

Rezveratrol hatása 2-es típusú cukorbetegségben és IgA nefropátiában

Doktori (Ph.D.) értekezés

Dr. Brasnyó Pál

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

Programvezető: Prof. Dr. Wittmann István

Témavezetők:

Prof. Dr. Wittmann István

Prof. Dr. Winkler Gábor



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nefrológiai Centrum

Pécs, 2016.

TARTALOMJEGYZÉK

Rövidítések jegyzéke	5
1. Összefoglalás	7
2. Abstract.....	10
3. Bevezetés.....	13
3.1 Oxidatív stressz és a 2-es típusú cukorbetegség.....	13
3.2 Rezveratrol szerepe a cukorbetegség megelőzésében	15
3.2.1 Az alkohol/borfogyasztás és a metabolikus szindróma kapcsolata	15
3.2.2 Rezveratrol, az endoteliális nitrogén monoxid szintáz és a metabolikus szindróma kapcsolata.....	15
3.2.3 Rezveratrol, a kalória-bevitel megszorítása és a metabolikus szindróma kapcsolata	17
3.3 Rezveratrol szerepe a cukorbetegség kezelésében.....	18
3.3.1 Rezveratrol hatása az inzulin szekrécióra	18
3.3.2 A rezveratrol antioxidáns hatása és szerepe a cukorbetegség kezelésében.....	19
3.3.3 A rezveratrol hatása az oxidatív stressz csökkentésén keresztül az inzulin rezisztenciára	22
3.4 A krónikus vesebetegség és az oxidatív stressz	22
3.4.1 A krónikus vesebetegség és a reaktív oxigén termékek fokozott termelése.....	23
3.4.2 Krónikus vesebetegség és a csökkent antioxidáns kapacitás	23
3.5 IgA nefropátia és az oxidatív stressz.....	24
3.6 A rezveratrol szerepe a krónikus vesebetegségben.....	25
3.6.1 A rezveratrol citoprotektív szerepe	25
3.6.2 A rezveratrol szerepe a krónikus vesebetegség kórfolyamatainak gátlásában ...	26
3.7 A rezveratrol lehetséges szerepe az IgA nefropátia kezelésében	27

4. Célkitűzések	28
5. Betegek és módszerek.....	29
5.1 A rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegben	29
5.1.1 Betegek	29
5.1.2 Vizsgálati protokoll	29
5.1.3 Minták feldolgozása	30
5.1.4 Vizsgálati készítmény és tesztétel	31
5.1.5 Statisztikai analízis	32
5.2 Rezveratrol hatásának vizsgálata IgA nefropátiás betegekben	32
5.2.1 Betegek	32
5.2.2 Vizsgálati protokoll	33
5.2.3 Minták feldolgozása	34
5.2.4 Vizsgálati készítmény	34
5.2.5 Statisztikai analízis	35
6. Eredmények.....	36
6.1 Rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegben	36
6.1.1 A betegek kiindulási klinikai és laboratóriumi paraméterei	36
6.1.2 A rezveratrol-kezelés hatása a szöveti cukorszintekre.....	38
6.1.3 A rezveratrol-kezelés hatása az inzulinrezisztenciára	40
6.1.4 A rezveratrol-kezelés hatása a vizelet-orto-tirozin ürítésre.....	41
6.1.5 A rezveratrol-kezelés hatása az Akt aktivációra	42
6.1.6 A rezveratrol-kezelés hatása az inkretin hormonokra	43
6.1.7 A rezveratrol kezelés hatása a nyomásterhelés és inzulinrezisztencia kapcsolatára.....	43
6.2 Rezveratrol hatásának vizsgálata IgA nefropátiás betegekben	43
6.2.1 A betegek kiindulási klinikai paraméterei.	43
6.2.2 Rezveratrol hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítésre. Nemi különbségek.....	46
6.2.3 A rezveratrol hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítésre férfiakban.	48
6.2.4 A rezveratrol hatása az eGFR-re.....	50

6.2.5 A rezveratrol hatása az albuminúriára..	52
6.2.6 A statin-kezelés hatása a CCL11-re és az alfa-klotho-ra..	54
6.2.7 A rezveratrol-kezelés hatása a CCL11-re és az alfa-klotho-ra	55
6.2.8 A rezveratrol-kezelés hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítés és CCL11 kapcsolatára.	57
7. Megbeszélés	58
7.1 Rezveratrol hatása 2-es típusú cukorbetegségben	58
7.1.1 Rezveratrol antioxidáns hatása.....	58
7.1.2 A rezveratrol hatása az inzulin jelátviteli útvonalra és az inzulinrezisztenciára	60
7.1.3 A rezveratrol szerepe a cukorbetegség kezelésében: humán adatok	62
7.1.4 A rezveratrol lehetséges kedvező vaszkuláris hatása	63
7.2 A rezveratrol szerepe IgA nefropátiában.....	64
7.2.1 A rezveratrol hatása az oxidatív stresszre. Nemi különbségek.	64
7.2.2 A rezveratrol lehetséges hatása a maradék nefronok hiperfiltrációjára	66
7.2.3 Rezveratrol lehetséges hatása a proteinuriára	66
8. Tézisek	68
9. Közlemények jegyzéke	69
10. Irodalomjegyzék	74
11. Köszönetnyilvánítás.....	90

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AKT=PKB:	protein kináz B
AMPK:	adenozin monofoszfát-aktiválta protein kináz
AOPP:	advanced oxidation protein products-előrehaladott oxidációs fehérje termékek
ATP:	adenozin-trifoszfát
CCL11:	C-C motif kemokin 11
C _{CR} :	kreatinin clearance
CGM:	continuous glucose monitoring-folyamatos szöveti glükóz monitorozás
CKD:	chronic kidney disease-krónikus vesebetegség
DEPTOR:	DEP domain interactor of mTOR
eNOS:	endoteliális nitrogén-monoxid szintáz
ERK:	extracelluláris-receptor kináz
ESRD:	end stage renal disease-végállapotú veseelégtelenség
FOXO:	forkhead box O transzkripció fehérje
GFR:	glomeruláris filtrációs ráta
GIP:	glucose-dependent insulinotropic peptide-glükózdependens inzulinotróp peptid
GLP-1:	glucagon-like-peptide-1- glukagonszerű peptid-1
GLUT4:	4-es számú glükóz transzporter
HbA _{1c} :	hemoglobin A _{1c}
HOMA:	homeostatic model assessment-homeosztázis model becslés
HOMA _{IR} :	homeostatic model assessment of insulin resistance- inzulinrezisztencia homeosztázis model becslése
HOMA _β :	homeostatic model assessment of β-cell function- β sejt funkció homeosztázis model becslése
IgANP:	IgA nefropátia
IL:	interleukin
iNOS:	indukálható nitrogén monoxid szintáz
IQR:	interkvartilis tartomány
IRS:	inzulin receptor szubsztrát
ISI:	inzulin szenzitivitási index
JNK:	c-Jun-N-terminál kináz
MAPK:	mitogén-aktivált protein kináz
MCR:	metabolic clearance rate-metabolikus clearance
mTOR:	mammalian target of rapamycin
NADPH:	nikotinamid-adenin-dinukleotid foszforilált formája
NFκB:	nukleáris faktor-κB
NO:	nitrogén monoxid
Nrf2:	nuclear factor erythroid 2-related factor 2
NS:	nem szignifikáns
NYHA:	New York-i Kardiológus Társaság
p53:	celluláris tumor antigén p53
pAkt:	foszforilált protein kináz B

PGC1 α :	peroxiszóma proliferátor-aktiválta receptor- γ coaktivátor-1 α
PI3K:	foszfoinozitol 3'-kináz
PPAR- γ :	peroxiszóma proliferátor-aktiválta receptor- γ
SD:	szórás
Sirt :	sirtuin
T2DM:	2-es típusú cukorbetegség
TGF- β :	transzformáló növekedési faktor- β
TLR:	toll-like receptor
TNF- α :	tumornekrózis-faktor- α
UCP2:	2-es számú szétkapcsoló fehérje

1. Összefoglalás

Bevezetés

A cukorbetegség a modern kor civilizációs betegségeként a világ egyre több országában vált fontos népegészségügyi problémává. A cukorbetegség számának emelkedése, a társuló betegségek és mortalitás növekedése kapcsán világméretű gondokat okoz. A krónikus vesebetegség (CKD) is világméretű egészségügyi problémát jelent, mivel szintén hozzájárul többek között a kardiovaszkuláris morbiditás és a mortalitás növekedéséhez.

Számos kísérletes adat utalt arra, hogy az antioxidáns rezveratrol kedvező hatású lehet cukorbetegségben illetve azt megelőző állapotokban, illetve szintén kísérletes modellekben nefroprotektívnek is bizonyult. *In silico* hatóanyagvizsgálat felvetette a rezveratrol kedvező hatását IgA nefropátiában (IgANP) is.

Célkitűzés

Első vizsgálatunkban arra kerestünk választ, hogy az antioxidáns rezveratrol befolyásolja-e és ha igen, akkor milyen mechanizmussal a 2-es típusú cukorbetegség szénhidrát háztartását, inzulin-érzékenységét.

Második vizsgálatunkban célkitűzésünk az volt, hogy szintén humán vizsgálatban tanulmányozzuk a rezveratrol hatását IgANP-s betegekben.

Betegek és módszerek

Az első, négy hétig tartó kettősvak, placebo kontrolllos, randomizált, parallel csoportos, prospektív vizsgálatunkba tizenkilenc, 2-es típusú diabéteszes (T2DM) beteget vontunk be. A betegek a rezveratrol csoportban (n=10) napi 2x5 mg rezveratrolt kaptak, a kontroll csoportban (n=9) pedig placebót. A vizsgálat kezdetén, majd kéthetenként vizsgáltuk a betegek inzulin-rezisztenciáját, az oxidatív stressz mértékét jelző vizelet orto-tirozin/kreatinin hányadost, a vérlemezkek pAkt/Akt-szintjét, valamint a szérum inkretinszinteket.

Második, hasonló felépítésű 12 hétig tartó elővizsgálatunkba 27 IgANP-s beteget vontunk be, 15 beteg (9 férfi) kapott rezveratrol (2x5 mg/nap) tartalmú készítményt, 12 beteg (6 férfi) placebót. A vizsgálat kezdetén, majd hat hetenként vizsgáltuk a betegek általános laboratóriumi értékeit, vesefunkcióját, albuminürítését, az oxidatív stressz mértékét jelző vizelet orto-tirozin/kreatinin hányadosát, valamint a vizsgálat elején és végén az alfa-klotho és C-C motif chemokine 11(CCL11;eotaxin-1) szintet.

Eredmények

A T2DM-es betegeinkben, a 4 hetes rezveratrol kezelés hatására a vérlemezkékben a pAkt/Akt arány növekedett, míg a vizelettel ürített orto-tirozin mennyisége és az inzulin-rezisztencia ($HOMA_{IR}$) mértéke szignifikánsan csökkent. A β -sejtfunkció ($HOMA_{\beta}$) és az inkretinszintek nem változtak.

IgANP-s betegeink körében nemi különbségeket találtunk már kiinduláskor is, illetve a rezveratrol hatás tekintetében is. A vizsgálat elején a férfiak magasabb oxidatív stressz állapota látszott, amire az orto-tirozin nőkhöz képest nagyobb ürítése utalt. Rezveratrol kezelés hatására férfiakban a vizelettel ürített orto-tirozin mennyisége csökkent a kiinduláshoz képest, az eGFR növekedett, az albuminúria emelkedett a placebo csoporthoz viszonyítva. Szintén a férfiak esetében a rezveratrol kezelés 12. hetére a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados és CCL11 között pozitív korreláció alakult ki, ami korábban nem volt kimutatható. Nők esetében a fenti különbségek és összefüggések nem látszóttak.

Megbeszélés

T2DM-es betegek körében végzett vizsgálatunk az első humán vizsgálat, ami igazolta, hogy a rezveratrol csökkenti ezen betegek inzulin-rezisztenciáját. Ennek hátterében az oxidatív stressz rezveratrol hatására bekövetkező csökkenése, valamint a létrejövő és az Akt aktiválásán keresztül megvalósuló inzulin-jelátvitelének javulása állhat.

Az IgANP-ban a progresszióra hajlamos férfiak oxidatív stressz szintje magasabb volt, mint a nőké.

A rezveratrol kezelés az IgANP-s férfiak esetében az oxidatív stressz csökkentése mellett az eGFR emelkedését és az albuminúria növekedését okozhatja, aminek háttérében a maradék nefronok hiperfiltrációja állhat. Nőkben hasonló hatás nem volt kimutatható.

2. Abstract

Introduction

Diabetes mellitus as a disease of modern civilization has become a public healthcare issue of considerable magnitude in several countries. Growing incidence and prevalence of diabetes and diabetes-related morbidity and mortality elicit healthcare and economic problems.

Chronic kidney disease substantially increases the risks of cardiovascular disease, death, and the need for specialized health care.

Antioxidant resveratrol showed antidiabetic and nephroprotective effects in different experimental models. Beneficial effects of resveratrol in patients with IgA nephropathy (IgANP) has been suggested by in silico drug screening.

Aims

In the first study our goals were to assess whether the polyphenol resveratrol improves insulin sensitivity in type 2 diabetic patients, and if yes, to gain some insight into the mechanism of its action.

In the second study our aims were to investigate the effect of resveratrol treatment on oxidative stress, renal function and albuminuria in IgANP patients.

Patients and methods

In the first randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study after an initial general examination (including blood chemistry), 19 patients were enrolled, and randomly assigned into two groups: a resveratrol group (n=10) receiving 2 x 5 mg resveratrol per day, and a control group (n=9) receiving placebo. Before the study, and after two and fourth weeks insulin resistance/sensitivity, creatinine-normalized ortho-tyrosine level in urine samples (as a measure of oxidative stress), incretin levels and pAkt/Akt ratio in platelets were assessed and statistically analyzed.

Into our second study we enrolled 27 IgANP patients who were randomly assigned to receive either resveratrol (5 mg BID) (n=15; 9 men) or placebo (n=12; 6 man) orally in the same design, and followed-up for 12 weeks. Clinical laboratory parameters, renal function, albumin excretion, urinary ortho-tyrosine concentration indicating the level of oxidative stress were measured at baseline and after 6 and 12 weeks of treatments. Inflammatory markers of alpha-klotho and C-C motif chemokine 11 (CCL11, eotaxin-1) were also determined at baseline and at the end of the study.

Results

By the fourth week in type 2 diabetic patients, resveratrol treatment significantly decreased insulin resistance ($HOMA_{IR}$) and urinary ortho-tyrosine excretion, while it increased the pAkt/Akt ratio in platelets. On the other hand, it had no effect on parameters that relate to β -cell function (i.e. $HOMA_{\beta}$).

Initially male IgANP patients exerted higher urinary ortho-tyrosine concentration than females, indicative of increased oxidative stress, which may explain their worse prognosis. We noted that resveratrol treatment reduced urinary ortho-tyrosine excretion after 6 weeks, while it increased glomerular filtration rate and albuminuria in male but not in female IgANP patients. After 12 weeks of resveratrol treatment a positive correlation could be observed between urinary ortho-tyrosine/creatinine ratio and CCL11 in male (but not in female) IgANP patients, which could not be observed previously.

Conclusion

Our study shows for the first time that resveratrol improves insulin sensitivity in humans, which might be due to a resveratrol-induced decrease in oxidative stress that leads to a more efficient insulin signaling via the Akt pathway.

We demonstrated that male IgANP patients show higher levels of oxidative stress than female IgANP patients or the male non-IgANP individuals as indicated by increased ortho-tyrosine excretion, providing a possible explanation for the poorer prognosis that features male patients with IgANP.

We found that resveratrol treatment afforded gender specific increases of eGFR and albuminuria probably due to the increasing hyperfiltration of the residual nephrons.

3. Bevezetés

A cukorbetegség a modern kor civilizációs betegségeként a világ egyre több országában vált fontos népegészségügyi problémává. A cukorbetegség száma a WHO előrejelzése szerint folyamatosan növekszik, 2015 és 2040 között 415 millióról 642 millióra fog növekedni. Bár - főleg Európában- az 1-es típusú cukorbetegség által érintettek száma is növekszik, világméretű gondokat - a nem megfelelő életmódbeli tényezőknek köszönhetően- a cukorbetegség több mint 90%-át kitevő, inkább felnőttkorban megjelenő, T2DM rohamosan növekvő előfordulása, morbiditást és mortalitást növelő szerepe okoz. A cukorbetegséggel összefüggésben ugyanis minden hatodik másodpercben meghal egy beteg a világban (1,2).

A CKD is világméretű egészségügyi problémát jelent, mivel jelentősen hozzájárul többek között a kardiovaszkuláris morbiditás és a mortalitás növekedéséhez, valamint az ezzel kapcsolatos egészségügyi kiadások emelkedéséhez (3,4).

Az IgANP a leggyakoribb primer glomerulonefritisz (5). Klinikailag az egészen enyhe tünetektől a gyors progressziójú veseelégtelenség tüneteit mutathatja (6). Jelentőségét többek között az adja, hogy a diagnózis felállítását követő 20 év múlva a betegek megközelítőleg 20-50 %-ánál végállapotú veseelégtelenség (ESRD) alakul ki (7).

Úgy tűnik, hogy az oxidatív stressz a vese és cukorbetegség kialakulásában illetve a betegségek valamint szövődményeik progressziójában fontos szerepet játszik, így az antioxidánsoknak, köztük a rezveratrolnak szerepe lehet ezen betegségek kezelésben (8, 9, 10,11, 12)

3.1 Oxidatív stressz és a 2-es típusú cukorbetegség

A T2DM kialakulásában szerepe lehet több tényező (pl. elhízás, táplálkozás) okozta oxidatív stressznek, ami inzulinrezisztenciát okozhat, és így vezethet a betegség kialakulásához, majd a kedvezőtlen anyagcsere folyamatok révén is fokozódó oxidatív stressz a progresszióban is fontos szerepet játszik (13, 14).

Az oxidatív stressz fokozódásában többek között a polyol anyagcsereút aktiválódásának, az aldóz reduktáz fokozódó expressziójának, a foszforilált nikotinamid-adenin-dinukleotid (NADPH) oxidáz aktivációjának, a mitokondriális szuperoxid anion termelődésnek, az antioxidáns enzim aktivitása csökkenésének, a glükóz auto-oxidációnak van szerepe. Ezen túlmenően a pszeudohipoxia, a nem enzimatis glikáció, a hexozamin útvonal fokozódása, a fokozott metilglioxál termelődése, az indukálható nitrogén monoxid szintáz (iNOS) fokozott expressziója, valamint az endoteliális nitrogén monoxid szintáz (eNOS) szétkapcsolása is részt vesz a fokozott oxidatív stressz létrejöttében (13, 15, 16, 17, 18). A fenilalaninból oxidatív stressz eredményeként kialakuló orto-, és meta-tirozin vérből és vizeletből jól kimutatható, stabil vegyület, szintjük jól korrelál a malondialdehid termékekkel, a pro-oxidánsként ható NADPH-oxidáz aktivitásával, valamint az oxidált zsírsavak szintjével. Diabéteszes betegekben fokozott vizelet orto-tirozin ürítést találtak az egészségesekhez képest (19).

