a kontroll csoport között, szövődményekre lebontva azonban a proliferatív retinopathiás és

mikroalbuminuriával jellemzett nephropathiás csoportokban szignifikáns különbséget észleltünk. A fibrinogénszintben csak 2-es típusú diabetesesek esetén találtunk a szignifikancia határán mozgó különbséget. A vörösvérsejtek és a plazma lipidperoxidációját egyaránt fokozottnak találtuk a diabetese csoportban, a különbség szignifikáns. A lipidperoxidáció 1-es típusú diabetesesekben a szénhidrátháztartás egyensúlyával, míg 2-es típusú betegekben a betegség tartammal mutat pozitív korrelációt. A plazmaviszkozitás 1-es típusú betegekben a diabetes tartammal, 2-es típusúak között a szénhidrátháztartás egyensúlyával és a fibrinogénszinttel korrelál (pozitív korreláció).

Vizsgálataink az említett tényezők diabetese angiopathia kialakulásában betöltött szerepét támasztják alá.

Eredményeink szerint a hyperhomocysteinaemia is fontos, additív tényező a diabetese nephropathia kifejlődésében.

A Helicobacter pozitívitas vizsgálata inkább figyelemfelkeltő, nagyobb betegszámon végzett meghatározás szükséges annak eldöntésére, mennyiben befolyásolja a diabetese angiopathia kialakulását. Kisebb számú betegen végzett vizsgálatunk alapján a Helicobacter pylori érszövödmények kialakulását elősegítő szerepe felvethető.

IRODALMI HIVATKOZÁSOK

1. Bringley, PJ, Gale, EAM: Rising incidence of IDDM in Europe. *Diabetes Care* 12:289-295, 1989.
2. McCarty, O, Zimmet, P: Diabetes 1994-2010. Global estimates and projections. Bayer AG., Leverkusen, 1994.
3. Green A, Sjolie AK, et al: insulin dependent diabetes in the county of Funen 1970-2020. An epidemiological description. *Ugeskr-Laeger* 160:1163-,1998.
4. Kerényi Zsuzsa, Tamás Gyula és mtsai: A cukorbetegség előfordulása, gyakorisága Magyarországon – amit a családorvosnak tudni kell. *Praxis* 5:57-, 1996.
5. King H, Ronald EA, et al: Global burden of diabetes, 1995-2025. *Diabetes Care* 9:1414-, 1998.
6. Ginsberg BJ, Mazze R: Clinical consequences of the diabetes control and complication trial. *N J Med* 91(4):221-224, 1994.
7. Harris MI, Eastman RC, Siebert C: The DCCT and medical care for diabetes in the U.S. *Diabetes Care* 17(7):761-764, 1994.
8. Diabetes Control and Complication Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New Eng J Med* 329:977-986, 1993.
9. Turner RC: The U.K. Prospective Diabetes Study. A review. *Diabetes Care Suppl* 3:C35-38, 1998.
10. Turner MC, Holman RR: Lessons from UK prospective diabetes study. *Diabetes Res Clin Pract Suppl*:S151-157, 1995.
11. Udvardy Miklós dr, Reményi Gyula dr Rejtő László dr, Káplár Miklós dr: Gondolatok a diabeteszes angiopathia-hajlam vascularis hematológiai vizsgáló módszereiről. *Diab Hung* 9:205-211, 2001.
12. Melamed-Frank M, Lache O, Enav BI, Szafrank T, Levy NS, Ricklis RM, Levy AP: Structure-function analysis of the antioxidant properties of haptoglobin. *Blood* 98(13):3693-3698, 2001.
13. Levy AP, Roguin A, Marsh S, et al. Haptoglobin phenotype and vascular complications in diabetes. *N Eng j Med.* 343:369-370, 2000.