Az inzulin receptor az inzulin kötődésekor autofoszforilálódik, és az inzulin receptor szubsztrátokat (IRS) is foszforilálja (20). Ezt követően több irányt vesz a folyamat, de a T2DM kialakulásának szempontjából az egyik legfontosabb a foszfoinozitol 3'-kináz (PI3K) útvonal. Ezen az útvonalon keresztül aktiválódik az Akt (protein kináz B) is, ami más fehérjékkel együtt, a 4-es számú glükóz transzporter (GLUT4) plazmamembránba történő transzlokációjának serkentése útján a sejtek inzulinfüggő glükóz-felvételéért felelős. Az IRS-1 - PI3K - Akt útvonalon keresztül az inzulin fokozza a nitrogén-monoxid (NO) termelését is, aminek szerepe van a prekapilláris nutritív artériolák megnyitásában. A mikrocirkuláció, a kapilláris keringés javulása a szöveti inzulin-ellátottság javulását, az inzulinrezisztencia mérséklődését eredményezi (20, 21).

Zsírsejteken végzett vizsgálatok során azt találták, hogy a mikromoláris koncentrációban jelen lévő hidrogén peroxid megzavarja az IRS-1 és PI3K sejten belüli megoszlását a citoszol és a belső membrán pool között. Ennek eredményeként az IRS-1 és PI3K aktiváció csökkent, ami az Akt aktiváció, a GLUT4 transzlokáció elmaradását eredményezi (22). A hasonló koncentrációban jelen lévő hidrogén peroxid májsejteken ugyancsak csökkentette az Akt aktiváló foszforilálódását, e gátló hatás antioxidánsokkal

(pl.: N-acetil-L-cisztein) történő előkezeléssel mérsékelhető volt. Ebben a vizsgálatban azonban azt is igazolták, hogy az igen kis koncentrációjú hidrogén peroxid fokozta az Akt inzulin stimulálta foszforilációját (23).

Az oxidatív stressz hatására az előzőekben vázlatosan összefoglalt jelátviteli útvonalak több ponton is gátlódnak, fokozva az inzulinrezisztenciát, ami metabolikus szindróma, T2DM kialakulásához vezethet, illetve a kialakult cukorbetegségben tovább mélyítheti az anyagcserezavart (20, 24, 25).

Ezek alapján az antioxidánsoknak, így a rezveratrolnak fontos szerepe lehet a cukorbetegség megelőzésében, kezelésében is.

3.2 Rezveratrol szerepe a cukorbetegség megelőzésében

3.2.1 Az alkohol/borfogyasztás és a metabolikus szindróma kapcsolata

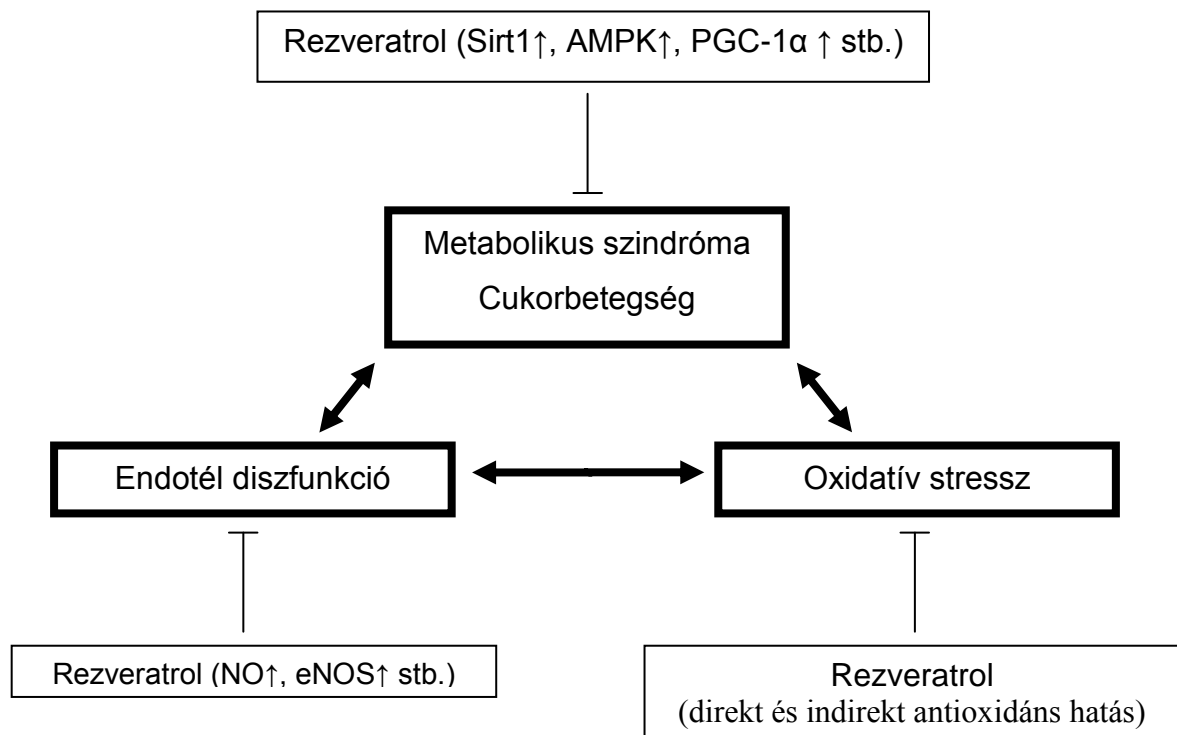
A polifenolok, ezen belül is a rezveratrol preventív szerepére az úgynevezett „Francia Paradoxon” tanulmány adatainak elemzése során figyeltek fel, amikor kiderült, hogy rendszeres, kis mennyiségű (asztali) vörös bor fogyasztása mellett a zsírdúsabb étrend ellenére alacsonyabb a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás a hasonlóan fejlett, és hasonló rizikótényezőkkel bíró országokhoz képest (26). Ezt követő állatkísérletek, és humán vizsgálatok is megerősítették, hogy a mérsékelt borfogyasztás mind a metabolikus szindróma, mind a kísérő kardiovaszkuláris megbetegedések kockázatát csökkenti (27).

3.2.2 Rezveratrol, az endoteliális nitrogén monoxid szintáz és a metabolikus szindróma kapcsolata

Az antioxidáns rezveratrol (28, 29, 30) több módon is szerepet játszhat a T2DM megelőzésében/kezelésében (1. ábra).

Az eNOS az NO szintézisén keresztül fontos szerepet tölt be az endotél függő vazodilatációban. Az eNOS aktiváció elmaradása, a prekapilláris nutritív artériolák megnyitásának következményes károsodása szerepet játszik az

inzulinrezisztencia fokozódásában (24) . Az eNOS gén polimorfizmusait vizsgáló humán tanulmányok is hasonló következtetésekre jutottak (27).



1. ábra. Rezveratrol lehetséges szerepe a cukorbetegség megelőzésében és kezelésében

A vörösborban található polifenolok direkt antioxidánsokként, a szuperoxid anion szintjét csökkentve *in vitro* sejt kultúrában javították az NO biohasznosulását (30, 31), másrészt a PI3K/Akt aktiváción keresztül aktiváló foszforilációval fokozták az eNOS aktivitását sertés koronária artériában (32). Ezek a hatások rezveratrollal történt *in vitro* (endotél sejt, aorta simaizom sejt, egér aorta) kísérletek során is kimutathatóak voltak, így felmerül, hogy a rezveratrol ezen az útvonalon is szerepet játszhat a metabolikus szindróma megelőzésében (18, 33).

3.2.3 Rezveratrol, a kalória-bevitel megszorítása és a metabolikus szindróma kapcsolata

A metabolikus szindróma és a kalória visszafogás véd a metabolikus szindrómával társuló kórképekkel, így például a kardiovaszkuláris betegségekkel, daganatos megbetegedésekkel, cukorbetegséggel, neurodegeneratív betegségekkel szemben (27). Ezek alapján azok a regulátorok (így a rezveratrol is), amelyek a kalorikus restrikció kedvező hatásait el tudják érni, fontos szerepet tölthetnek be ezen betegségek, így a metabolikus szindróma megelőzésében is.

A sirtuinoknak (SirT) szerepe lehet a kalória visszafogásban (34). A peroxiszóma proliferátor-aktiválta receptor- γ koaktivátor (PGC)-1 α deacetilálásával a májban és az izomban fokozva az oxidatív foszforilációt szabályozzák a mitokondriumok biogenezisét (34). Az adipogenezis gátlásán, a lipolízis aktiválásán keresztül a zsírszövetben a zsír mobilizálását serkentik, és a hiperglikémia okozta oxidatív stressztől védik a β -sejteket a forkhead box O (FOXO) transzkripciós fehérjék deacetilálása révén (27, 34). Ezen kívül a hasnyálmirigy β -sejtjeiben fokozzák a glükóz stimulálta inzulin szekréciót (35).

A sirtuinok, közül a SirT1 aktiváció FOXO-n keresztül fokozza az inzulinérzékenységet javító adiponektin szintézisét is (36, 37). Ennek, ahogy egy humán vizsgálatban is igazolták, szerepe lehet az oxidatív stressz csökkentésében, aminek háttérében tumor nekrozis faktor- α (TNF- α)-gátlás okozta nukleáris faktor- κ B (NF κ B)-gátlás is állhat (38). Egerekkel történt kísérletek alapján úgy tűnik, hogy a rezveratrol kedvező metabolikus hatásaiban a SirT1 aktiváció okozta PGC-1 α és adozin monofoszfát-aktiválta protein kináz (AMPK) útvonal aktiválásának is lehet szerepe (39, 40).

Elhízottakon végzett vizsgálat során rezveratrol kezelés hatására az izomban AMPK aktiváció, SIRT1 és PGC-1 α szint növekedése volt kimutatható. A vizsgálatban a kezelés hatására csökkent a szisztolés vérnyomás, valamint javult az inzulin rezisztencia (HOMA index) (41).

Obez patkányokban végzett kísérlet során látszott, hogy a kalóriadús étrenddel párhuzamosan fokozódott oxidatív stressz okozta c-Jun-N-terminál kináz (JNK)

aktivációnak fontos szerepe van az inzulin jelátvitel gátlásán keresztül az inzulinrezisztencia fokozódásában, ami antioxidánsok hatására javult (42).

Az AMPK és Sirt1 aktiváció következménye hasonló, aminek háttérében az AMPK SirT1-en keresztüli aktivációja állhat, bár ez a hatás a rezveratrol dózisától függ, nagyobb rezveratrol dózis esetén SirT1 független módon is történhet (43).

Prenatális hypoxia okozta intrauterin növekedésben elmaradt patkányokban, mint a metabolikus szindrómára való hajlam modelljében rezveratrol kezelés kalóriadús étrend mellett is csökkentette a hasi zsírszövet mennyiségét, javult a plazma lipidprofilja, csökkent a triacilglicerol akkumuláció a hasonló étrenden tartott kontrollhoz képest. Rezveratrol javította az inzulinérzékenységet és a glükóz toleranciát is (44).

Az AMPK-aktiváció endotélsejteken történt vizsgálat alapján szerepet játszhat az eNOS aktiváló foszforilációjának fokozásában, így a Sirt1 aktiváció ezzel a mechanizmussal is hozzájárulhat az inzulinrezisztencia csökkentéséhez (27).

3.3 Rezveratrol szerepe cukorbetegség kezelésében

3.3.1 Rezveratrol hatása az inzulin szekréción

Egér béta-sejt vonalon igazolták, hogy a rezveratrol szulfanilurea receptorhoz kötődve zárta a hasnyálmirigy adenozin-trifoszfát (ATP) szenzitív kálium csatornáit, így a szulfanilureákhoz hasonlóan inzulinszekréciónt váltott ki (45).

Ezen hatás mellett a SIRT1 aktiváláson, a 2-es számú szétkapcsoló fehérje (UCP2) gátlásán keresztül fokozza a β -sejt ATP szintézisét, ami ugyancsak az inzulin-elválasztás növekedését eredményezi. E hatást igazolták INS-1E (béta) sejtvonalon és humán hasnyálmirigy szigetsejteken is (35).

Az inkretinek közé tartozó glukagon szerű peptid (GLP)-1 vércukorcsökkentő hatása részben a glükóz-függő inzulinszekréción fokozódásának eredménye. Rezveratrol kezelés hatására diabéteszes patkányokban fokozódott a GLP-1 szekréción, és következményesen, az inzulin szekréción is. Ezen túlmenően javult a glükóz tolerancia is (46).

További vizsgálatokban diabéteszes patkányokban rezveratrol kezelés hatására nemcsak a vércukorértékek javultak, hanem csökkent a plazmában és a hasnyálmirigy szövetben a reaktív oxigén termékek szintje is, miközben növekedett az antioxidáns enzimek (szuperoxid-dizmutáz, kataláz, glutation-peroxidáz, glutation-S-transzferáz) aktivitása. Ezek alapján a rezveratrolnak szerepe lehet a hasnyálmirigy β -sejtekben az oxidatív stressz csökkentésében, ezen keresztül az inzulinszekréció javításában (47). Hiperinzulinémiás patkányokban és patkány hasnyálmirigyben a fokozott inzulintermelés csökkent rezveratrol kezelés hatására. Ennek szerepe lehet a T2DM-re jellemző krónikusan fokozott inzulinszekréció okozta β -sejtkimerülés megelőzésében (47).

3.3.2 A rezveratrol antioxidáns hatása és szerepe a cukorbetegség kezelésében

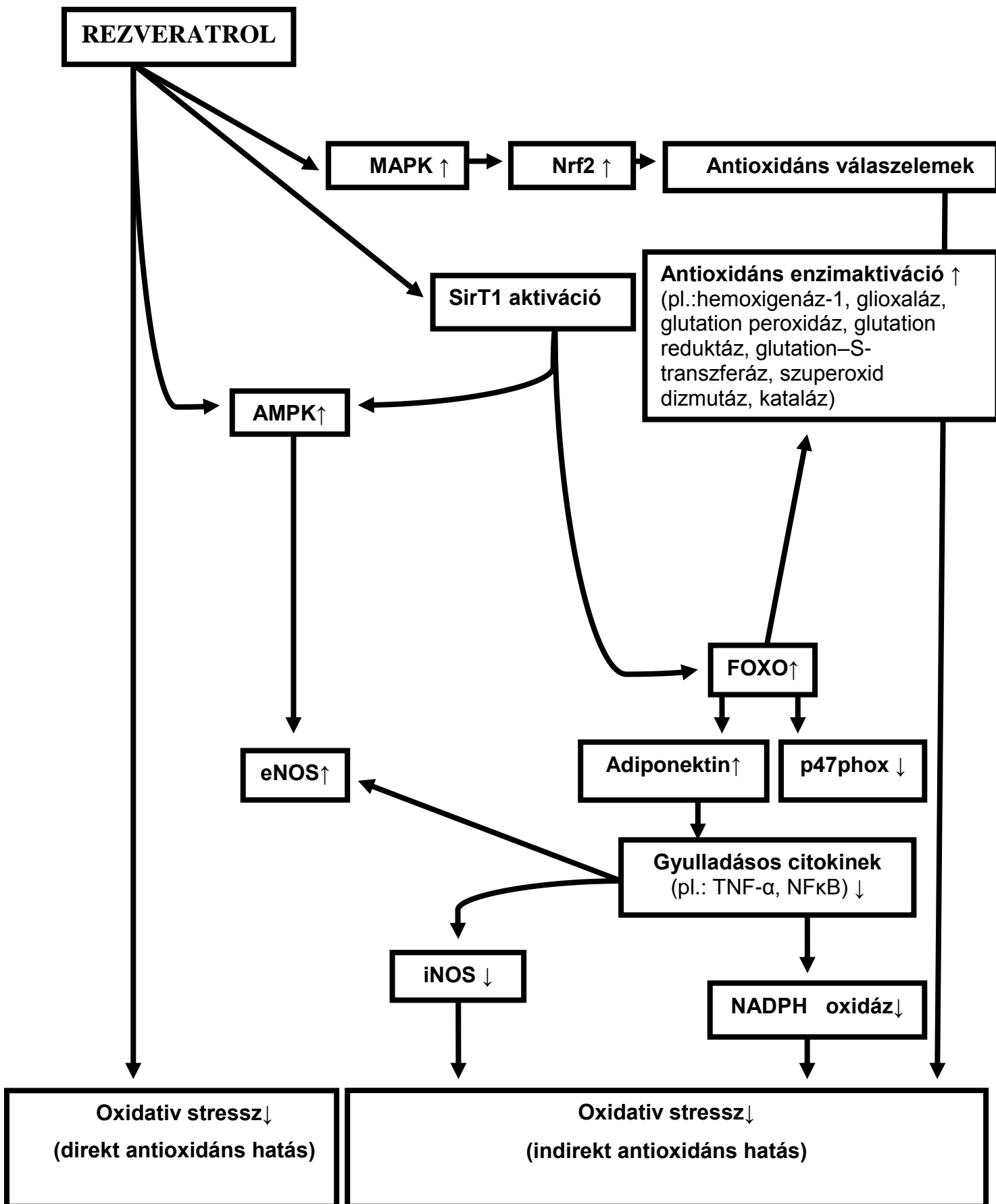
A rezveratrol több mechanizmus révén csökkentheti az oxidatív stresszt, aminek eredményeként a cukorbetegség kezelésében is fontos szerepet tölthet be (2. ábra) .

A rezveratrol humán leukémia K562 sejtvonalon csökkentette a hiperglikémia okozta oxidatív stresszt. Csökkent a reaktív oxigén termékek szintje, a JNK és a kaszpáz-3 aktiváció, valamint a következményes apoptózis is (48). A Sirt1 – FOXO útvonal aktivációjának szerepe van a már kialakult diabéteszben a hiperglikémia okozta oxidatív stressz csökkentésében is, mivel FOXO3a-n keresztül fokozta többek között a szuperoxid-dizmutáz 1 és 2 termelődését, ahogy azt diabéteszes egerekkel történt kísérletben rezveratrol kezelés hatására kimutatták (49). Streptozotocinnal és nikotinamiddal diabéteszessé tett patkányokban rezveratrol kezelés hatására mind a plazmában, mind a hasnyálmirigy szövetben csökkent az oxidatív stressz szintjét jelző lipid peroxidok, hidroperoxid és protein karbonilok szintje, miközben a hasnyálmirigyben kimutathatóan növekedett a szuperoxid-dizmutáz, kataláz, glutation-peroxidáz, glutation-S-transzferáz aktivitása. Ezekkel párhuzamosan a gyulladáscsökkentő citokinek (TNF- α , IL-1 β , IL-6, NF κ B p65 alegység) szintje is

csökkent. A patkányokban csökkent a vércukor és a glikált hemoglobin szint is (47).

Ismert, hogy a nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) fontos szerepet tölt be az antioxidáns enzimek aktivációjában. Az antioxidáns válaszelemekhez kötődve fokozza a kataláz, glutation peroxidáz, glutation reduktáz, glutation-S-transzferáz, szuperoxid dizmutáz, hem-oxigenáz-1 transzkripcióját (50). Más megfigyelések szerint az Nrf2-t a MAPK foszforilálja és így aktiválja, amely útvonal aktivációjában a rezveratrolnak is lehet szerepe (18).

Az oxidatív stressz egyik fontos pro-oxidáns enzime az iNOS, ami többek között az ischemia/reperfúzió okozta oxidatív stressz révén létrejövő károsodásokban is fontos szerepet játszik. Diabéteszes patkányokban a rezveratrol az inzulinnal szinergizmusban javította a vércukorszintet, az inzulin-jelátvitelt (Akt/GLUT4), csökkentette az iNOS/nitrotirozin expressziót és a szuperoxid anion termelést (18).