14. Nakhoul F, Zoabi R, Kantor Y, et al. Haptoglobin phenotype and diabetic nephropathy. *Diabetologia* 44:602-604, 2001.
15. Nakhoul F, Marsh S, Hochberg I, Leibur R, Miller B, Levy AP. Haptoglobin phenotype and diabetic retinopathy. *JAMA* 284:1244-1245, 2000.
16. Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G: Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19: 257-267,1996.
17. Sharpe PC, Liu WH, Yue KKM, McMaster D, Catherwood MA, McGinty AM, Trimble ER: Glucose-induced oxidative stress in vascular contractile cells. Comparison of aortic smooth muscle cells and retinal pericytes. *Diabetes* 47: 801-809,1998.
18. Udvardy M, Káplár M, Rejtő L, Tornai I, Palatka K, László P, Huszka M: Increased in vivo platelet activation and reduced intravascular endothelium-derived relaxing factor and nitrate/nitrite production in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Platelets* 9: 257-260,1998.
19. Udvardy M: Rheologiai eltérések és haemostasis zavarok szerepe a cukorbetegnek angiopathiájának kialakulásában. *Diab Hung* 5 (Suppl. 2): 47-52,1997.
20. Cosentino F, L'Uscher TF: Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *J Cardiovasc Pharmacol* 32 Suppl 3: S54-61, 1998.
21. Jain SK, Palmer M: The effect of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. *Free Radic Biol Med* 22(4): 593-596, 1997.
22. Orlandi E, Castelli D, Brusamolino E, Canevari A, Morra E, Lazzarino M, Bernasconi C: Hemorrhagic and thrombotic complications in polycythaemia vera. A clinical study. *Haematologica* 74:45-49,1989.
23. Schafer AI: Bleeding and thrombosis in the myeloproliferativ disorders. *Blood* 64:1-12, 1984.
24. Cancelas JA, Garcia-Avello A, Garcia-Frade LJ: High plasma levels of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in polycythemia vera and essential thrombocythemia are associated with thrombosis. *Thromb Res* 75:513-520, 1994.
25. Vámosi P, Berta A: A diabeteses betegek szemészeti gondozása különös tekintettel a diabeteses retinopathia lézer kezelésére .*Háziorvos Továbbképző Szemle* 3:72-74, 1998.
26. Cameron NE, Cotter MA, et al: Metabolic and vascular factors in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetes* 46 (Supl.2.) 31, 1997.
27. Kollros PR, Konkle BA: Microvascular disease in diabetes mellitus. *Coron Art Dis* 7: 702-707, 1996.

28. Feener EP, King GL: Vascular dysfunction in diabetes mellitus. *Lancet* 350,1,9, 1997.
29. Pogátsa Gábor: in: *Diabetes Mellitus* (szerk: Halmos T, Jermendy Gy.) Medicina, Budapest, 1997. pp: 423-425.
30. Takács J: A cukorbetegség szövődményei. In: *Diabetes mellitus*. Melania 129,1998.
31. DeFronzo RA, Ferrannini E: Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension dyslipidaemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 14: 173-194, 1991.
32. Huszka M, Káplár M, Rejtő L, Palatka K, Udvardy dr.: Csökkent intravasculáris endothel eredetű NO (nitrát/nitrit)- termelés összefüggése az endothel károsodással és a fokozott thrombocyta-aktivációval diabetes mellitusos betegekben. *Diab Hung* 7: 31-36,1999.
33. Ceriello A, Bortolotti N, Pirisi M, Crescentini A, Tonutti L, Motz E, Russo A, Giacomello R, Stel G, Taboga C: Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients. *Diabetes Care* 20: 1589-1593,1997.
34. Baynes JW, Thorpe SR: Role of oxidative stress in diabetic complications. *Diabetes* 48: 1-9,1999.
35. Vijayalingam S, Parthiban A, Shanmugasundaram KR, Mohan V: Abnormal antioxidant status in impaired glucose tolerance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet Med* 13: 715-719,1996.
36. Bryszewska M, Zavodnik IB, Niekurzak A, Szosland K: Oxidative process in red cell from normal and diabetic individuals. *Biochem Mol Biol Int* 37: 345-354,1995.
37. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR: Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci* 90: 255-260,1996.
38. Garnier M, Attali JR, Valensi P, Delatour-Hanss E, Gaudery F, Koutsouris D: Erythrocyte deformability in diabetes and erythrocyte membrane lipid composition. *Metabolism* 39: 794-798, 1990.
39. Peuchant E, Delmas-Beauvieux MC, Couchouren A, Dobourg L, Thomas MJ, Perromat A, Clerc M, Gin H: Short-term insulin therapy and normoglycemia. Effects on erythrocyte lipid peroxidation in NIDDM patients. *Diabetes Care* 20: 202-207,1997.
40. Persson SU, Wohlfart G, Larsson H, Gustafson A: Correlations between fatty acid composition of the erythrocyte membrane and blood rheology data. *Scand J Clin Lab Invest* 56: 183-190,1996.