2. ábra. Rezveratrol direkt és indirekt antioxidáns hatása

3.3.3 A rezveratrol hatása az oxidatív stressz csökkentésén keresztül az inzulin rezisztenciára

Az oxidatív stressz a JNK aktiváción keresztül fontos szerepet játszhat többek között az IRS-1 inaktiváló foszforilációjában, így az inzulin-jelátvitel egyik lépésének gátlásában, az inzulinrezisztencia fokozásában (42). A rezveratrol terápia több ponton is csökkenti az oxidatív stresszt, és kimutathatóan csökkentette a JNK aktivitást, ahogy ezt a humán sejt vizsgálatok során kimutatták (51). Állatkísérletek során igazolták, hogy a rezveratrol vércukorcsökkentő hatásának hátterében az Akt és eNOS aktivációja is állhat (52, 53).

Tekintettel arra, hogy a rezveratrol kémiaileg hasonlít az ösztrogénhez, igen valószínű, hogy receptorához kötődve a mitogén-aktivált protein kináz (MAPK) aktivációját is okozza. Ezen útvonal aktivációja többek között az eNOS aktivációját is okozza, ahogy azt humán umbilikális sejteken is kimutatható volt (18, 33).

Az eNOS aktiváció elmaradása, a következményes prekapilláris nutritív arteriolák megnyitásának károsodása is szerepet játszhat az inzulinrezisztencia fokozódásában (24).

Gyulladásos citokinek (TNF- α , IL-6) is fontos szerepet töltenek be az inzulinrezisztencia fokozásában (54, 55), szintjük fordítottan arányos az adiponektin szintjével (56). Humán köldökvéna-sejteken végzett kísérletek során igazolták, hogy a rezveratrol csökkentette a TNF- α -n keresztül történő NF κ B aktivációt (57), illetve az 3T3-L1 adipocitákban, az Akt/FOXO1 és AMPK útvonalon keresztül növelte az adiponektin szintet (58).

3.4 A krónikus vesebetegség és az oxidatív stressz

Az oxidatív stressz nem csak a krónikus vesebetegséghez vezető betegségek kialakulásában - pl.: cukorbetegség, magas vérnyomásbetegség, szisztémás immunbetegségek, glomerulonefritiszek (13, 14, 59, 60, 61) stb. - játszik fontos

szerepet, hanem a szövődmények, így a krónikus vesebetegség kialakulásában, majd progressziójában is (62).

3.4.1 A krónikus vesebetegség és a reaktív oxigén termékek fokozott termelése

Krónikus vesebetegségben az oxidatív stressz kialakulásáért a reaktív oxigén termékek fokozott termelése (a romló vesefunkció miatti csökkent ürítése) valamint a csökkent antioxidáns kapacitás felelős (19, 62).

A fokozott termelésért a pro-oxidáns enzimek aktivációja (pl.: NAD(P)H oxidáz, ciklooxygenáz-2) (63), a mitokondriális diszfunkció, valamint az endoplazmatikus retikulum stressz lehet a felelős (64, 65, 66).

3.4.2 A krónikus vesebetegség és a csökkent antioxidáns kapacitás

CKD-ban az oxidatív stressz az endogén antioxidáns rendszer károsodásának eredményeként is fokozódhat (62).

A már korábban részletezett sirtuinoknak (pl.: SIRT-1; 2.2.3 fejezet) fontos szerepe van többek között az NF κ B expresszió csökkentésén keresztül az oxidatív stressz csökkentésében (67). Úgy tűnik, hogy a gyulladásos folyamatok gátolhatják többek között a SIRT-1 expressziót is (68), aminek eredményeként az oxidatív stressz fokozódhat.

A szintén már korábban részletezett Nrf2 (2.3.2 fejezet) is fontos szerepet tölt be a redox egyensúly fenntartásában. Parciális nefrektómián átesett állatokban, mint a CKD modelljében az Nrf2 csökkent aktivációját találták, az azt aktiváló Kelch-like ECH-asszociált fehérje-1 szintjének növekedése mellett (69).

Az oxidatív stresszel szembeni védekezésben a csontanyagcserében és az öregedési folyamatokban is jelentős szerepet játszó klothonnak is fontos szerepe van (70, 71). Veseelégtelenségben a sirtuinok és Nrf2 szintjének csökkenése mellett a klotho gén funkciójának csökkenését is kimutatták (72, 73). Az említett folyamatok károsodása mellett a klotho jelentőségét az is jelzi, hogy populációs vizsgálatban a keringő magas klotho-koncentráció és az alacsony kardiovaszkuláris kockázat kapcsolatát tudták kimutatni (73).

In vitro vizsgálatban az Nrf2-gátlás során a C-C motif chemokine 11 (eotaxin-1, CCL11), mint gyulladáshoz kapcsolódó biomarker szintjének emelkedését találták, szintje csökkent az Nrf2 aktivitását fokozó Kelch-like ECH-asszociált fehérje-1 szintjének növekedése mellett. A hatás hátterében az Nrf2-nek az NFκB-ra gyakorolt hatását is feltételezik (74).

A CCL-11-nek, mint gyulladáshoz kapcsolódó biomarkernek a szerepe azért is fontos, mert szintjét több gyulladáshoz kapcsolódó citokinnel együtt magasabbnak találták CKD betegekben (75), és szerepe lehet a kardiovaszkuláris kockázat növekedésében is (76).

A fenti adatok alapján az antioxidánsok, így a rezveratrol fontos szerepet játszhat a krónikus vesebetegség megelőzésében, kezelésében is (12, 67).

3.5 IgANP és az oxidatív stressz

Az IgANP a leggyakoribb primer glomerulonefritisz. Jellemző rá, hogy perzisztáló vagy remittáló glomeruláris hematuriával és proteinúriával jelentkezhet (5, 77). A diagnózis alapja a vesebiopszia: diagnosztikus az immunhisztológiai vizsgálat során a mezangiális granuláris IgA1 immunkomplexek és a komplement 3 faktor jelenléte.

A betegség patogenezisének hátterében az IgA molekulák glikozilációjának változása áll. A kórosan glikozilált, galaktóz-hiányos IgA1 molekulák térszerkezete megváltozik. Ezekhez a molekulákhoz glikán-ellenes autoantitestek kapcsolódnak, majd az így létrejött immunkomplexek a mezangiumban lerakódva komplementaktivációt, mezangiális sejt aktivációt, majd következményes citokin, kemokin és extracelluláris mátrix proteinek szekrécióját okozzák, aminek eredményeként (inflammáció, fibrózis) alakulnak ki a glomeruláris elváltozások (77, 78). A kóros immunkomplexek a mezangiális sejtekkel szemben is fokozott reaktivitást mutatnak, köszönhetően többek között az IgA receptorhoz (pl.: CD 71) való fokozott kötődésüknek (77, 78).

Fénymikroszkópos vizsgálat során gyakran mezangioproliferatív glomerulonefritisz látható, de az enyhe mezangiális eltérés illetve a súlyos

extrakapilláris félholdképződés is előfordulhat (77) . Ennek megfelelően klinikailag egészen enyhe tüneteket és a gyors progressziójú veseelégtelenség tüneteit is mutathatja (6, 77).

Hosszú távú obszervációs vizsgálatok adatai alapján a diagnózis felállítását követő 20 év múlva a betegek megközelítőleg 20-50 %-ánál ESRD alakul ki (7). Kiemelendő, hogy a férfiak progressziós hajlama kifejezettebb, mint a nőké (6).

Úgy tűnik, hogy az oxidatív stressz mértéke is fontos szerepet játszik a betegség hosszú távú kimenetelében (25, 26, 78).

3.6 A rezveratrol szerepe a krónikus vesebetegségben

A rezveratrol a korábban részletezett direkt és indirekt antioxidáns hatásán keresztül (2. ábra) fontos szerepet játszhat a vesebetegségek, így a krónikus vesebetegség kezelésében is (12, 67).

3.6.1 A rezveratrol citoprotektív szerepe

A CKD kialakulásában illetve progressziójában a reaktív oxigén termékeknek fontos szerepe van (11). A rezveratrol a szuperoxid anion, a hidroxil szabadgyök illetve a peroxinitrit direkt megkötése (28, 29, 30), valamint egyes antioxidáns enzimek (pl. szuperoxid-dizmutáz, kataláz, glutation-peroxidáz) aktivitásának fokozása, vagy ezen enzimek transzkripciójának Nrf2-n vagy a FOXO-n keresztüli szabályozása révén fejtheti ki direkt sejtvédő hatását vesebetegségben (2. ábra; (12))

A rezveratrol a SIRT-1 aktiváción illetve annak katalitikus aktivitásának fokozásán keresztül is fontos citoprotektív hatású. A SIRT-1 közvetlen, illetve AMPK-n keresztül történő aktivációja révén kedvezően befolyásolja a sejt túlélését, a mitokondriális biogenezist és metabolizmust, valamint a redox státuszt is (12).

A csökkent SIRT1 aktiváció fontos szerepet játszik az öregedési folyamatokban, így a vese öregedési folyamataiban is. A rezveratrol a korábbi adatok alapján ezen folyamatok gátlásában is szerepet játszhat (12).

3.6.2 A rezveratrol szerepe a krónikus vesebetegség kórfolyamatainak gátlásában

A diabéteszes nefropátia a cukorbetegség egyik súlyos szövődménye, a krónikus vesebetegség egyik leggyakoribb oka. Patogenezisében az oxidatív stressz fontos szerepet játszik (79).

Állatkísérletekben a proteinúria és a vesefunkció javulását, a renális oxidatív stressz csökkenését tudták kimutatni rezveratrol-kezelés hatására (80). Ezen túlmenően a kezelés hatására az antioxidáns enzimek, így a szuperoxid dizmutáz, kataláz, glutation peroxidáz, glutation-S-transzferáz, glutation reduktáz aktivitása fokozódott, valamint az Nrf2 szintje is magasabb volt (80).

Diabéteszes egerekben rezveratrol az AMPK-SIRT-1-PGC-1 α útvonal aktivációjával gátolta a lipotoxicitással összefüggő mezangiális sejt apoptózist (49). *In vitro* vizsgálat során a rezveratrol a mezangiális sejt proliferációt és a fibronectin expressziót is gátolta a JNK- NF κ B-NAD(P)H oxidáz- reaktív oxigén termék útvonal gátlása révén (81).

Az sejtnövekedésért és proliferációért is felelős mammalian target of rapamycin (mTOR) útvonal aktivációjának is fontos szerepe van a diabéteszes nefropátia patogenezisében (82). *In vitro* vizsgálatban rezveratrol fokozta az mTOR és az azt gátló DEP domain interactor of mTOR (DEPTOR) összekapcsolódását, gátolva az mTOR útvonalat (82).

Az aldoszteron a mineralokortikoid receptor aktiváción keresztül fontos szerepet játszik a podocita károsodásban és a proteínúriával is járó vesebetegségek progressziójában (12). Rezveratrol kezelés, a hatására létrejövő SIRT-1 - PGC-1 α tengely aktiválásán keresztül meggátolta a podocita apoptózist, a mitokondriális diszfunkciót, valamint helyreállította a podocin és nefrin expressziót *in vitro* és *in vivo* állatkísérletek során (83).

A renális fibrózis a progresszív vesebetegségek egyik fontos eleme. Patogenezisében a transzformáló növekedési faktor- β (TGF- β)/Smad3 útvonal fontos szerepet játszik (84). Az egyoldali uréterobstrukciós állatkísérletes modellben a rezveratrol kezelés a SIRT-1 aktiváció eredményeként létrejövő reverzibilis Smad3 acetiláció révén gátolta a TGF- β -t. Ennek következtében többek között a kollagén IV és fibronectin gén aktivációja gátlódott (84).

Hasonló állatmodellben igazolták, hogy a rezveratrol kezelés hatására a renális oxidatív stressz csökkenése, a szuperoxid dizmutáz szintjének emelkedése mellett az intracelluláris adhéziónak molekulá-1 (ICAM-1), a TNF- α , a TGF- β mRNS szintje, a fibronectin szintje, valamint a Smad3 acetilációja csökkent. Ez arra utal, hogy a rezveratrol kezelés gátolta a renális fibrózist (85).

3.7 A rezveratrol lehetséges szerepe az IgANP kezelésében

IgANP-s betegekben a glomeruláris endokapilláris proliferáció mértéke szoros kapcsolatban áll a proteinúriával és a vesefunkció romlás mértékével. A kórfolyamatokban az oxidatív stressz is fontos szerepet játszik (86).

Az endokapilláris proliferációval összefüggő mRNS expresszió vizsgálata során számos, a veleszületett immunválaszért felelős fehérje, így a toll-like receptorok (TLR) transzkripciója volt megfigyelhető. TLR-ek és intracelluláris adapter molekuláik aktivációjának eredményeként interferon transzkripciós faktor 3 és NF κ B fokozott aktivitása figyelhető meg (87).

A rezveratrol NF κ B-re gyakorolt ismert hatása, illetve az endokapilláris proliferációval kapcsolatos NF κ B-vel összefüggő jelátviteli utak *in silico* hatóanyagvizsgálat során történt összevetése alapján többek között a rezveratrol is kedvező hatású lehet IgANP kezelésében (86).

4. Célkitűzések

Első vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy a meglévő antidiabetikus terápia mellé adott rezveratrol kezelés hogyan befolyásolja T2DM-es betegeink anyagcseréjét, illetve ennek háttérében milyen mechanizmusok állhatnak. Befolyásolja-e a szervezet antioxidáns rendszereit, illetve hatással van-e az inzulin jelátviteli mechanizmusaira ?

Ezt követően a rezveratrol renális hatásait elemeztük IgANP-s betegekben vizsgáltuk az antioxidáns rezveratrol oxidatív stresszre, vesefunkcióra és proteinúriára kifejtett hatását.

5. Betegek és módszerek

5.1 A rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegekben

5.1.1 Betegek

Pécsi Tudományegyetem Etikai Bizottságának engedélye (Ügyiratszám: 2168), és a betegek írásos beleegyezését követően kettősvak placebokontrollált, randomizált, parallel csoportos, prospektív vizsgálatunkba 19, T2DM-es, orális antidiabetikummal kezelt férfi beteget vontunk be. Tíz beteg kapott rezveratrol tartalmú készítményt, kilenc placebót.

Bevonásra > 18 éves, 2-es típusú diabéteszes személyek kerültek, akik eGFR értéke Cockroft számítás szerint ≥ 90 ml/min, angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátlót, vagy angiotensin-receptor (ATIIR) blokkolót szedtek és a vizsgálatban való részvételükhöz tájékoztatást követően írásban hozzájárultak.

Kizáró ok volt az inzulinkezelés, az alkohol vagy kábítószer abúzus, súlyos májelégtelenség, súlyos szívelégtelenség (NYHA III-IV), ismert aktív autoimmun megbetegedés, akut infekció vagy meglévő daganatos betegség.

5.1.2 Vizsgálati protokoll

A szűrés alkalmával került sor a részletes szóbeli és írásos tájékoztatás után a beleegyező nyilatkozat aláírására. Ekkor általános belgyógyászati vizsgálatot (anamnézis, fizikális státusz, EKG, vérnyomás, pulzus) és rutin laboratóriumi vizsgálatot (vérkép, szérumnátrium, szérumkálium, szérumkarbamid, szérumkreatinin, szérumösszfehérje, szérumalbumin, hemoglobin A_{1c}, GOT, GPT, ALP, LDH, GGT, bilirubin, protrombin) végeztünk. A testsúly, a kor és a szérumkreatinin-szint alapján kiszámítottuk a betegek becsült kreatinin clearance-ét a Cockroft-Gault formula (88) segítségével.

A szűrést követően a kritériumokat teljesítő betegek lipidcsökkentő kezelését átmenetileg, a vizsgálat teljes idejére szüneteltettük. A vizsgálatot 4 hét kimosási időszakot követően kezdtük meg. A kimosási periódust követően, az I. vizit előtti napon a betegek 24 órán keresztül gyűjtötték vizeletüket. A gyűjtött

vizeletből 24 órás kreatinin clearance, vizelet albuminürítés és vizelet orto-tirozin ürítés vizsgálatokra mintát vettünk, ezt követően folyamatos szöveti cukorszint monitorozás (CGM) (Medtronic MINIMED, SOF-SENSOR (MMT-7002)) vizsgálatot kezdtünk. Ezután éhomi vérvételt végeztünk a következő vizsgálatok elvégzése céljából: plazma-glükóz, széruminzulin, C-peptid, triglicerid, LDL, HDL, összkoleszterin, fruktózamin, nagy érzékenyséű C-reaktív protein (hsCRP), fibrinogén, homocystein, vérkép, eritropoetin szint, trombocita foszforilált Akt (pAKT) valamint az összes Akt arány (pAkt/Akt). A vizsgált személyektől tesztétkezést követően 30, 60, 90 és 120 perc elteltével újabb vérmintákat vettünk (plazmaglükóz, széruminzulin, szérum-C-peptid, szérumtriglicerid). Ezután a résztvevőket véletlenszerűen két csoportba, kezelt és kontroll csoportba soroltuk be. A kezelt csoport napi 2x1 tbl. 5 mg-os rezveratrolt, a kontroll csoport pedig 2x1 tbl. placebo kapott *per os*.

Két hét elteltével a II. vizit, majd ismét 2 hét elteltével a III. vizit alkalmával az első viziten elvégzett vizsgálatokat ismételtük.

5.1.3 Minták feldolgozása

A laboratóriumi vizsgálatok közül a vérkép, szérumnátrium, szérumkálium, szérumkarbamid, szérumkreatinin, szérumösszfehérje, szérumalbumin, hemoglobin A_{1c}, GOT, GPT, ALP, LDH, γ GT, bilirubin, prothrombin, vizeletalbumin-ürítés, plazma-glükóz, C-peptid, triglicerid, LDL, HDL, összkoleszterin, fruktózamin, hsCRP, fibrinogén, homocisztein, eritropoetinszint mérése a PTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézetben beállított, rutinszerűen alkalmazott módszerekkel történt.

Az inzulinrezisztenciát ($HOMA_{IR-t}$), a β -sejt funkciót ($HOMA_{\beta-t}$) valamint az inzulin szenzitivitási indexet ($ISI_{Stumvoll}$) és a glükóz metabolikus clearance-t ($MCR_{Stumvoll}$) az irodalomból ismert képletek alapján számoltuk (89, 90).

Az oxidatív stressz mértékét jelző vizelet orto-tirozinszint mérésére HPLC módszert használtunk. A méréshez a Shimadzu Class LC-10 ADVP HPLC rendszert (Shimadzu USA Manufacturing, Inc., Canby, OR, USA) használtuk a Shimadzu RF-10 AXL fluorescens detektorral (Shimadzu USA Manufacturing,

Inc.). A tirozint 275 nm excitációs és 305 nm emissziós hullámhosszon detektáltuk (19).

Perifériás vérből trombocitát izoláltunk a következőképpen: a betegektől éhgyomorra három műanyag citrátos csőbe vért vettünk, amelyeket szobahőmérsékleten 10 percig, 250 g-n centrifugáltuk. A felülúszót, a vörösvértestek érintése nélkül, műanyag pipettával leszívtuk. Ezt követően a trombocita dús plazmát 20mM Tris HCl és 150 mM NaCl tartalmú, pH:7,4-es mosópufferrel forgattuk össze 1:1 arányban. A mintát 10 percig centrifugáltuk 500 g-n. A mosást kétszer ismételtük. Az üledéket Hepes-Tyrode pufferben (140mM NaCl, 4,5mM KCl, 2,5mM CaCl₂, 1mM MgCl₂, 11mM glükóz, pH 7,4) reszuszpendáltuk, a trombocitaszámot 5,0x10⁸/ml-re állítottuk be. A trombocitákból lizátumot készítettünk (20mM Tris HCl, 137 mM NaCl, 1% nonilfenoxi-polietoxi-etanol (NP40), 5% glicerin, 1 mM etilén-diamin-tetraecetsav (EDTA), 1mM fenil-metil-szulfonil-fluorid (PMSF), 25 mM aprotinin, 25 mM leupeptin, 2mM nátrium ortovanadát, 2mM nátrium-fluorid, 10mM tetrasodium pirofoszfát).