41. Ceriello A, Bortolotti N, Motz E, Pieri C, Marra M, Tonutti L, Lizzio S, Feletto F, Catone B, Taboga C: Meal-induced oxidative stress and low-density lipoprotein oxidation in diabetes: the possible role of hyperglycemia. *Metabolism* 48(12): 1503-1508, 1999.
42. Ceriello A, Bortolotti N, Motz E, Crescentini A, Lizzio S, Russo A, Tonutti L, Taboga C: Meal-generated oxidative stress in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 21: 1529-1533, 1998.
43. Rabini RA, Fumelli P, Galassi R, Dousset N, Taus M, Ferretti G, Mazzanti L, Curatola G, Solera ML, Valdiguile P: Increased susceptibility to lipid oxidation of low-density lipoproteins and erythrocyte membranes from diabetic patients. *Metabolism* 43(12): 1470-1474, 1994.
44. Tschoepe D, Roesen D, Kaufmann L, Schauseil S, Kehrel B, Ostermann H, Gries FA: Evidence for abnormal platelet glycoprotein expression in diabetes mellitus. *E J Clin Invest* 20: 166- 170, 1990.
45. Brown AS, Martin JF: The megakaryocyte platelet system and vascular disease. *Eur J Clin Invest* 24 (Supl. 1):9-15, 1994.
46. Tschoepe D: The activated megakaryocyte-platelet-system in vascular disease: focus on diabetes. *Semin Thromb Hemost* 21: 152-160, 1995.
47. O'Brien JR, Salmo GP: Shear stress activation of platelet glycoprotein IIb/IIIa plus von Willebrand factor causes aggregation: filter blockage and the long bleeding time in von Willebrand's disease. *Blood* 70: 1354-1361, 1987.
48. Rák K, Beck P, Udvardy M, Pfliegler Gy, Mész M, Boda Z: Plasma levels of beta thromboglobulin and factor VIII related antigen in diabetic children and adults. *Thromb Res* 29: 155-162, 1983.
49. Tschoepe D, Driesch E, Schwippert B, Lampeter EF on behalf of the DENIS Study Group: Activated platelets in subjects at increased risk of IDDM. *Diabetologia* 40: 573-577, 1997.
50. Moncada S, Palmer R, Higgs EA: Nitric oxide, physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109-142, 1991.
51. Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW, McAuley E, Archer DB: Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation end products. *Diabetes* 47: 945-952, 1998
52. Mehta JL, Chen LY, Kone CB, Mehta P, Turner P: Identification of constitutive and inducible forms of nitric oxide synthase in human platelets. *J Lab Med* 125:370-377, 1995.