A lizátumokból Bradford féle metodikával, albumin standard használatával fehérjét mértünk. A trombocita pAkt-Akt arány mérésére Western blot technikát alkalmaztunk (pAkt(Ser473)/Akt (Cell Signaling)). A vegyszereink a Sigma cégtől származtak (91)

A glukagonszerű peptid-1 (GLP-1), a glükózdependens inzulinotróp peptid (GIP), valamint az amilin meghatározáshoz a Millipore EGLP-35K Glucagon Like Peptide-1 (Active), Millipore EZHGIP-54K (Human GIP [total]), valamint a Millipore EZHAT-51K (Total Human Amylin) ELISA KIT-eket használtuk.

5.1.4 Vizsgálati készítmény és tesztétel

Az 5 mg növényi eredetű rezveratrolt (>98% *transz*-rezveratrol tartalom) tartalmazó és a placebo zselatin kapszulákat az Argina Nutraceuticals-tól (korábbi nevén Admarc Nutraceuticals, Hungary) szereztük be. A placebo kapszulák csak a mikrokristályos cellulózból álló hordozóanyagot tartalmazták. A betegek terápiás adherenciáját a névre szóló dobozokban maradt kapszulák száma alapján ellenőriztük. A kapszulák fehérje-, szénhidrát- és zsírtartalma

elhanyagolható volt. A vizsgálat alatt mellékhatást, gyógyszer interakciót nem észleltünk.

A tesztétkezéshez szükséges Diben tápszert a Fresenius Kabi (Németország) cégtől szereztük be. A betegek 225 ml-t kaptak alkalmanként a következő összetételben: összenergia: 945kJ, fehérje : 10,13 g, szénhidrát: 20,81 g , zsír: 11,25 g.

5.1.5 Statisztikai analízis

A bemutatott adataink (CGM paraméterek, maximális intersticiális glükózsztintig eltelt idő, HOMA_{IR}, orto-tirozin/vizelet kreatinin, pAkt/Akt) normális eloszlást mutattak. Adataink eloszlását az átlag \pm szórás (SD) feltüntetésével jellemeztük.

Az egyes viziteknel mért értékek összehasonlítására egyutas ANOVA-t alkalmaztunk, Bonferroni *post hoc* teszttel.

A HOMA_{IR} és orto-tirozin tekintetében a kiinduláskor észlelt nagy egyéni eltérések miatt ezen értékek kiindulási értékhez viszonyított változásait (Δ HOMA_{IR} és Δ orto-tirozin/kreatinin arány) hasonlítottuk össze.

A klinikai paraméterek közötti összefüggés statisztikai vizsgálatára Pearson-féle korrelációs vizsgálatot alkalmaztunk.

A statisztikai számításokhoz IBM SPSS Statistics for Windows Version 13.0 programot illetve az Origin (Microcal, MA, USA) programot használtunk.

5.2 Rezveratrol hatásának vizsgálata IgANP betegekben

5.2.1 Betegek

Pécsi Tudományegyetem Etikai Bizottságának engedélye (Ügyiratszám: 4583), és a betegek írásos beleegyezését követően kettősvak placebokontrollált, randomizált, parallel csoportos, prospektív 12 hétig tartó elővizsgálatunkba 100 IgANP-s beteg bevonását terveztük. Az interim analízis

27 beteg bevonása után arra utalt, hogy a rezveratrol-kezelés növelheti a betegek albuminuriáját, ezért a vizsgálat leállítása mellett döntöttünk. A bevont betegek közül 15 kapott rezveratrol tartalmú készítményt, 12 placebót.

Azok a stabil állapotú betegek kerültek be a vizsgálatba, akik elmúltak 18 évesek, beleegyeztek a vizsgálatba, szövettani mintavétel során igazolt IgA nefropátiások, kalkulált kreatinin clearance-ük (eGFR) CKD-EPI számítás (92) szerint nagyobb vagy egyenlő $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ -nél, és hipertóniás betegek esetében minimum egy renin-angiotenzin-aldoszteron rendszerre ható vérnyomáscsökkentő szert szednek.

Kizáró ok volt az inzulinkezelés, az alkohol vagy kábítószer abúzus, súlyos májelégtelenség, súlyos szívelégtelenség (NYHA III-IV), ismert aktív autoimmun megbetegedés, akut infekció, meglévő daganatos betegség, terhesség vagy szoptatás.

5.2.2 Vizsgálati protokoll

A szűrést követően a beválasztási kritériumokat teljesítő betegek az első vizit előtti napon 24 órán keresztül gyűjtötték vizeletüket. Az I. vizit során a gyűjtött vizeletből 24 órás kreatinin clearance, vizelet albuminürítés és vizelet-orto- és para-tirozin ürítés vizsgálatokra mintát vettünk. Éhgyomri vérvételt végeztünk a következő vizsgálatok elvégzése céljából: plazmaglükóz, fruktózamin, HbA_{1c}, széruminzulin, C-peptid, szérumnátrium, szérumkálium, szérumkálcium, szérumfoszfát, parathormon, szérumkarbamid, szérumkreatinin, szérumösszfehérje, szérumalbumin, szérumtriglicerid, szérum-LDL, szérum-HDL, összkoleszterin, szérum-GOT, szérum-GPT, szérum-ALP, szérum-LDH, szérum- γ GT, szérumbilirubin, protrombin, hsCRP, vérkép, retikulocita szám, szérumvas-, transferrinszint, transferrin szaturáció, szérumferritinszint, erythropoetinszint, IgA szint, orto-, meta-, para-tirozinszint, valamint alfa-klotho és CCL11 szint meghatározásra.

A betegektől egyszeri reggeli első vizeletmintát is gyűjtöttünk vizelet albumin és albumin/kreatinin hányados meghatározásra.

Ezután a résztvevőket véletlenszerűen két csoportba, kezelt és placebo csoportba soroltuk be. A kezelt csoport napi 2x1 tbl. 5 mg-os rezveratrolt, a placebo csoport pedig 2x1 tbl. placebót kapott per os.

Hat hét elteltével, valamint a tizenkettedik héten ismét elvégeztük a fenti vér és vizeletvizsgálatokat.

A vizsgálatot újabb anamnézis felvétellel, fizikális vizsgálattal és rutin laborvizsgálattal zártuk.

5.2.3 Minták feldolgozása

A laboratóriumi vizsgálatok közül a plazmaglükóz, fruktózamin, HbA1c, szérumbin, C-peptid, szérumnátrium, szérumbkálum, szérumbkálcium, szérumbfoszfát, parathormon, szérumbkarbamid, szérumbkreatinin, szérumbösszfehérje, szérumbalbumin, szérumbtriglicerid, szérumbLDL, szérumbHDL, összkoleszterin, szérumbGOT, szérumbGPT, szérumbALP, szérumbLDH, szérumb γ GT, szérumbbilirubin, prothrombin, hsCRP, vérkép, retikulocita szám, szérumbvas-, transzferrinszint, transzferrin szaturáció, szérumbferritinszint, erythropoetinszint, IgA szint mérése a PTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézetben beállított, rutinszerűen alkalmazott módszerekkel történt.

Az oxidatív stressz mértékét jelző orto-tirozinszint mérésére az előző vizsgálatkor alkalmazott módszert használtuk (ld.: 5.1.3 fejezet). A vizelet aminosav szinteket a vizelet kreatinin koncentrációra normalizáltuk.

A CCL11 szint meghatározására a Human CCL11/Eotaxin Quantikine ELISA kitet használtuk (R&D Systems; Cat. No.: RD-DTX00), az alfa-klotho szint mérésére pedig a humán α -Klotho Assay kitet (Immuno-Biological Laboratories Co.; Cat. No.:JP27998) .

5.2.4 Vizsgálati készítmény

Jelen vizsgálatban a korábbiakban is alkalmazott 5 mg rezveratrol tartalmú és placebo kapszulákat alkalmaztuk (ld.: 5.1.4 fejezet).

5.2.5 Statisztikai analízis

Bemutatott adataink döntő részben (vizelet orto-tirozin ürítés, vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados, eGFR, a vizelet albumin, a vizelet albumin/kreatinin hányados, CCL11) nem-normál eloszlást mutattak, az alfa-klotho normál eloszlást mutatott.

A vizitek összehasonlításánál nem normális eloszlás esetén Kruskal-Wallis tesztet, majd -annak pozitívítása esetén- a páronkénti összehasonlításokhoz Mann-Whitney tesztet használtunk. Normális eloszlás esetén egyutas ANOVA-t alkalmaztunk, Bonferroni *post hoc* tesztel. Az eGFR és albuminúria változásait nemek szerint és csoportok szerint is vizsgáltuk.

Eredményeinket normális eloszlás esetén átlag \pm SD, nem normális eloszlás esetén medián (interkvartilis terjedelem [IQR]) feltüntetésével adtuk meg. A kis esetszámmra és az értékek nagy variabilitására tekintettel az eGFR és albuminúria változásait a kiindulási értékhez képest százalékos arányban tüntettük fel.

A nem normális eloszlást mutató klinikai paraméterek közötti összefüggés vizsgálatára Pearson-féle korrelációt alkalmaztunk.

A statisztikai számításokhoz az IBM SPSS Statistics for Windows Version 22 programot használtunk.

6. Eredmények

6.1 A rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegekben

6.1.1 A betegek kiindulási klinikai és laboratóriumi paraméterei

A betegek kiindulási klinikai ill. laboratóriumi paramétereikben különbség nem volt (1. táblázat).

A vizsgálat elkezdése után 2 héttel még nem jelentkeztek eltérések a két csoport között a vizsgált paraméterek tekintetében.

A betegek vizsgálati készítmény szedési compliace-e 100%-os volt.

1. táblázat Betegek főbb klinikai jellemzői. Az adatokat átlag \pm SEM értékben adtuk meg. A szövődményeket esetszám szerint adtuk meg (i/n, igen/nem). Az eGFR-t a Cockcroft-Gault formula alapján számoltuk.)

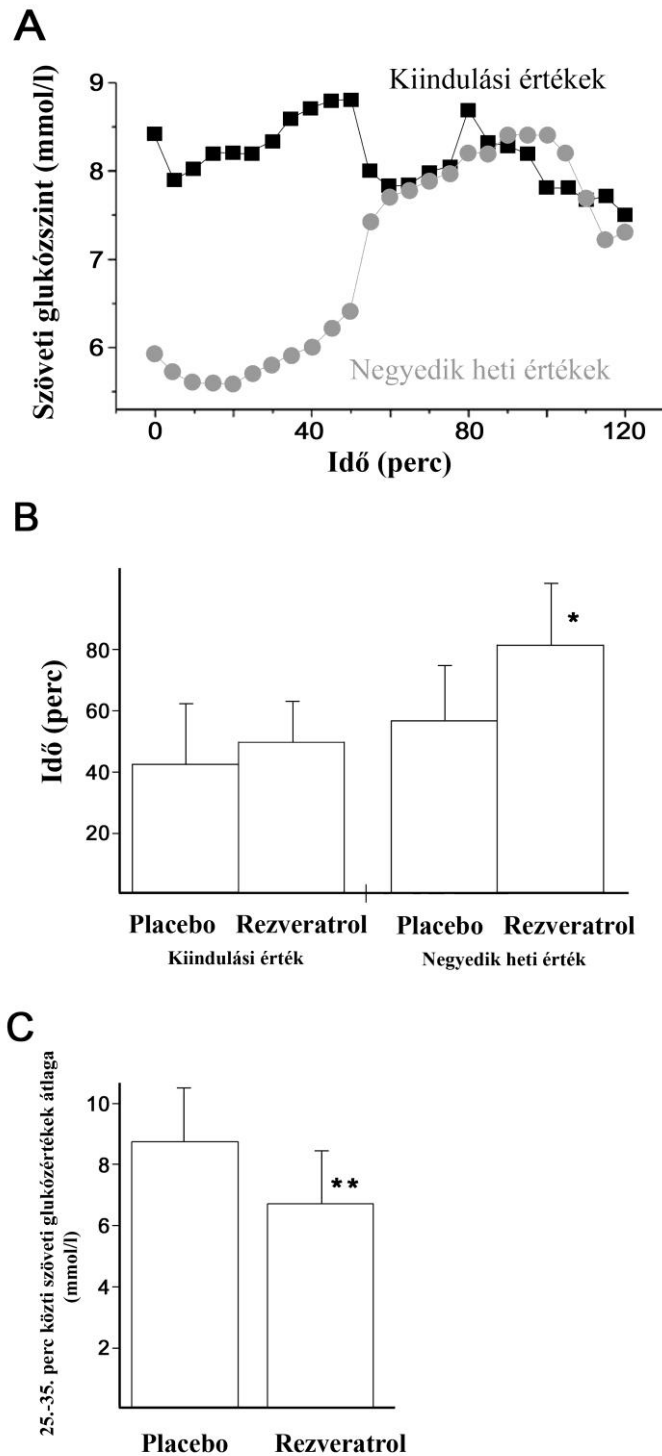
	Resveratol n=10	Placebo n=9	Csoportok közötti statisztikai különbség
Kor (év)	57,9 \pm 2,5	52,5 \pm 0,4	NS
Testsúly (kg)	90,9 \pm 5,1	105,3 \pm 5,6	NS
Plazmaglükóz (mmol/l)	7,9 \pm 0,7	8,8 \pm 1,1	NS
Fruktózamin (μmol/l)	281 \pm 14	288 \pm 15	NS
HbA_{1c} (%)	7,50 \pm 0,7	7,6 \pm 0,5	NS
Szérumkoleszterin (mmol/l)	5,8 \pm 0,4	5,1 \pm 0,4	NS
LDL-koleszterin (mmol/l)	3,4 \pm 0,3	3,3 \pm 0,4	NS
HDL-koleszterin (mmol/l)	1,2 \pm 0,1	1,0 \pm 0,0	NS
Triglicerid (mmol/l)	3,2 \pm 1,1	2,8 \pm 0,4	NS
Nagy érzékenységű CRP (mg/l)	3,4 \pm 0,7	4,1 \pm 0,6	NS
eGFR (ml/min)	117 \pm 10	138 \pm 13	NS
Vizeletalbumin/kreatinin (mg/mmol)	4,1 \pm 1,4	1 \pm 1,0	NS
Systoles vérnyomás (Hgmm)	140 \pm 4	140 \pm 6	NS
Diastoles vérnyomás (Hgmm)	86 \pm 2	89 \pm 4	NS
Diabéteszes nefropátia (i/n)	7/3	4/5	NS
Diabéteszes neuropátia(i/n)	0/10	2/7	NS
Perifériás artériás betegség (i/n)	1/9	1/8	NS
Angina pectoris (i/n)	0/10	1/8	NS
Ischémiás szívbetegség (i/n)	1/9	1/8	NS
Szívinfarktus (i/n)	0/10	0/9	NS
Stroke (i/n)	0/10	0/9	NS

6.1.2 A rezveratrol-kezelés hatása a szöveti cukorszintekre

A 3A ábrán egy rezveratrol szedő beteg kiindulási és negyedik hét végi, tesztétkezést követő CGM görbéje látható.

A tesztétkezést követő 120 perces CGM görbék analízise során további különbségek látszóttak a két csoport, illetve a rezveratrol csoport kiindulási és negyedik heti eredményei között. A CGM-mel mért maximális szöveti vércukorszintig eltelt idő megnyúlt a rezveratrolt szedő betegeknél a kiindulási értékhez képest ($p=0,006$), valamint a negyedik hétre a placebo csoporthoz képest is ($p=0,03$). A placebót szedő betegeknél a kiinduláshoz képest a negyedik hétre nem változott a maximális intersticiális vércukorszintig eltelt idő (3B ábra).

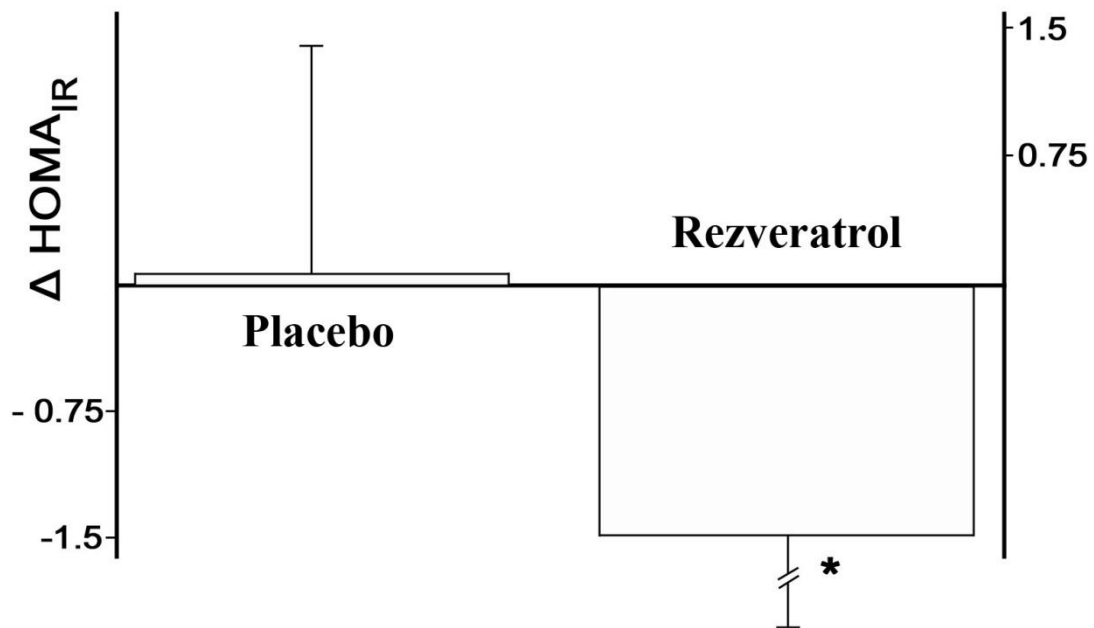
A negyedik hétre a tesztétkezést követően kisebb vércukor emelkedés volt megfigyelhető a rezveratrol csoportban a placebo csoporthoz képest, ez a csökkenés a 25. és 35. perc között statisztikai különbséget is mutatott ($p=0,023$) (3C ábra).



3. ábra. A rezveratrol kezelés hatása, CGM adatai. (A) A tesztétkezést követő szöveti cukorszint változások rezveratrol kezelés hatására, egy beteg esetén. (B) A tesztétkezést követő maximális szöveti cukorszintig eltelt idő a rezveratrol és a placebo csoportban. * $p=0,006$ vs. rezveratrol csoport kiindulási érték. (C) A tesztétkezést követő 25. és 35. perc közötti szöveti cukorértékek átlaga a rezveratrol és a placebo csoportban. ** $p=0,023$ vs. placebo csoport. Az ábrán az adatokat átlag \pm szórás formában tüntettük fel.