53. Sase K, Michel T: Expression of constitutive endothelial nitric oxide synthase in human blood platelets. *Life Sci* 57:2049-2055, 1995
54. Berkels R, Stockklauser K, Rösen P, Rösen R: Current status on platelet NO synthases. *Thromb Res* 87:51-55, 1999.
55. Freedman JE, Loscalzo J, Bernard MR, Alpert C, Keaney JF, Michleson AD: Nitric oxide released from activated platelets inhibits platelet recruitment. *J Clin Invest* 100:350-356, 1997.
56. Radomski MW, Palmer R, Moncada S: An L-Arg/nitric oxide pathway in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad USA* 87:5193-5197, 1990.
57. Malinski T, Radomski MW, Taha Z, Moncada S: Direct electrochemical measurement of nitric oxide released from human platelets. *Biochem Biophys Res Commun* 194:960-965, 1993.
58. Gordge MP, Neiled GH: Platelets from patients on hemodialysis show impaired responses to nitric oxide. *Clin Sci* 83:313-318, 1992.
59. Cadwagn TM, Benjamin N: Evidence of altered platelet nitric oxide synthesis in essential hypertension. *J Hypertension* 11:417-420, 1993.
60. Young MJ, Bennett JL, Liderth SA, Veves A, Boulton AJ, Douglas JT: Rheological and microvascular parameters in diabetic peripheral neuropathy. *Clin Sci* 90: 183-187,1996.
61. Lee AJ, Mowbray PI, Lowe GDO, Rumley A, Fowkes FGR, Allan PL: Blood viscosity and elevated carotid intima-media thickness in men and women. *Circulation* 97: 1467-1473,1998.
62. Blann A, Bignell A, McCollum C: von Willebrand factor, fibrinogen and other plasma proteins as determinants of plasma viscosity. *Atherosclerosis* 139: 317-322,1998.
63. Udvardy M: Diabetes mellitus és haemostasis, rheologia. In: *Diabetes mellitus* (szerk: Halmos T, Jermendy Gy) Medicina, Budapest, 1997, pp:510-520
64. Schwartz RS, Madsen JW, Rybicki AC, Nagel RL: Oxidation of spectrin and deformability defects in diabetic erythrocytes. *Diabetes* 40: 701-708, 1991.
65. Rendell M, Fox M, Knox S, Lastovica J, Kirchain W, Meiselman HJ: Effects of glycemic control on red cell deformability determined by using the cell transit time analyzer. *J Lab Clin Med* 117: 500-504,1991.
66. Schut NH, van Arkel EC, Hardeman MR, Bilo HJ, Michels RP, Vreeken J: No decreased erythrocyte deformability in type 1 (insulin-dependent) diabetes, either by filtration or by ektacytometry. *Acta Diabetol* 30: 89-92,1993.

67. MacRury SM, Lockhart JC, Small M, Weir AI, MacCuish AC, Lowe GD: Do rheological variables play a role in diabetic peripheral neuropathy? *Diabet Med* 8: 232-236,1991
68. Zimmermann J, Schramm L, Wanner C, Mulzer E, Henrich HA, Langer R, Heidebreder E: Hemorheology, plasma protein composition and von Willebrand factor in type I diabetic nephropathy. *Clin Nephrol* 46: 230-236,1996.
69. Jay RH, Jones SL, Hill CE, Richmond W, Viberti GC, Rampling MW, Betteridge DJ: Blood rheology and cardiovascular risk factors in type 1 diabetes: relationship with microalbuminuria. *Diabet Med* 8(7):662-667, 1991.
70. Jermendy Gy: AGE: In: *Diabetes mellitus* (szerk: Halmos T, Jermendy Gy), Medicina, Budapest, 1977, pp: 139-145.
71. Vlassara H, Palace MR: Diabetes and advanced glycation endproducts. *J Intern Med* 251:87-101, 2002.
72. Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 41:813-820, 2001.
73. Wautier JL, Guillausseau PJ: Advanced glycation end products, their receptors and diabetic angiopathy. *Diabetes Metab* 27:535-542,2001.
74. Jermendy Gy: Mikrovasc. szövödmények: In: *Diabetes mellitus* (szerk: Halmos T, Jermendy Gy), Medicina, Budapest, 1977, pp: 333-343.
75. Udvardy Miklós, Káplár Miklós: A 2. típusú diabetes mellitus kialakulása. In: *A klinikai endokrinológia és anyagcsere-betegségek kézikönyve* (Szerk: Leövey A) Medicina, Budapest, 2001, pp: 845-855
76. Halmos T: Insulin-resistentia szindróma. In: *Metabolikus X szindróma* (Szerk: Halmos T) Springer, Budapest, 1995, pp: 82-114.
77. Fövényi J: Diabeteses dyslipidaemiák. *Táplálkozás Anyagcsere Diéta* 1996,3,3.
78. Pados Gy: A hyperlipoproteinaemiák kezelési irányelvei, különös tekintettel a diabetes mellitusra. *Diab Hung* 4 (Supl 1) 64, 1996.
79. Ceriello A: Coagulation activation in diabetes. *Diabetologia* 36:119-126, 1993.
80. Udvardy M, Posan E, Harsfalvi J: Altered lysis resistance of platelet rich clots in patients with IDDM. *Thromb Res* 79:57-61, 1995.
81. Udvardy M: Diabetes és haemostasis. *Diab Hung* 3,5,1995.
82. Larsen E, Palabrica T, Sajer S, Gilbert GE, Wagner DD, Furie BC, Furie B: PADGEM-dependent adhesion of platelets to monocytes and neutrophils is mediated by a lineage-specific carbohydrate, LNF III (CD 15). *Cell* 63: 467-474, 1990.

83. Rinder CS, Bonan JL, Rinder HM, Mathew J, Hines R, Smith BR: Cardiopulmonary bypass induces leukocyte-platelet adhesion. *Blood* 79(5):1201-1205, 1992
84. Gawaz MP, Mujais SK, Schmidt B, Gurland HJ: Platelet-leukocyte aggregation during hemodialysis. *Kidney Int* 46: 489-495,1994.
85. Gawaz M, Reininger A, Neumann FJ, Platelet function and platelet-leukocyte adhesion in symptomatic coronary heart disease. Effects of intravenous magnesium. *Thromb. Res.* 83(5): 341-349, 1996.
86. Tschoepe D: Adhesion molecules influencing atherosclerosis. *Diab Res Clin Pract* 30 Suppl: 19-24, 1996.
87. Tschoepe D: Platelet-leukocyte-cross-talk in diabetes mellitus. *Horm-Metab-Res* 29: 631-635,1997.
88. Evangelista V, Manarini S, Sideri R, Rotondo S, Martelli N, Piccoli A, Totani L, Piccardoni P, Vestweber D, Gaetano G, Cerletti C: Platelet/polymorphonuclear leukocyte interaction: P-selectin triggers protein-tyrosine phosphorylation-dependent CD11b/CD18 adhesion: role of PSGL-1 as a signaling molecule. *Blood* 93: 876-885,1999.
89. McEver RP, Cummings RD: Role of PSGL-1 binding to selectins in leukocyte recruitment. *J. Clin. Invest* 100: 485-492,1997.
90. Spangenberg P, Redlich H, Bergmann I, Lösche W, Götzrath M, Kehrel B: The platelet glycoprotein IIb/IIIa complex is involved in the adhesion of activated platelets to leukocytes. *Thromb Haemost* 70: 514-521,1993.
91. Rinder HM, Bonan JL, Rinder CS, Ault KA, Smith BR: Activated and unactivated platelet adhesion to monocytes and neutrophils. *Blood* 78: 1760-1769, 1991.
92. Evangelista V, Rajtar G, Gaetano G, White JG, Cerletti C: Platelet activation by fMLP-stimulated polymorphonuclear leukocytes: the activity of cathepsin G is not prevented by antiproteinases. *Blood* 77: 2379-2388,1991.
93. Maugeri N, Evangelista V, Celardo A, Dell'Elba G, Martelli N, Piccardoni P, Gaetano G, Cerletti C: Polymorphonuclear leukocyte-platelet interaction: role of P-selectin in thromboxane B2 and leukotriene C4 cooperative synthesis. *Thromb Haemost* 72: 450-456,1994.
94. Amirkhosravi A, Alexander M, May K, Francis DA, Warnes G, Biggerstaff J, Francis JL: The importance of platelets in the expression of monocyte tissue factor antigen measured by a new whole blood flow cytometric assay. *Thromb Haemost* 75: 87-95,1996.
95. Tschoepe D, Roesen P, Schwippert B, Gries FA: Platelets in diabetes: The role in the hemostatic regulation in atherosclerosis. *Semin Thromb Hemost* 19: 122-127,1993.