6.1.3 A rezveratrol-kezelés hatása az inzulinrezisztenciára

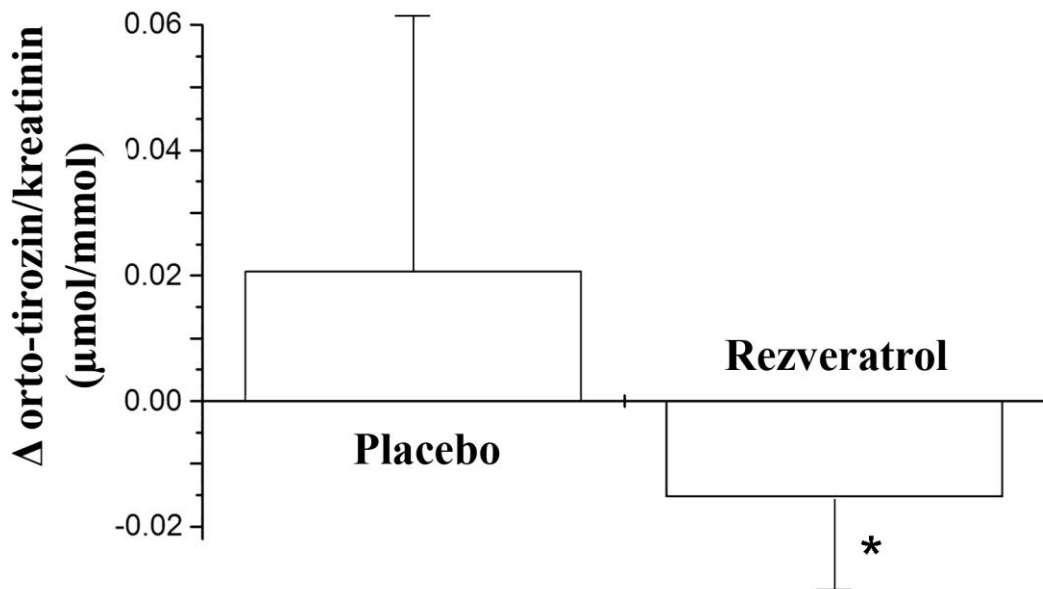
A kiindulási értékhez képest a negyedik hétre a $HOMA_{IR}$ változásának átlaga a rezveratrol csoportban csökkent a placebo csoporthoz képest ($p=0.044$) (4. ábra).



4. ábra. Az inzulin rezisztencia ($HOMA_{IR}$) változása. A kiindulási és negyedik heti $HOMA_{IR}$ értékeinek különbségei a rezveratrol és a placebo csoportban.* $p=0,044$ vs. placebo csoport. Az ábrán az adatokat átlag \pm szórás formában tüntettük fel.

6.1.4 A rezveratrol-kezelés hatása a vizelet-orto-tirozin ürítésére

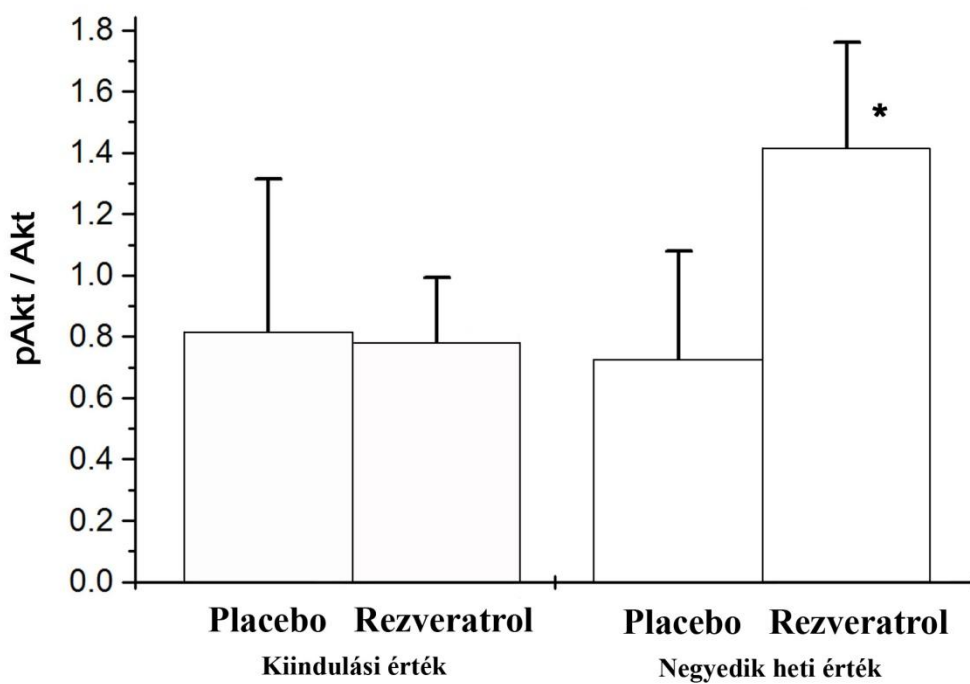
A kiindulási értékhez képest a negyedik hétre a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados változásának átlaga is csökkenést mutatott a rezveratrol csoportban a placebo csoporthoz képest ($p=0,043$) (5. ábra).



5. ábra. A vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados változása. A kiindulási és negyedik heti orto-tirozin/kreatinin hányados értékeinek különbségei a rezveratrol és a placebo csoportban. * $p=0,043$ vs. placebo csoport. Az ábrán az adatokat $\text{átlag} \pm \text{szórás}$ formában tüntettük fel.

6.1.5 A rezveratrol-kezelés hatása az Akt aktivációra

A 6. ábra a foszforilált Akt / teljes Akt (pAkt/Akt) arány emelkedését mutatja négy hetes rezveratrol-kezelés hatására ($p=0,032$). A placebo csoportban változás nem volt ($p=NS$).



6. ábra. A trombocita Akt foszforiláció változása négy hetes kezelés hatására. $*p=0,032$ vs. rezveratrol csoport kiindulási értéke. Az ábrán az adatokat átlag \pm szórás formában tüntettük fel.

6.1.6 A rezveratrol-kezelés hatása az inkretin hormonokra

Az amylin, GIP és GLP-1 szintekben rezveratrol-kezelés hatására változást nem találtunk a placebo csoporthoz képest. A negyedik hétre a rezveratrol csoportban az amylin szint $2,98 \pm 0,69$ pM volt, a placebo csoportban $3,11 \pm 2,93$ pM ($p=NS$), a GIP szint a rezveratrol csoportban $38,22 \pm 9,44$ pg/ml volt, a placebo csoportban $36,23 \pm 8,17$ pg/ml ($p=NS$), a GLP-1 szint a rezveratrol csoportban $7,73 \pm 1,93$ pM volt, a placebo csoportban $7,21 \pm 0,72$ pM ($p=NS$).

6.1.7 A rezveratrol-kezelés hatása a nyomásterhelés és inzulinrezisztencia kapcsolatára

A korrelációs vizsgálat során a szisztolés hiperbáriás impakt és az $ISI_{Stumvoll}$ közötti kezdeti negatív kapcsolat rezveratrol-kezelés hatására megszűnt a negyedik hétre. Rezveratrol csoport: $R_{kiindulási} = -0,826$, $p=0,003$ vs. $R_{negyedik\ heti} = -0,028$, $p=0,943$; Placebo csoport: $R_{kiindulási} = -0,757$, $p=0,029$ vs. $R_{negyedik\ heti} = -0,716$, $p=0,046$.

Hasonló eredményeket találtunk a szisztolés hiperbáriás impakt és $MCR_{Stumvoll}$ között is. Rezveratrol csoport: $R_{kiindulási} = -0,834$, $p=0,003$ vs. $R_{negyedik\ heti} = -0,023$, $p=0,953$; Placebo csoport: $R_{kiindulási} = -0,757$, $p=0,029$ vs. $R_{negyedik\ heti} = -0,717$, $p=0,045$.

6.2 A rezveratrol hatásának vizsgálata IgANP-s betegekben

6.2.1 A betegek kiindulási klinikai paraméterei

Nemek szerinti felosztásban a rezveratrol és a placebo csoport között kiinduláskor nem volt különbség. A rezveratrol csoporton belül a férfiak és nők között a vizsgálat kezdetekor szintén nem volt különbség (2. táblázat).

A kontroll csoport életkor ($54,0$ év (IQR:6) vs. $47,5$ év (IQR:19); $p=NS$), eGFR ($85,18$ ml/min/ $1,73$ m² (IQR:19) vs. $83,00$ ml/min/ $1,73$ m² (IQR:37); $p=NS$) és

testsúly (80,3 kg (IQR:20,8) vs.83,5 kg (IQR:20,0);p=NS) tekintetében illetve volt az IgANP-s betegekhez.

A kontroll férfi csoport szintén illetve volt életkor (54,0 év (IQR:10) vs. 34,0 év (IQR:20);p=NS), eGFR (87,3ml/min/1,73 m² (IQR:47) vs. 101,0 ml/min/1,73 m² (IQR:51);p=NS), és testsúly (84 kg (IQR:21) vs. 87,0 kg (IQR:26,5);p=NS) tekintetében az IgANP-s férfiakhoz.

A kontroll nő csoport szintén illetve volt életkor (54,0 év (IQR:7) vs. 51,5 év (IQR:12);p=NS), eGFR (79,6 ml/min/1,73 m² (IQR:15) vs. 79,5 ml/min/1,73 m² (IQR:33);p=NS), és testsúly (76 kg (IQR:27,5) vs. 78,9 kg (IQR:30);p=NS) tekintetében az IgANP-s nőkhöz.

Ezen túlmenően a kontroll csoporton belül a férfiak és nők között sem volt különbség életkor (54,0 év (IQR:10) vs. 54,0 év (IQR:7);p=NS), eGFR(87.,26ml/min/1,73 m² (IQR:47) vs. 79,6 ml/min/1.73 m² (IQR:15);p=NS) és testsúly (84 kg (IQR:21) vs. 76 kg (IQR:27.5);p=NS) tekintetében.

2. Táblázat. A betegek kiindulási klinikai paraméterei. Az adatokat mint medián és interkvartilis tartomány (IQR) ábrázoltuk a nemi megoszlás (férfiak,A; nők, B) szerint. Az eGFR-t a CKD-EPI formula alapján számoltuk.

(A)

	Rezveratrol (n=9)		Placebo (n=6)	
	Medián	IQR	Medián	IQR
Életkor (év)	34,0	20,0	55,5	27,0
Testsúly(kg)	87,0	26,5	89,0	31,8
Nagy érzékenységű CRP (mg/l)	2,3	5,9	1,2	3,1
Szérumkreatinin (μmol/l)	80,0	47,0	83,5	37,0
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	101,0	51,0	93,5	42,0
Parathormon (pmol/l)	4,2	3,3	4,32	2,6
Eritropoetin (mU/ml)	7,7	5,7	7,6	6,7
Összkoleszterin (mmol/l)	5,3	1,4	4,9	1,7
LDL-koleszterin (mmol/l)	2,7	1,6	2,9	2,0
HDL-koleszterin (mmol/l)	1,3	0,7	1,5	0,8
Triglicerid (mmol/l)	1,2	1,0	0,9	1,4
Reggeli első vizelet albumin/kreat (mg/mmol)	8,7	25,4	22,5	70,8
Vérnyomás (szisztolés) (mmHg)	135,5	16,0	135,0	22,0
Vérnyomás (diasztolés) (mmHg)	72,5	9,0	74,0	13,0

(B)

	Rezveratrol (n=6)		Placebo (n=6)	
	Medián	IQR	Medián	IQR
Életkor (év)	51,5	12,0	48,5	14,0
Testsúly(kg)	78,9	30,0	71,3	22,9
Nagy érzékenységű CRP (mg/l)	1,9	6,7	1,9	2,5
Szérumkreatinin (μmol/l)	78,0	22,0	78,5	21,0
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	79,5	33,0	76,5	27,0
Parathormon (pmol/l)	4,1	1,6	2,9	1,4
Eritropoetin (mU/ml)	7,7	18,0	10,3	6,3
Összkoleszterin (mmol/l)	5,0	1,5	4,7	1,6
LDL-koleszterin (mmol/l)	3,4	1,0	2,8	1,2
HDL-koleszterin (mmol/l)	1,8	0,7	1,6	0,9
Triglicerid (mmol/l)	1,2	0,9	1,3	1,6
Reggeli első vizelet albumin/kreat (mg/mmol)	34,1	74,2	11,3	37,5
Vérnyomás (szisztolés) (mmHg)	129,0	16,0	129,5	9,0
Vérnyomás (diasztolés) (mmHg)	78,5	10,0	70,0	20,0

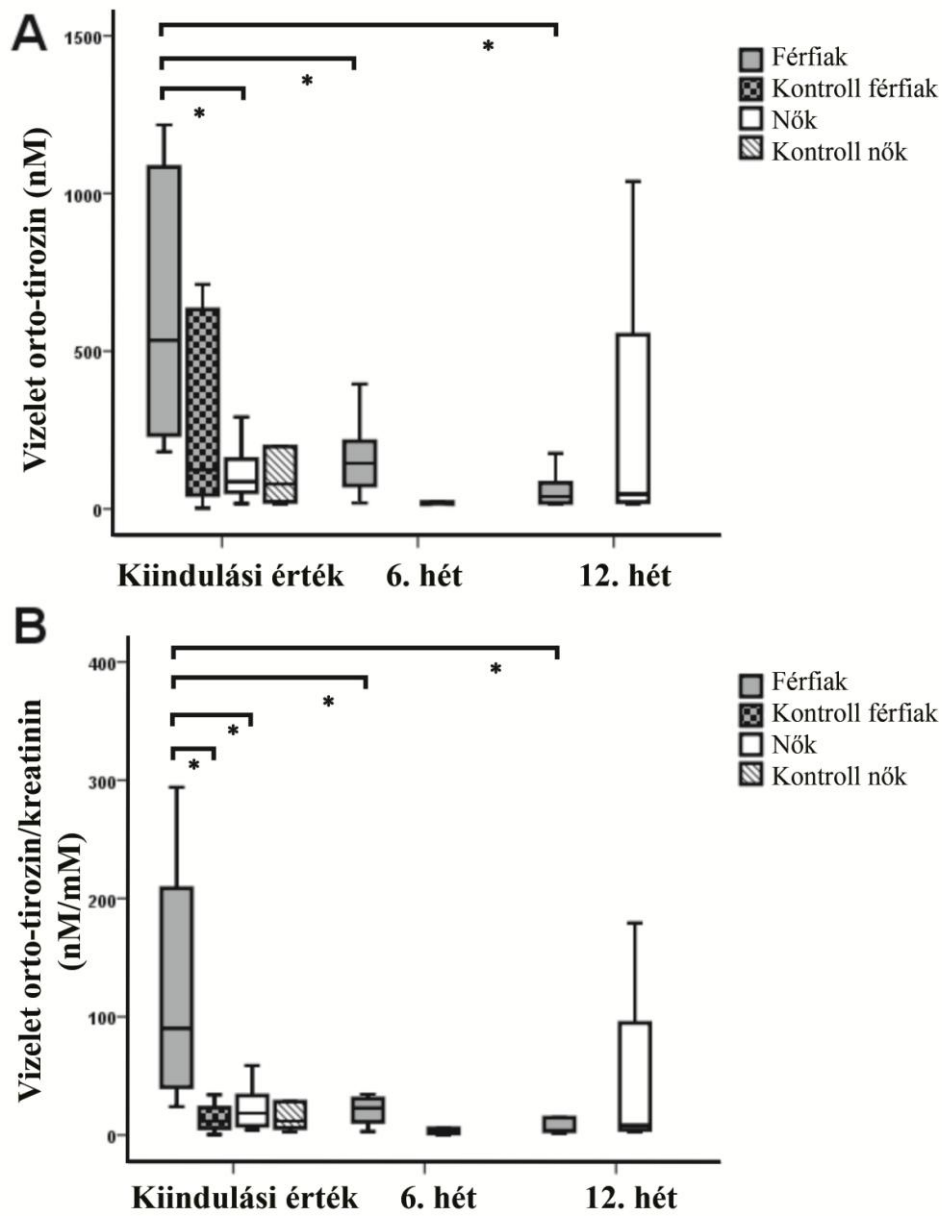
6.2.2 A rezveratrol hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítésre. Nemi különbségek.

Kiinduláskor a kontroll csoporton belül a férfiak és nők között nem volt különbség a vizelet orto-tirozin koncentráció és az orto-tirozin/kreatinin hányados tekintetében (7. ábra). A rezveratrol csoportban a férfiak esetében kiinduláskor magasabb vizelet orto-tirozin koncentráció látszott a nőkhöz képest ($p=0,018$), illetve orto-tirozin/kreatinin hányados tekintetében a férfi kontroll csoporthoz képest ($p=0,019$).

Ezzel szemben nők esetében az IgANP-s és kontroll csoport között nem volt különbség a vizelet orto-tirozin és orto-tirozin/kreatinin hányados tekintetében (7. ábra).

Hat hét múlva rezveratrol kezelés hatására a férfiak esetében a vizelet orto-tirozin koncentráció ($p=0,017$) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados ($p=0,008$) is csökkent a kiindulási értékhez képest. Nők esetében hasonló változást nem találtunk (7. ábra).

A tizenkettedik héten a férfiak esetében a vizelet orto-tirozin koncentráció ($p=0,001$) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados ($p=0,004$) továbbra is alacsonyabb volt a kiindulási értékhez képest. Nők esetében továbbra sem találtunk eltérést (7. ábra).



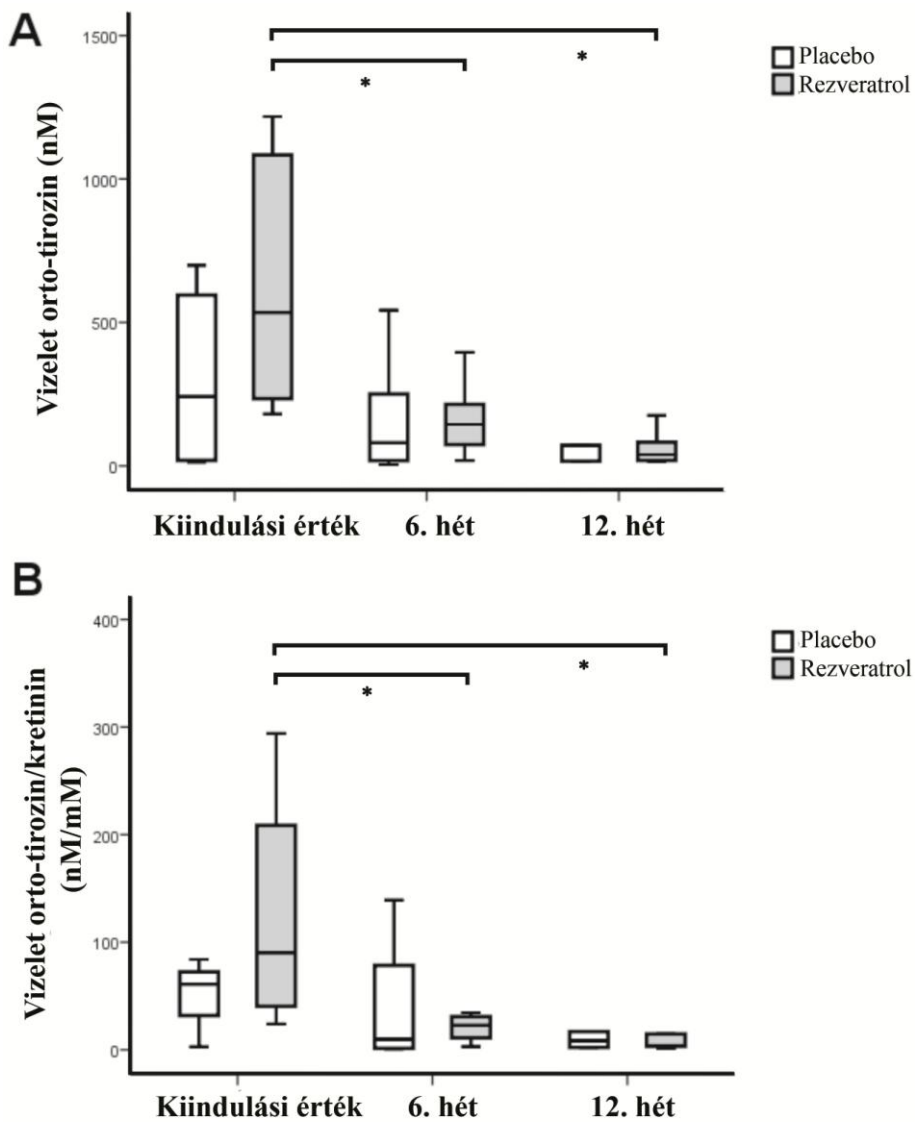
7. ábra. A rezveratrol hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítésre. A vizelet-orto-tirozin-koncentráció (A) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados (B) változása 6 és 12 hetes rezveratrol kezelés hatására IgANP-s férfiak és nők körében. * $p < 0,05$.