96. Ceriello A, Giacomello R, Stel G, Motz E, Taboga C, Tonutti L, Pirisi M, Faletti E, Bartoli E: Hyperglycemia-Induced Thrombin Formation in Diabetes. The Possible Role of Oxidative Stress. *Diabetes* 44: 924-8, 1995.
97. Ceriello A, Giacomello R, Stel G, Motz E, Taboga C, Tonutti L, Pirisi M, Faletti E, Bartoli E: hyperglycemia-Induced Thrombin Formation in Diabetes. The possible role of oxidative stress. *Diabetes* 44:924-928, 1996.
98. Temelkova-Kurktschiev TS, Koehler C, Henkel E, Leonhardt W, Fuecker K, Hanefeld M: Postchallenge plasma glucose and glycemic spikes are more strongly associated with atherosclerosis than fasting glucose or HbA1c level. *Diabetes Care* 23: 1830-1834, 2000.
99. Bonora E, Muggeo M: Postprandial blood glucose as a risk factor for cardiovascular disease in Type II diabetes: the epidemiological evidence. *Diabetologia* 44(12):2107-2115, 2001.
100. Cronin CC, McPartlin JM, Barry DG, Ferriss JB, Scott JM, Weir DG: Plasma homocysteine concentrations in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 21:1843-1847, 1998.
101. Buysschaert M, Dramais AS, Wallemacq PE, Hermans MP: Hyperhomocysteinemia in type 2 diabetes. Relationship to macroangiopathy, nephropathy, and insulin resistance. *Diabetes Care* 23: 1816-1822, 2000.
102. Quadri R, Rossi C, Catalfamo E, Masoero G, Lombardo L, Della Monica P, Rovera L, Pera A, Cavello Perin P: Helicobacter pylori infection in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 10:263-266, 2000.
103. Vercellotti GM: Microbes, inflammation and atherosclerosis: will old pathology lessons guide new therapies? *Trans Am Clin Assoc* 112:215-222,2001.
104. Li N, Goodall AH, Hjemsdahl P: Efficient flow cytometric assay for platelet-leukocyte aggregates in whole blood using fluorescence signal triggering. *Cytometry* 35: 154-161,1999.
105. MacRury SM, Small M, Anderson J, MacCuish AC, Lowe GD: Evaluation of red cell deformability by a filtration method in type 1 and 2 diabetes mellitus with and without vascular complication. *Diabetes Res* 13: 61-65,1990.
106. Khodabandehlou T, Le Devehat C: Evaluation of erythrocyte deformability using a cell transit analyser „CTA”. Comparison with the technique of initial filtration flow rate. Application to the blood of diabetic patients. *J Mal Vasc* 21(3): 175-180, 1996.

A TÉZISEKHEZ FELHASZNÁLT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

1. Udvardy M., Káplár M., Rejtő L., Tornai I., Palatka K., László P., Huszka M.: Increased in vivo platelet activation and reduced intravascular endothelium-derived relaxing factor and nitrate/nitrite production in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. Platelets. 9, 257-260, 1998. Impakt faktor: 0.763
2. M. Kaplar, J. Kappelmayer, A. Kiss, K. Szabo and M. Udvardy: Increased leukocyte-platelet adhesion in chronic myeloproliferative disorders with high platelet counts. Platelets, 11, 97-98, 2000. Impakt faktor: 0,763
3. M. Kaplar, J. Kappelmayer, A. Veszpremi, K. Szabo, M. Udvardy: The possible association of in vivo formation of leukocyte-platelet heterophilic aggregates and the development of diabetic angiopathy. Platelets 12: 419-422, 2001. Impakt faktor: 0,763
4. Udvardy M., Káplár M., Rejtő L., Szász R., Huszka M.: Csökkent in vitro thrombocytá EDRF-NO képzés cukorbetegekben a vérlemezke aktiváció során Diab. Hung. 2:63-69,2001.

A TÉZISEKHEZ KAPCSOLÓDÓ, ELSŐ SZERZŐKÉNT BEMUTATOTT KONGRESSZUSI ANYAGOK

1992. Cserháti Emlékkülés, Szeged
A prokollagén-III-peptid szint és a thrombocytá funkció változása colchicin kezelés hatására alkoholos májcirrhosisban
1993. Észak-kelet Magyarországi Szakcsoportülés, Berettyóújfalu
IRSA és essentialis thrombocythaemia együttes előfordulása egy beteg kapcsán
1996. Észak-kelet Magyarországi Szakcsoportülés, Miskolc
A vasculáris EDRF/NO képződés és a lipidperoxidáció egyensúlyának vizsgálata cukorbetegségben
1997. MHTT XVII. Kongresszusa, Szeged
Komplex endothelium-funkció vizsgálatok a vasculáris eredetű diabeteses szövődményekben
1998. Magyar Belgyógyász Társaság 37. Nagygyűlése, Budapest
A keringő leukocytá-thrombocytá vegyes aggregátumok vizsgálata diabeteses angiopathiában és nagy thrombocytá számmal járó myeloproliferatív kórképekben
1998. Észak-kelet Magyarországi Szakcsoportülés, Mátészalka
Az in vivo képződő thrombocytá-leukocytá vegyes aggregátumok ex vivo vizsgálata, szerepük az angiopathia pathogenesisében
1999. Fiatal Diabetológusok Fóruma, Nyíregyháza
A keringő thrombocytá-leukocytá vegyes aggregátumok vizsgálata diabeteses angiopathiában, a vegyes aggregátumok számának összefüggése az akut vércukorszint változással
1999. Észak-kelet Magyarországi Belgyógyász Szakcsoportülés, Miskolc-Lillafüred
Az in vivo képződő thrombocytá-leukocytá vegyes aggregátumok vizsgálata diabeteses angiopathiában és magas thrombocytá számmal járó myeloproliferatív kórképekben
2000. Magyar Diabetes Társaság XV. Kongresszusa, Tihany
Az in vivo képződő thrombocytá-leukocytá vegyes aggregátumok vizsgálata diabeteses angiopathiában, a vegyes aggregátum képződés összefüggése az akut vércukorszint változással
- Stiff-man szindróma és diabetes mellitus kapcsolata (poszter)
2000. Magyar Gastroenterológiai Társaság Kongresszusa, Balatonaliga
Helicobacter pylori fertőzés és diabeteses angiopathia kapcsolata

2000. Észak-kelet Magyarországi Belgyógyász Szakcsoporthülés, Debrecen
Csökkenthető-e a cardiovascularis és renalis szövődmények aránya diabeteses betegekben?

Az in vivo képződő thrombocyt-leukocyt vegyes aggregatumok vizsgálata diabeteses angiopathiában, a vegyes aggregatum képződés összefüggése az akut vércukorszint változással

2000. EASD (European Association for the Study of Diabetes) 36. Kongresszusa, Jeruzsálem
The role of in vivo formation of leukocyte-platelet heterophilic aggregates in the pathogenesis of diabetic angiopathy (poszter)

2001. TAIM (Tüdőgyógyászati, Allergológiai és Immunológiai Megbetegedések) VI.
Kongresszusa: Az 1-es típusú diabetes mellitus kialakulásának immunológiai háttere.

2002. Magyar Diabétesz Társaság XVI. Kongresszusa: Haemorheológiai tényezők változása diabetes mellitusban, szerepük az angiopathia kialakulásában.