6.2.3 A rezveratrol hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítésre férfiakban

Kiinduláskor, férfiak esetében, a vizelet-orto-tirozin-koncentráció és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados tekintetében nem volt különbség a rezveratrol és placebo csoport között (8. ábra).

A 6 hetes rezveratrol kezelés hatására a vizelet-orto-tirozin-koncentráció ($p=0,017$) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados is ($p=0,008$) csökkent a kiindulási értékhez képest. További hat hét elteltével, a 12. hétre rezveratrol hatására a vizelet orto-tirozin koncentráció ($p=0,001$) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados ($p=0,004$) továbbra is alacsonyabb értéket mutatott a kiindulási értékhez viszonyítva (8. ábra).

A placebo csoportban sem a vizelet-orto-tirozin-koncentráció, sem a vizelet-orto-tirozin/kreatinin hányados, sem a 6., sem a 12. hétre nem változott a kiindulási értékhez képest (8. ábra).



8. ábra. Rezveratrol kezelés hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítésre férfiak esetében.

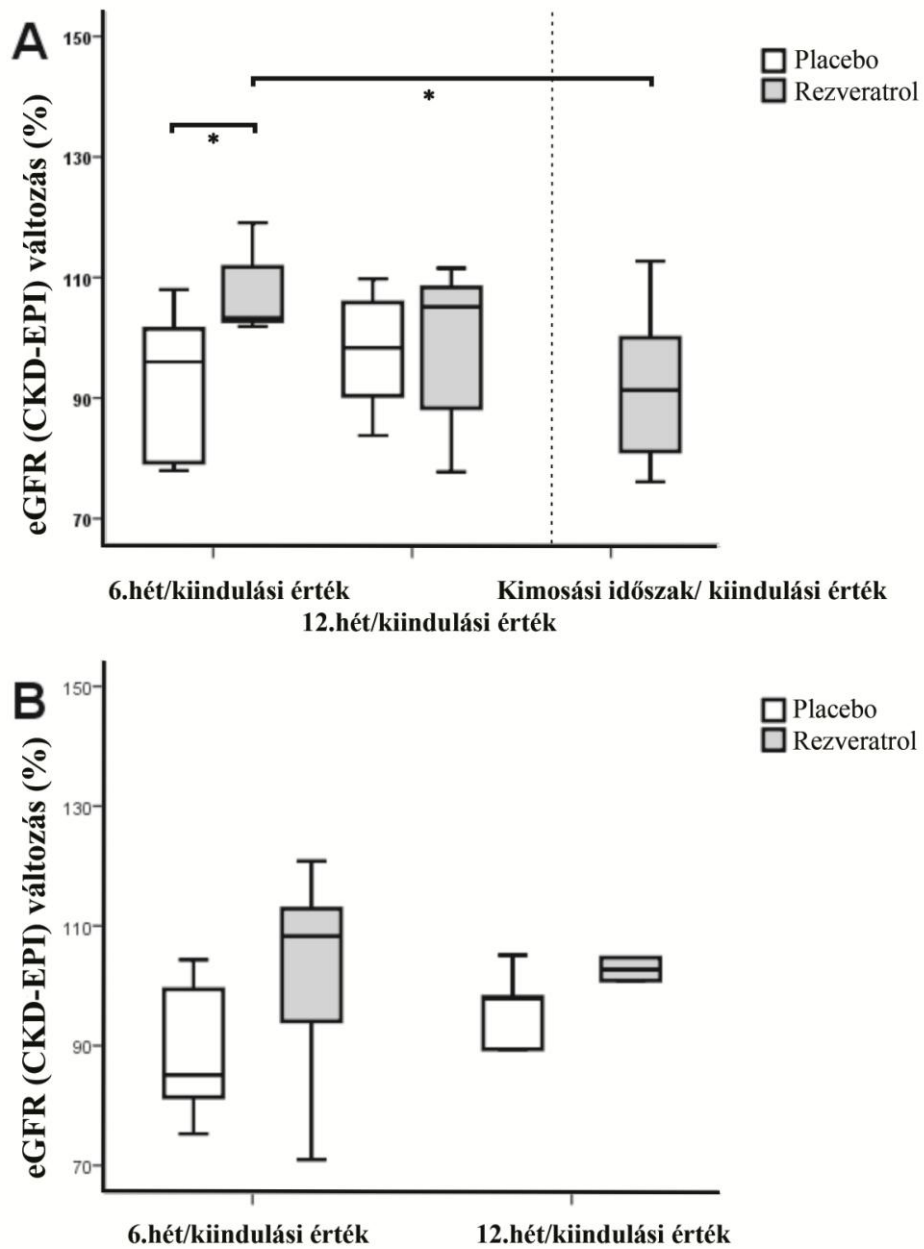
Vizelet-orto-tirozin-koncentráció (A) és vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados (B) változása 6 és 12 hetes rezveratrol kezelés hatására IgANP-s férfiak körében. * $p < 0,05$.

6.2.4 A rezveratrol hatása az eGFR-re

IgANP-s férfiak esetében, a hat hetes rezveratrol kezelést követően az eGFR a kiindulási értékhez képest növekedett a placebo csoporthoz képest ($p=0,026$) (9. ábra). A 12. hétre a kiindulási értékhez viszonyított változás hasonló volt a rezveratrol és a placebo csoportban ($p=NS$)(9A. ábra).

A vizsgálat befejezését követő, három hónapos kimosási periódus után a rezveratrolt szedő IgANP-s férfiak kiindulási értékhez viszonyított eGFR értéke csökkent a hatodik heti változáshoz képest ($p=0,028$) (9A. ábra), azaz visszatért a kiindulási értékre

Nők esetében sem a 6., sem a 12. hétre nem változott az eGFR érték a kiindulási értékhez képest a rezveratrol és placebo csoport viszonylatában (9B. ábra).



9. ábra. A rezveratrol kezelés hatása a kalkulált glomeruláris filtrációs rátára (eGFR). A vesefunkció (eGFR; CKD-EPI kalkuláció) kiindulási értékhez viszonyított változása IgANP-s férfiak (A) és nők (B) körében, rezveratrol és placebo csoportban. (* $p < 0,05$).

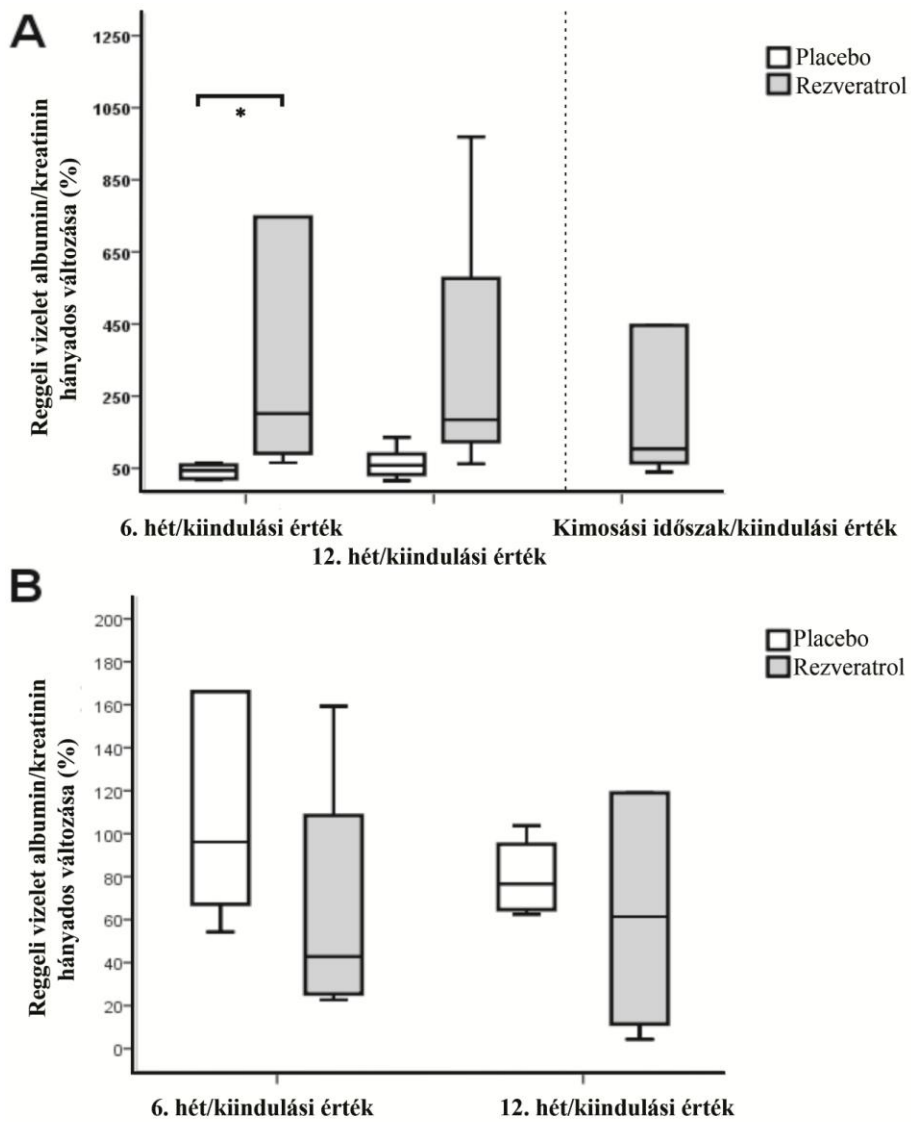
6.2.5 Rezveratrol hatása az albuminúriára.

IgANP-s férfiak esetében, a hat hetes rezveratrol-kezelést követően az albuminúria a kiindulási értékhez képest növekedett a placebo csoporthoz képest, ahogy az a reggeli első vizeletben vizsgált albumin/kreatinin arány növekedésén látszik ($p=0,006$) (10A. ábra). Hasonló növekedés volt kimutatható a kiindulási értékhez viszonyított vizeletalbumin-koncentráció változás tekintetében is (452,2(1783)% vs. 16,7(59)%, $p=0,018$).

A kiindulási értékhez képest bekövetkező változás a 12. hétre nem különbözött a rezveratrol és a placebo csoportban ($p=NS$)(10A ábra). Az albumin koncentráció változás tekintetében azonban rezveratrol kezelés hatására továbbra is megfigyelhető volt a növekedés a kiindulási értékhez képest (698.9(1364)% vs. 44.4(75.4)%, $p=0.011$).

A vizsgálat befejezését követő, három hónapos kimosási periódus után a rezveratrolt szedő IgANP-s férfiak albuminúria-fokozódása is reverzibilisnek mutatkozott, a kiindulási értékhez viszonyított vizelet-albumin/kreatinin változása csökkent, a placebo csoport hatodik heti változásához képest már nem látszott különbség ($p=NS$)(10A. ábra).

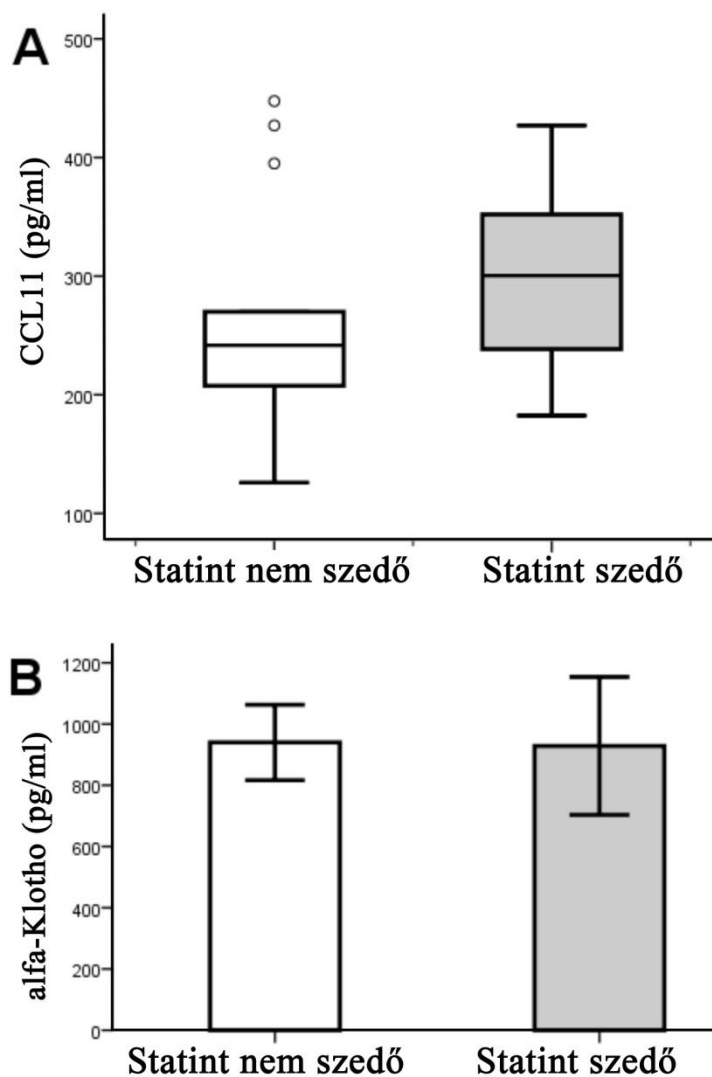
Rezveratrol-kezelés hatására nők esetében a hatodik hétre sem az albumin-koncentráció (40.0(108)% vs. 114.3(119) %, $p=NS$), sem az albumin/kreatinin hányados nem változott a placebo csoporthoz képest (10B. ábra) Hasonlóképpen nem volt változás a 12. hétre sem. Nem változott sem a vizeletalbumin-koncentráció (33.5(96)% vs. 107.1(184) %, $p=NS$) sem az albumin/kreatinin hányados (10B ábra) rezveratrol kezelés hatására.



10. ábra. A rezveratrol kezelés hatása az albuminúriára. A vizelet-albumin/kreatinin arány kiindulási értékhez történt változása IgANP-s férfiak (A) és nők (B) körében, rezveratrol és placebo csoportban. (* $p < 0,05$).

6.2.6 A statin-kezelés hatása a CCL11-re és az alfa klotho-ra

Mivel mind a placebo (n=4), mind a rezveratrol (n=6) csoportban voltak rendszeres statin szedő betegek, így megvizsgáltuk ezen terápia hatását a CCL11-re és alfa-klotho-ra. A vizsgálat elején sem a CCL11 sem az alfa-klotho tekintetében nem volt különbség a statin szedő és nem szedő betegek között (11. ábra).

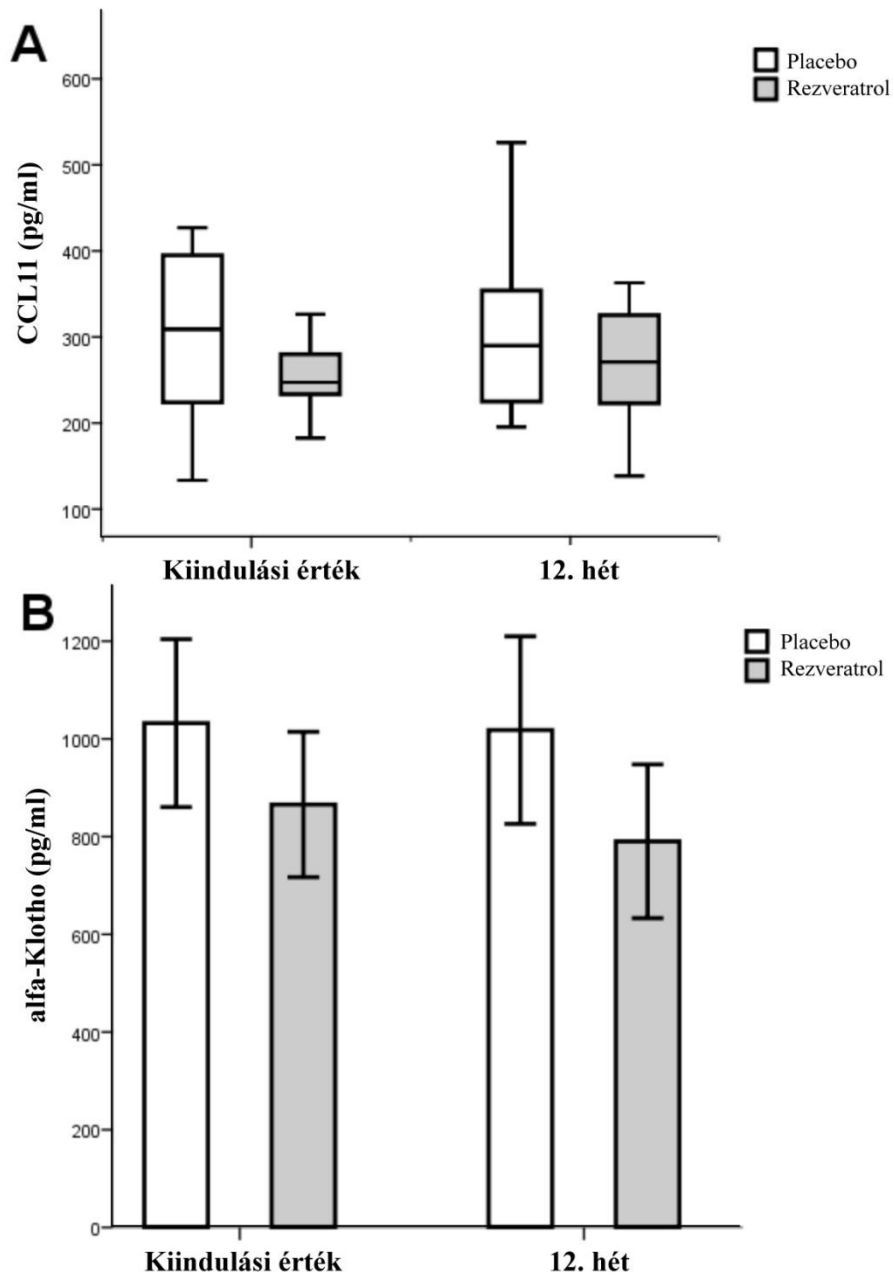


11. ábra. Rendszeres statin szedés hatása a CCL11 és az alfa-klotho szintekre. A statint szedő és statint nem szedő betegek (mindkét nem) kiindulási CCL11(A) és az alfa-klotho(B) szintjei. $p=NS$.

6.2.7 A rezveratrol-kezelés hatása a CCL11-re és az alfa-klotho-ra

A rezveratrol-kezelést követően a kiindulási értékhez képest a 12. hétre a CCL11 szint nem változott (12A ábra). Ezen belül nemi különbségek sem látszóttak, sem a férfiak (247,25(33,13) pg/ml vs. 247,75(122) pg/ml, p=NS), sem a nők (277,75(155,5) pg/ml vs. 325,5(206) pg/ml, p=NS) esetében nem volt változás.

A kiindulási értékhez képest a 12. hétre az alfa-klotho-szint szintén nem változott (12B ábra). Nemi különbségek szintén nem voltak kimutathatóak. Sem a férfiak (872,5±181,08 pg/ml vs. 776,25±288,56 pg/ml, p=NS), sem a nők (856,67±393,94 pg/ml vs. 809,17±328,56 pg/ml) esetében nem változott az alfa-klotho-szint rezveratrol kezelés hatására.



12. ábra. A CCL11(A)- és alfa-klotho(B)-szint változása a rezveratrol és a placebo csoportban (mindkét nemben). $p = NS$.

6.2.8 A rezveratrol-kezelés hatása a vizelet-orto-tirozin-ürítés és CCL11 kapcsolatára.

Korrelációs vizsgálat során a férfiak esetében rezveratrol kezelés hatására a 12. hétre a CCL11 és vizelet-orto-tirozin-ürítés ($r=0,829$, $p=0,042$) és a CCL11 és vizelet-orto-tirozin/kreatinin hányados ($r=0,829$, $p=0,042$) között összefüggést találtunk. Sem a placebo csoportban, sem nők esetében a rezveratrol-kezelés hatására nem látszott kapcsolat a két paraméter között.

7. Megbeszélés

7.1 A rezveratrol hatása 2-es típusú cukorbetegekben

Első vizsgálatunkban a transz-rezveratrol hatását elemeztük T2DM-es betegekben. Napi 2x5 mg orálisan bevitt rezveratrol javította az inzulin rezisztenciát, csökkentette a vércukor értékeket, valamint a teszt étkezést követő maximális vércukor értékig eltelt időt is növelte. Nem befolyásolta a GLP-1, GIP és az amilin szintet.

Ezen túlmenően csökkentette az oxidatív stresszt, valamint fokozta az Akt aktiváló foszforilációját is. A β -sejt funkcióra (HOMA β) nem volt hatással.

7.1.1 Rezveratrol antioxidáns hatása

Ismert, hogy az oxidatív stressznek fontos szerepe van az inzulin-rezisztencia kialakításában (93). Rezveratrol *in vitro* hatékony oxigén szabadgyökfogó (94), illetve *in vivo* is csökkenti az oxigén szabadgyöktermelést az antioxidáns enzimek szintjének/aktivitásának emelésével (95).

Eredményeink arra utalnak, hogy a rezveratrol-kezelés cukorbetegekben valóban hatékonyan csökkenti az oxidatív stresszt, ahogy azt korábban kimutatták többek között humán leukémia K562 sejtvonalon (48), illetve streptozotocinnal diabéteszessé tett patkányokban is (80).

Egy másik kísérletben a diabéteszes patkányokban a rezveratrol szintén javította a glikált hemoglobin szintet, csökkentette az oxidatív stresszt, növelve a redukált glutation, és az antioxidáns enzimek szintjét (szuperoxid-dizmutáz, kataláz, glutation-peroxidáz) (96).

Az oxidatív stressz csökkentésében a direkt antioxidáns hatás mellett az indirekt hatás is fontos szerepet játszhat.

Rezveratrol az antioxidáns enzimek aktivációjában fontos szerepet játszó Nrf2 aktivitását fokozza (50). MAPK-n keresztül kifejtett aktivációja mellett (18) egyéb aktivációs útvonal is szóba jön. Metilglioxállal – a glükóz metabolizmusa során keletkező reaktív dikarbonil metabolittal – kezelt HepG2 sejtvonalon rezveratrol-kezelés hatására fokozódott az Nrf2 aktiváció, fokozódott a glioxaláz

és hemoxigenáz-1 szint. Ebben a kísérletben a extracelluláris-receptor kináz (ERK) aktivációját igazolták rezveratrol-kezelés hatására, aminek szerepe lehetett az Nrf2 aktivációban is. Ezen túlmenően fokozódott a sejtek glükózfelvétele, csökkent az inzulinrezisztencia. Ezen vizsgálat során a JNK-út vonal aktivációját nem tudták kimutatni (17).

Rezveratrol-kezelés T2DM-es egerek szívmájában növelte az eNOS expressziót, csökkentette a NAD(P)H-oxidáz aktivitását, valamint a pro-oxidáns hatású iNOS-aktivációt. Csökkentette a TNF- α mRNS szintézisét, valamint az NF κ B aktivációját. Az adatok alapján a rezveratrol-kezelésnek a TNF- α -függő NF κ B aktiváció gátlásán keresztül is szerepe van az oxidatív stressz irányába mutató NAD(P)H-oxidáz és iNOS gátlásában, valamint az endotél diszfunkciót, prekapilláris nutritív artériolák megnyitását fokozó eNOS-expresszió növelésében is(97).

Figyelembe véve az alkalmazott rezveratrol dózist, úgy tűnik, hogy vizsgálatunkban az antioxidáns hatás hátterében nem elsősorban a direkt szabadgyök kötés, hanem az indirekt antioxidáns hatás, azaz az antioxidáns enzimek szintjének/aktivitásának emelése játszott szerepet (2. ábra).

Az érfal orto-tirozin szintje fordított arányban áll az erek inzulinra és acetilkolinra adott vazodilatációs válaszával, ami az oxidatív stressz fokozódásával romlik, ugyanakkor antioxidáns hatásra javul (98). Patkány kísérletek során az orto-tirozin, beépülve a sejtfehérjékbe, többek között az eNOS inzulin okozta foszforilációját gátolva szerepet játszhat a csökkent vazorelaxációban (98).

Ezek alapján az orto-tirozin nem csak oxidatív stressz marker, hanem a sejtfehérjékbe épülve szerepe lehet egyes hormonok jelátviteli útjainak kóros módosításában is (EPO, inzulin, acetilkolin rezisztencia kialakulása) (98).

A rezveratrolnak tehát az orto-tirozin szintjének csökkentésével ezen hormon rezisztenciák, így az inzulinrezisztencia csökkentésében is szerepe lehet (ld. még 7.1.2 fejezet).

7.1.2 A rezveratrol lehetséges hatása az inzulin jelátviteli újtára és az inzulinrezisztenciára

Az inzulin jelátvitelének egyik fontos lépése az Akt aktiváló foszforilációja (99). Az inzulinrezisztencia kialakulásában, a jelátviteli utak gátlásában az oxidatív stressz is fontos szerepet játszik (8, 93, 100).

Diabéteszes patkányokban rezveratrol kezelés hatására csökkenő vércukorértékeket láttak, miközben javult az inzulin jelátvitelének egyik fontos eleme, az Akt foszforilációja. Ezen túlmenően erőteljesebbé vált az inzulinrezisztencia csökkentése szempontjából is előnyös eNOS aktiváló foszforilációja, fokozódott az antioxidáns tioredoxin, hemoxigenáz-1 aktivációja is (52).

Jelen vizsgálatunk alapján úgy tűnik, hogy a rezveratrol-kezelés hatására a cukorbetegben az oxidatív stressz mérséklésével párhuzamosan az inzulinrezisztencia is csökkent, ahogy azt számos korábban említett *in vitro* és *in vivo kísérlet* is megerősítette (18, 47, 52).

Eredményeink alapján felmerül, hogy a rezveratrol-kezelés következtében javuló inzulinrezisztencia hátterében a rezveratrol okozta Akt jelátviteli útvonalának aktivációja állhat.

Ezen vizsgálatok mellett *in vitro* (endotél sejt, aorta simaizom sejt, egér aorta) kísérletek során kimutatták, hogy a rezveratrol az inzulin jelátviteli útjában is fontos szerepet játszó PI3K/Akt aktiváción keresztül, az eNOS aktiváló foszforilációjának növelésében, illetve az eNOS gén expressziójában is szerepet játszik (18, 33).

Rezveratrol-kezelés hatására diabéteszes patkányokban végzett kísérletben igazolták az inzulin jelátviteli út egyik fontos eleme, a GLUT4 transzporter növekvő expresszióját, aminek szintén szerepe lehet az inzulinrezisztencia csökkentésében (47).

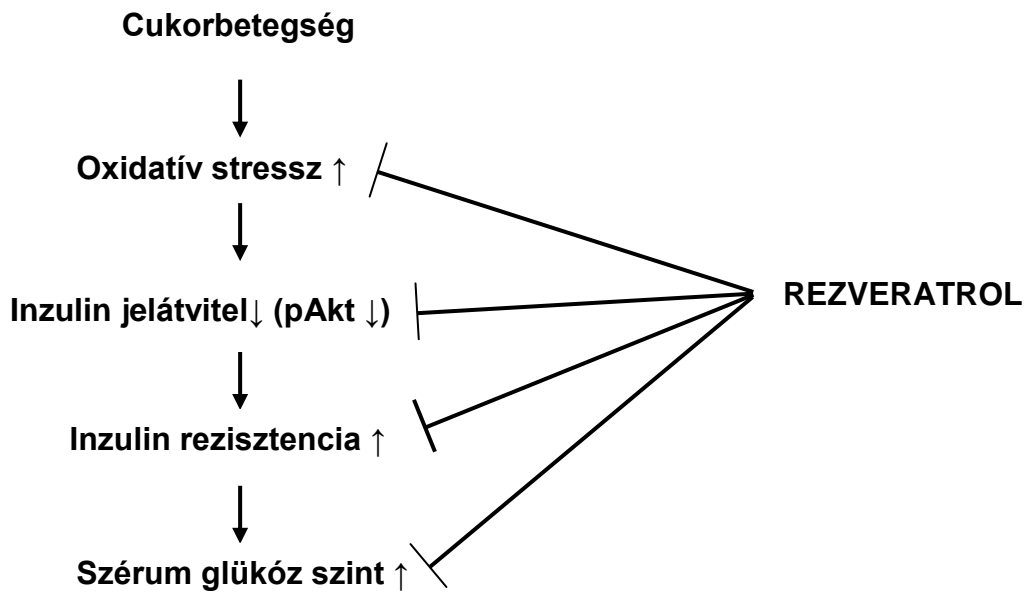
A rezveratrol az inzulinrezisztencia szempontjából kedvezőtlen gyulladással citokinek szintjét/aktivációját csökkenti, ahogy azt a korábban említett *in vitro* kísérletek igazolták (57, 58). Ezen vizsgálatokat megerősítette, hogy diabéteszes patkányokban a javuló glükózcserével mellett a gyulladással citokinek (TNF- α , IL-1 β , IL-6, NF κ B p65 alegység) szintje is csökkent

rezveratrol kezelés hatására (47). Humán adipocitákban a linolén sav okozta inzulinrezisztencia modellben rezveratrol-kezelés - szuprimálva a gyulladós prosztaglandin útvonalat- nem csak a gyulladós citokinek szintjét csökkentette, hanem növelte a peroxiszómaproliferátor-aktivált receptor- γ (PPAR- γ) aktivitását is, emelve az inzulin kiváltotta glükózfelvételt (47). Diabéteszes egerekben rezveratrol gátolta a TNF- α -t, valamint az általa indukált oxidatív stressz irányába mutató NAD(P)H-oxidáz aktivációt. Ezzel párhuzamosan emelkedett az eNOS aktiváló szerin foszforilációja is (25).

Rezveratrol kezelés hatására szarvasmarha aorta endotél sejtekben növekedett az Akt, eNOS, ERK aktiváló foszforiláció. A rezveratrol kezelés ezen kívül a rendszerhez hozzáadott TNF- α okozta NADP(H)-oxidáz aktivációt is gátolta (101). Patkányokban alkalmazott intraperitoneális rezveratrol kezelés növelte az izom mikrovaszkuláris véráramlását, aminek hátterében úgy tűnik, hogy eNOS-aktiváció állt. Ezt a hatást megelőző TNF- α infúzióval gátolni tudták (101).

A fentiekén túlmenően a rezveratrol-kezelésnek a SirT1 - PGC-1 α – AMPK útvonalon keresztül is szerepe lehet az inzulinrezisztencia csökkentésében (oxidatív stressz csökkentése, eNOS aktiváció), ahogy azt az előzőekben már említettük (39, 40, 49, 51, 58).

Bár eredményeink alapján egyértelmű ok-okozati kapcsolatot nem tudunk kimutatni az oxidatív stressz és az Akt jelátviteli mechanizmusainak károsodása között, de úgy tűnik ezek a kapcsolatok jelen vannak (13. ábra).



13. ábra. A rezveratrol lehetséges hatása a sejten belüli jelátvitelre és az anyagcserére.

7.1.3 A rezveratrol szerepe a cukorbetegség kezelésében: humán adatok

A rezveratrol inzulinrezisztencia-csökkentő, szénhidrát anyagcserét kedvezően befolyásoló hatását eredményeinkkel összhangban, további humán vizsgálatok is megerősítették.

Kettősvak, placebo kontrollált, keresztezett vizsgálat során obese emberekben rezveratrol-kezelés hatására az inzulinrezisztencia csökkenését valamint a szisztolés vérnyomás csökkenést figyelték meg. Izombiopszia során nyert mintákban többek között az AMPK aktivációját, a Sirt1 és PGC-1 α szintjének emelkedését, fokozott citrát szintáz aktivitást és fokozott mitokondriális aktivitást tudtak kimutatni (41).

Más munkacsoportok T2DM-ben is igazolták a rezveratrol kedvező anyagcsere hatásait (9, 102).

Megtartott orális antidiabetikus kezelés mellé adott rezveratrol szignifikánsan csökkentette T2DM-es betegek HbA_{1C} értékét, szisztolés vérnyomását, összkoleszterin-szintjét (103).

Szintén T2DM-es betegeknek adott rezveratrol az előző eredmények mellett mérsékelt HDL-koleszterinszint-emelkedést is okozott (104).

A rezveratrol kedvező hatását többek között a fenti vizsgálatok adatait is felhasználó metaanalízis (6 vizsgálat; 196 T2DM-es beteg) is megerősítette (10). A vizsgálatok összesítése után statisztikailag is értékelhető javulás a HbA_{1C} és a szisztolés vérnyomás tekintetében volt, ezen túlmenően a kreatinin érték csökkenését is megfigyelték (10).

Egy másik, 11 vizsgálat (388 T2DM-es beteg) adatait feldolgozó metaanalízis az éhgyomri vércukor, a glikált hemoglobin, az inzulinrezisztencia javulását találta rezveratrol kezelés hatására (105).

7.1.4 A rezveratrol lehetséges kedvező vaszkuláris hatása

Cukorbetegségben csökken az erek acetilkolin iránti érzékenysége illetve az acetilkolinra adott relaxációs válasz (106). Állatkísérletek során cukorbeteg patkányokban igazolták a rezveratrol-kezelés szénhidrát-anyagcserét kedvezően befolyásoló, az oxidatív stresszt csökkentő, valamint a fenti, károsodott vaszkuláris választ javító hatását (95). A rezveratrol több humán vizsgálat adata alapján T2DM-es betegekben a szénhidrát-anyagcsere javítása mellett a szisztolés vérnyomást is csökkentette (10). Ismert az inzulinérzékenység (pl.: ISI_{Stumvoll}) és a hipertonia közti fordított kapcsolat (107).

Eredményeink azt mutatják, hogy rezveratrol kezelés hatására a szisztolés hiperbáriás impakt és az ISI_{Stumvoll} valamint a MCR_{Stumvoll} közti kezdeti negatív kapcsolat megszűnt, ami arra utalhat, hogy a cukorbetegéknél alkalmazott rezveratrol-kezelésnek a szénhidrátháztartás javításán keresztül lehetnek kedvező vaszkuláris hatásai is.

7.2. A rezveratrol szerepe IgANP-ben

Második vizsgálatunkban a rezveratrol lehetséges hatásait vizsgáltuk IgANP-s betegekben. A korábbi vizsgálatunkban is alkalmazott napi 2x5 mg orálisan bevitt transz-rezveratrol csökkentette az oxidatív stresszt, eGFR növekedését és a proteinúria növekedését okozta IgANP-s férfiakban, nők esetén nem voltak kimutathatóak ezek az eltérések.

Ezen túlmenően, férfiak esetében, a rezveratrol kezelés hatására az oxidatív stressz szintjét mutató vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados és CCL11 között pozitív korreláció volt kimutatható, nők esetében hasonló összefüggést nem találtunk.

7.2.1 A rezveratrol hatása az oxidatív stresszre. Nemi különbségek.

Krónikus veseelégtelenségben az oxidatív stressz kialakulásáért a reaktív oxigén termékek fokozott termelése/csökkent ürítése valamint a csökkent antioxidáns kapacitás felelős (19, 62).

A fokozott termelésért többek között a NAD(P)H-oxidáz, a ciklooxygenáz-2, a lipoxigenáz, a szétkapcsolt nitrogén-monoxid-szintáz (kevesebb nitrogén monoxid termelése mellett fokozott szuperoxid gyök képzés (63), a mitokondriális diszfunkció, valamint az endoplazmatikus retikulum stressz felelős (64, 65, 66).

Ezek a folyamatok, többek között, a fokozott angiotenzin II termelés eredményeként létrejövő intrarenális angiotenzin rendszer aktivációjának következtében alakulhatnak ki (108). Az angiotenzin II 1-es receptorának aktivációja következtében a NAD(P)H-oxidáz növekvő működése a vesében és az erekben fokozott szuperoxid-termelést eredményez, ahogy azt több CKD kísérleti modellben is igazolták (109).

Patkányokban, a parciális nefrektómia eredményeként kialakult CKD-ban szintén a fokozott oxidatív stresszt, a reaktív oxigén termékek emelkedett szintjét, fokozott, NFκB aktivitást és az immunsejtek aktivációját találták a vesében (62).

A CKD-ra jellemző a vesében kimutatható fokozott NFκB-aktivitás és a gyulladáshoz vezető sejtek akkumulációja (62). Az NFκB-aktiváláson keresztül egy olyan inflammáció-oxidatív stressz kör indul el, ami további gyulladáshoz vezető citokinek illetve adhéziós molekulák transzkripcióját eredményezve a fenti kórfolyamatokat okozza az oxidatív stressz fenntartása mellett (67).

CKD-ban az oxidatív stressz az endogén antioxidáns rendszer károsodásának eredményeként is fokozódhat (62). Ebben részben a sirtuinok (pl.: SIRT-1; 2.2.3 fejezet) gyulladáshoz vezető folyamatokon keresztüli gátlásának (68) is szerepe lehet.

Ezen túlmenően az Nrf2 (2.3.2 fejezet) is fontos szerepet tölt be a redox egyensúly fenntartásában. Az Nrf2 aktivitásának csökkenésével párhuzamosan az általa szabályozott antioxidáns enzimeknek, a glutation szintézis enzimeinek, valamint a NAD(P)H:quinone oxireduktáz-1-nek szintje is csökken (67). Az Nrf2 aktiváció károsodása az állatkísérletes adatok alapján NFκB-aktivációt, fokozott oxidatív stresszt, gyulladáshoz vezető folyamatokat, progresszív glomeruloszklerózist, tubulo-intersticiális fibrózist, az intra-renális angiotenzin rendszer aktivációját, maladaptív endoplazmatikus retikulum stresszválaszt, illetve apoptózist eredményezett (62).