EGYÉB, A TÉZISEKHEZ SZOROSAN NEM KAPCSOLÓDÓ KÖZLEMÉNYEK

1. Káplár Miklós, Udvardy Miklós, Ujj György: Az ACE-gátló kezelés okozta angioneurotikus oedema és a fibrinolysis kapcsolata: egy beteg kezelésekor szerzett tapasztalataink. *Magy. Belorv. Arch.* 6, 475-477, 1994.
2. Udvardy Miklós dr., Hársfalvi Jolán dr., Pósnán Emőke dr., Káplár Miklós dr., Katona Éva dr., Rák Kálmán dr.: A primer haemostasis adheziv tényezői és a máj fibrinogenesis kapcsolata alkoholos májcirrhosisban. *Orv. Hetil.*, 135, 523-526, 1994.
3. Huszka M., Káplár M., Rejtő L., Tornai I., Palatka K., László P., Udvardy M.: The association of reduced endothelium derived relaxing factor-NO production with endothelial damage and increased in vivo platelet activation in patients with diabetes mellitus. *Thromb. Res.*, 86, 173-180, 1997. Impakt faktor: 1.153; Citáció: 4.
4. Udvardy M., Rejtő L., Káplár M., Pfliegler Gy., Altorjay I.: A gliplizid serkenti az in vitro plazmingenerációt és az alvadékkoldást. *Magy. Belorv. Arch.*, 51, Supl. 2. 117-121, 1998.
5. Huszka M., Káplár M., Rejtő L., Palatka K., Udvardy M.: Csökkent intravasculáris endothel eredetű NO (nitrát/nitrit)-termelés összefüggése az endothelkárosodással és a fokozott thrombocyt-aktivációval diabetes mellitusos betegekben. *Diab. Hung.* 7, 31-36, 1999.
6. Fülesdi Béla dr., Limburg Martien dr., Molnár Csilla dr., Káplár Miklós dr., Bereczki Dániel dr., Neuwirth Gyula dr., Csiba László dr.: Cerebrovascularis reaktivitás nem-inzulin-dependens (II-es típusú) diabetes mellitusban szenvedőkben. *Orv. Hetil.*, 139, 1789-92, 1998.
7. Fülesdi B., Limburg M., Bereczki D., Kaplar M., Molnar C., Kappelmayer J., Neuwirth G., Csiba L.: Cerebrovascular reactivity and reserve capacity measurements in Type II diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*, 13, 191-9, 1999. Impakt faktor: 0,64
8. Udvardy Miklós, Káplár Miklós: A 2. típusú diabetes mellitus kialakulása. In: A klinikai endokrinológia és anyagcsere-betegségek kézikönyve (Szerk: Leövey A) 2001, Medicina, Budapest, 2001, pp:829-844.
9. Udvardy Miklós, Káplár Miklós: A 2. típusú diabetes mellitus kezelése. In: A klinikai endokrinológia és anyagcsere-betegségek kézikönyve (Szerk: Leövey A) Medicina, Budapest, 2001, pp:845-855.

10. Udvardy Miklós, Káplár Miklós, Pfliegler György: Diabetesez angiopathia és haemostasis. In: A klinikai endokrinológia és anyagcsere-betegségek kézikönyve (Szerk: Leövey A) Medicina, Budapest, 2001, pp:923-926
11. Udvardy Miklós, Reményi Gyula, Rejtő László, Káplár Miklós: Gondolatok a diabeteszes angiopathia-hajlam vascularis hematológiai vizsgáló módszereiről. Diab Hung 9(4):205-211, 2001.
12. Hidasi E, Káplár M, Diószeghy P, Bereczki D, Csiba L, Limburg M, Fulesdi B: No correlation between impairment of cerebrovascular reserve capacity and electrophysiologically assessed severity of neuropathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. J Diabetes Complications 16(3):228-234, 2002. Impakt faktor: 0,64

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönettel tartozom Ph.D. témavezetőmnek, Prof. Dr Udvardy Miklósnak, az elmúlt évek során nyújtott szakmai és emberi támogatásáért, biztató szavaiért, baráti segítségéért.

Hálásan köszönöm Kappelmayer János Tanár úr vegyes-aggregátumok mérése terén nyújtott sokirányú segítségét, valamint Veszprémi Anikó asszisztens odaadó munkáját.

Imre Sándor Tanár úrral és Szikszai Zitával a haemorheologiai vizsgálatokat végeztük, ezen a téren nyújtott segítségüket köszönöm. Külön említem Szikszai Zita segítőkészségét, melyet az adatok statisztikai kiértékelése során tanúsított.

Huszka Marianna tudományos munkatárs és Ujfaludi Sándorné asszisztens az EDRF/NO meghatározásában segítettek , munkájukat köszönöm.

Köszönöm a tézisekhez felhasznált közleményekben szereplő társszerzők (Prof. Udvardy Miklós, Kappelmayer János, Huszka Marianna, Kiss Attila, Szabó Krisztina, Tornai István, Palatka Károly, László Pál) összes segítségét, valamint a II. Belgyógyászati és az I. Belgyógyászati Klinika minden dolgozója által kapott támogatást.