Az oxidatív stressz mértéke az IgANP kórfolyamataiban, a betegség hosszú távú kimenetelében is fontos szerepet játszik (25, 26, 78).

Az oxidációs/antioxidációs egyensúly eltolódását (emelkedett lipoperoxid, malondialdehid szintet és csökkent szuperoxid dizmutáz, kataláz, glutation peroxidáz aktivitást) találták IgANP betegek szérumában és vörös vértestjeiben is (7, 110).

Ezen túlmenően IgANP-ban, az oxidatív stressz mértékével egyenes arányban emelkedő, az előrehaladott oxidációs fehérje termékek (AOPP) szintjének korrelációját találták a proteinúriával és a betegség progressziójával összefüggésben (25). Az AOPP szint független korai prediktornak bizonyult a vesebetegség kimenetelét illetően (25).

Vizsgálatunkban férfiak esetében már kiinduláskor fokozottabb oxidatív stressz látszott, ami összhangban áll korábbi, hasonló betegpopuláción (IgANP-s betegek átlagos eGFR > 60 ml/min/1,73 m²) végzett vizsgálatunk utólagos analizisével (7). Ebben a vizsgálatunkban az oxidatív stressz okozta protein károsodásra utaló fluoreszcenciát tanulmányoztuk (111, 112) és azt találtuk,

hogy férfiak esetén ez az érték magasabb volt, mint nőkben ($2426,3 \pm 955,5$ önkényes egység vs. $1944,3 \pm 624,6$ önkényes egység, $p=0,014$).

Ezen adatok és a jelen tanulmányunk orto-tirozinnal kapcsolatos eredményei az IgANP-s férfiak fokozott oxidatív stressz állapotát mutatják, ami parallel az adatokkal, amelyek szerint az IgANP-s férfiak prognózisa rosszabb, a nőkhöz képest (6, 25, 26, 27).

Állatkísérletek adatai alapján a rezveratrol, többek között, az oxidatív stressz (35, 36) gátlásán keresztül, kedvezően befolyásolhatja a CKD-val összefüggő kóros folyamatokat (67). Eredményeink – összhangban az irodalmi adatokkal – arra utalnak hogy a rezveratrol-kezelés az IgANP-s férfiakban észlelt magasabb orto-tirozin/kreatinin hányadossal jellemzett oxidatív stressz szintjét csökkentheti. Az orto-tirozin/kreatinin hányados és CCL11 között pozitív korreláció pedig a gyulladásos folyamatok és az oxidatív stressz parallel voltára utalhat.

7.2.2 A rezveratrol lehetséges hatása a maradék nefronok hiperfiltrációjára

Állatkísérletek során igazolták, hogy az antioxidáns rezveratrol endotélium-dependens renális vazodilatációt okoz (113, 114). Ennek eredményeként fokozódik a vese vérátáramlása, ami a maradék nefronok hiperfiltrációjának fokozásán keresztül szerepet játszhat a GFR növekedésében is, amire adataink is utalnak. Rezveratrol kezelés hatására az oxidatív stressz csökkenésével párhuzamosan az eGFR növekedését észleltünk a férfiak esetében.

7.2.3 A rezveratrol lehetséges hatása a proteinúriára

Az 52 hetes BEAM vizsgálat adatai szerint hasonló GFR-növekedés látszott a CKD-betegeknek adott egy másik antioxidáns és Nrf2 aktivátor, a bardoxolon-metil terápia alkalmazását követően is (115). A bardoxolon-metil terápiát követő albuminúria fokozódáshoz (115) hasonló jelenség volt kimutatható rezveratrol mellett IgANP-s férfi betegeinknél .

A súlyosan beszűkült vesefunkciójú CKD-betegek körében végzett BEACON vizsgálatban is a bardoxolon-metil növelte a proteinúriát (116, 117).

Veseelégtelenség esetén a maradék nefron hiperfiltráció fokozása hosszú távon a vesefunkció romlását és proteinúria növekedését okozhatja (118, 119).

Eredményeink alapján a bardoxolon-metilhez hasonlóan, a rezveratrol adása sem javasolt krónikus vesebetegeknek, már CKD2 stádiumban sem.

8. Tézisek

1. A rezveratrol kezelés csökkenti a vizelet-orto-tirozin-ürítést T2DM-es betegekben, ami az oxidatív stressz csökkenésének a jele.
2. A T2DM-es betegekben a rezveratrol, az inzulin jelátvitelének egyik fontos elemének, az Akt-nek foszforilációját növelte, ami szerepet játszhat az inzulinrezisztencia ($HOMA_{IR}$) csökkentésében is.
3. A rezveratrol kezelés T2DM-es betegekben nem befolyásolta az inkretin szinteket.
4. IgANP-s férfiakban, az IgANP-s nőkhöz képest fokozott vizelet-orto-tirozin-ürítés észlelhető, ami fokozott oxidatív stresszre utal.
5. IgANP-s betegekben a rezveratrol-kezelés hatásában nemi különbségek látszanak. Férfiakban a rezveratrol-kezelés csökkenti a vizelet-orto-tirozin-ürítést, ami az oxidatív stressz csökkenésének a jele.
6. IgANP-s férfiakban a rezveratrol-kezelés reverzibilisen növeli az eGFR-t és növeli az albuminúriát. Nőkben hasonló hatás nem látszik.

9. Közlemények jegyzéke

A dolgozat alapjául szolgáló eredeti közlemények

1. **P Brasnyó**, G A Molnár, M Mohás, L Markó, B Laczy, J Cseh, E Mikolás, I A Szijártó, Á Mérei, R Halmai, L G Mészáros, B Sümegi, I Wittmann. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. Br J Nutr. 2011 Aug;106(3):383-9.

Impakt faktor: 3.013

Független citáció: 258

Összes citáció: 264

2. **Brasnyó P**, Molnár G A, Mohás M, Markó L, Laczy B, Cseh J, Mikolás E , Szijártó I A , Halmai R , Mészáros G L, Sümegi B, Winkler G, Wittmann I. REZVERATROL HATÁSA 2-ES TÍPUSÚ DIABETESSES BETEGEK ANYAGCSERÉJÉRE. Magy. Belorv. Arch. 2012; 65: 75–81.
3. **Pál Brasnyó**, Tibor Kovács, Gergő A. Molnár, Eszter Sélley, Szilárd Kun, Tibor Vas, Boglárka Laczy, Katalin Fekete, Krisztina Kovács, László G. Mészáros, Gábor Winkler, Balázs Sümegi and István Wittmann. Resveratrol causes gender-dependent and bardoxolone methyl-like effects in patients with IgA nephropathy. Pilot study. J Nutr Food Sci 2016, 6: 442.

Dolgozat alapjául szolgáló könyvfejezet :

1. **P Brasnyó**, B Sümegi, G Winkler, I Wittmann: Resveratrol and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. Diabetes : Oxidative Stress and Dietary Antioxidants, edited by: Victor Preedy, Academic Press, 01/2014 : pages 99-109 (2013); ISBN: 978-0-12-405885-9

A dolgozat alapjául szolgáló idézhető absztraktok

1. **Brasnyó P.**, Laczy B., Tamaskó M., Molnár G.A., Wagner Z., Gallyas F., Wittmann I., Sümegi B.: A rezveratrol hatásainak elővizsgálata 2-es típusú diabetes mellitusos betegekben. *Diabetologia Hungarica* 14(S2):27-28. (2006)
2. **Brasnyó P.**, Laczy B., Tamaskó M., Molnár G.A., Wagner Z., Gallyas F., Nagy J., Wittmann I., Sümegi B.: A rezveratrol in vivo hatásai 2-es típusú diabetes mellitusos betegekben. *Magyar Belorvosi Archivum Supplementum* 59. (S2):46-47. (2006)
3. Cseh J, **Brasnyó P**, Mohás M , Laczy B , Tamaskó M, Molnár G A , Wagner Z, Sümegi B, Wittmann I: Transz-rezveratrol in vivo hatásainak vizsgálata 2-es típusú diabetes mellitusos betegekben. Előzetes eredmények. FOLIA HEPATOLOGICA (ISSN: 1419-1156) 11: (S3) pp. 12-13. (2007)
4. **Brasnyó P**, Molnár G A, Mérei Á, Cseh J, Mikolás E, Halmai R, Mészáros G L, Sümegi B, Wittmann I: Rezveratrol hatása 2-es típusú diabeteses betegekben. Új eredményeink. DIABETOLOGIA HUNGARICA (ISSN: 1217-372X) 18: (S1) pp. 63-64. (2010)
5. **P Brasnyó**, G A Molnár, M Mohás, L Markó, B Laczy, J Cseh, E Mikolás, I A Szijártó, Á Mérei, R Halmai, L G Mészáros, B Sümegi, I Wittmann.: Effect of resveratrol on insulin sensitivity, oxidative stress and Akt pathway in humans. *Diabetologia* (2010) 53: (Suppl1) S1-S556.
6. Kovács T, **Brasnyó P.**, Molnár G A , Sélley E, Kun Sz, Vas T, Laczy B, Fekete K, Kovács K, Mészáros G L, Winkler G, Sümegi B, Wittmann I ; Rezveratrol hatásának vizsgálata IgA nephropathiában. (Pilot Vizsgálat) . *Hypertonia és Nephrologia* 2015:19(Suppl4);S1-S64.

Egyéb közlemények

1. Wittmann I., Molnár G A, Wagner L, Wagner Z, Tamaskó M., Laczy B, **Brasnyó P**, Halmai R, Markó L, Nagy J.: A metabolikus szindróma két koncepciójának összehasonlítása: WHO-kritériumok és ATP III-feltételrendszer *Diabetologia Hungarica* 13 (4): 263-272 (2005)
2. **Brasnyó P**, Wittmann I: A diabetes mellitus és a metabolikus szindróma kardiovaszkuláris szövődményeit vizsgáló klinikai tanulmányok tanulságai. Célértékek és kezelési stratégiák. *Granum* 2011; XIV (3) : 21-24.
3. I Wittmann, G A Molnár, P Degrell, Z Wagner, M Tamaskó, B Laczy, **P Brasnyó**, L Wagner, J Nagy: Prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2005 Jun;68 Suppl1:S36-42.

Impakt faktor: 1.236

Független citáció: 16

Összes citáció: 18

4. P Kísfali, M Mohás, A Maász, N Polgár, F Hadarits, L Markó, **P Brasnyó**, K Horvatovich, T Oroszlán, Z Bagosi, Z Bujtor, B Gasztonyi, J. Rinfel, I Wittmann, B Melegh: Haplotype analysis of the apolipoprotein A5 gene in patients with the metabolic syndrome, *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 2010 Sep;20(7):505-11.

Impakt faktor: 3.438

Független citáció: 16

Összes citáció: 24

5. Halmai R, Szijártó I A, Fehér E, Fésüs G, Molnár G A, **Brasnyó P**, Fülöp F, Gollasch M, Koller A, Wittmann I: Cigarette smoke elicits relaxation of renal arteries. Eur J Clin Invest. 2011 Feb;41(2):195-202.

Impakt faktor: 3.018

Független citáció: 6

Összes citáció: 11

Kumulatív Impakt faktor: 10,705

Összes citáció:317

Idézhető absztraktok

1. **Brasnyó P**, Csiky B, Fazekas A, Markó L, Wittmann I : Intenzív osztályon akut veseelégtelenség miatt dializált betegek túlélése, prognosztikai faktorok. *Hypertonia és Nephrologia 2007: (11) S2 : 13-88*
2. R. Halmai, I A Szijártó, P Degrell, Á Mérei, **P Brasnyó**, I Wittmann; Chronic cigarette smoking could contribute to diabetic nodular glomerulosclerosis. *Diabetologia (2010) 53: (Suppl1) S1-S556.*
3. **Brasnyó P**, Peidl Z, Vágner O, Molnár M; Csont és ásványi-anyagcsere zavar krónikusan dializált diabéteszes és nem diabéteszes betegeink körében. *Hypertonia és Nephrologia 2013: (17) S2 : S1-S72.*

4. **Brasnyó P**, Peidl Z, Molnár M; Nem tradicionális kardiovaszkuláris rizikófaktorok krónikusan dializált diabéteszes és nem diabéteszes betegeink körében. *Hypertonia és Nephrologia* 2015;19(Suppl4);S1-S64.

10. Irodalomjegyzék

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ : Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010 Jan;87(1):4-14.
2. International Diabetes Federation: *Diabetes Atlas, 7th Edition revision 2015*
3. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY: Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med.* 2004; 351(13):1296-305.
4. Alani H, Tamimi A, Tamimi N: Cardiovascular co-morbidity in chronic kidney disease: Current knowledge and future research needs. *World J Nephrol.* 2014 ;3(4):156-68.
5. Wyatt RJ, Julian BA: IgA nephropathy. *N Engl J Med.* 2013 ;368(25):2402-14.
6. Xie J, Kiryluk K, Wang W, Wang Z, Guo S, Shen P, Ren H, Pan X, Chen X, Zhang W, Li X, Shi H, Li Y, Gharavi AG, Chen N: Predicting progression of IgA nephropathy: new clinical progression risk score. *PLoS One.* 2012; 7(6):e38904.
7. Vas T, Wagner Z, Jenei V, Varga Z, Kovács T, Wittmann I, Schinzel R, Balla G, Balla J, Heidland A, Nagy J: Oxidative stress and non-enzymatic glycation in IgA nephropathy. *Clin Nephrol.* 2005; 64(5):343-51.
8. Keane KN, Cruzat VF, Carlessi R, de Bittencourt PI Jr, Newsholme P.: Molecular Events Linking Oxidative Stress and Inflammation to Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction. *Oxid Med Cell Longev.* 2015;2015:181643.

9. Szkudelski T, Szkudelska K: Resveratrol and diabetes: from animal to human studies. *Biochim Biophys Acta*. 2015 ;1852(6):1145-54.
10. Hausenblas HA, Schoulda JA, Smoliga JM: Resveratrol treatment as an adjunct to pharmacological management in type 2 diabetes mellitus--systematic review and meta-analysis. *Mol Nutr Food Res*. 2015 ;59(1):147-59.
11. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC: Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)*. 2012 ;17(4):311-21.
12. Kitada M, Koya D: Renal protective effects of resveratrol. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:568093.
13. Ceriello A, Motz E : Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; May;24(5):816-23.
14. Garcia-Bailo B, El-Sohemy A, Haddad PS, Arora P, Benzaied F, Karmali M, Badawi A: Vitamins D, C, and E in the prevention of type 2 diabetes mellitus: modulation of inflammation and oxidative stress. *Biologics*. 2011;5:7-19.
15. King GL, Loeken MR : Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochem Cell Biol*. 2004 Oct;122(4):333-8.
16. Folli F, Corradi D, Fanti P, Davalli A, Paez A, Giaccari A, Perego C, Muscogiuri G: The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus micro- and macrovascular complications: avenues for a mechanistic-based therapeutic approach. *Curr Diabetes Rev*. 2011; 7(5):313-24.
17. Cheng AS, Cheng YH, Chiou CH, Chang TL: Resveratrol upregulates nrf2 expression to attenuate methylglyoxal-induced insulin resistance in hep g2 cells. *J Agric Food Chem*. 2012; 60(36):9180-7.

18. Turan B, Tuncay E, Vassort G. Resveratrol and diabetic cardiac function: focus on recent in vitro and in vivo studies. *J Bioenerg Biomembr.* 2012; 44(2),281-96.
19. Molnár GA, Wagner Z, Markó L, Kőszegi T, Mohás M, Kocsis B, Matus Z, Wagner L, Tamaskó M, Mazák I, Laczy B, Nagy J, Wittmann I: Urinary ortho-tyrosine excretion in diabetes mellitus and renal failure: evidence for hydroxyl radical production. *Kidney Int.* 2005; 68(5),2281-7.
20. Mlinar B, Marc J, Janez A, Pfeifer M: Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases. *Clin Chim Acta.* 2007; 375(1-2),20-35.
21. Chakraborty C, Roy SS, Hsu MJ, Agoramoorthy G: Landscape mapping of functional proteins in insulin signal transduction and insulin resistance: a network-based protein-protein interaction analysis. *PLoS One.* 2011; 6(1):e16388.
22. Tirosh A, Potashnik R, Bashan N, Rudich A: Oxidative stress disrupts insulin-induced cellular redistribution of insulin receptor substrate-1 and phosphatidylinositol 3-kinase in 3T3-L1 adipocytes. A putative cellular mechanism for impaired protein kinase B activation and GLUT4 translocation. *J Biol Chem.* 1999; 274(15),10595-602.
23. Iwakami S, Misu H, Takeda T, Sugimori M, Matsugo S, Kaneko S, Takamura T: Concentration-dependent dual effects of hydrogen peroxide on insulin signal transduction in H4IIEC hepatocytes. *PLoS One.* 2011; 6(11),e27401.
24. Jonk AM, Houben AJ, de Jongh RT, Serné EH, Schaper NC, Stehouwer CD: Microvascular dysfunction in obesity: a potential mechanism in the pathogenesis of obesity-associated insulin resistance and hypertension. *Physiology (Bethesda).* 2007; 22:252-60.

25. Zhang H, Zhang J, Ungvari Z, Zhang C: Resveratrol improves endothelial function: role of TNF α and vascular oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29(8),1164-71.
26. Renaud S, de Lorgeril M : Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet.* 1992; 339(8808):1523-6.
27. Liu L, Wang Y, Lam KS, Xu A: Moderate wine consumption in the prevention of metabolic syndrome and its related medical complications. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2008; 8(2),89-98.
28. Holthoff JH, Woodling KA, Doerge DR, Burns ST, Hinson JA, Mayeux PR: Resveratrol, a dietary polyphenolic phytoalexin, is a functional scavenger of peroxynitrite. *Biochem Pharmacol.* 2010 ;80(8):1260-5.
29. Leonard SS, Xia C, Jiang BH, Stinefelt B, Klandorf H, Harris GK, Shi X: Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;309(4):1017-26.
30. Frombaum M, Le Clanche S, Bonnefont-Rousselot D, Borderie D: Antioxidant effects of resveratrol and other stilbene derivatives on oxidative stress and *NO bioavailability: Potential benefits to cardiovascular diseases. *Biochimie.* 2012; 94(2),269-76.
31. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM: Wine as a biological fluid: history, production, and role in disease prevention. *J Clin Lab Anal.* 1997; 11(5),287-313.
32. Ndiaye M, Chataigneau T, Chataigneau M, Schini-Kerth VB: Red wine polyphenols induce EDHF-mediated relaxations in porcine coronary arteries through the redox-sensitive activation of the PI3-kinase/Akt pathway. *Br J Pharmacol.* 2004; 142(7),1131-6

33. Takahashi S, Nakashima Y: Repeated and long-term treatment with physiological concentrations of resveratrol promotes NO production in vascular endothelial cells. *Br J Nutr.* 2012; 107(6),774-80.
34. Schwer B, Verdin E: Conserved metabolic regulatory functions of sirtuins. *Cell Metab.* 2008; 7(2),104-12.
35. Vetterli L, Brun T, Giovannoni L, Bosco D, Maechler P: Resveratrol potentiates glucose-stimulated insulin secretion in INS-1E beta-cells and human islets through a SIRT1-dependent mechanism. *J Biol Chem.* 2011; 286(8), 6049-60.
36. Qiao L, Shao J: SIRT1 regulates adiponectin gene expression through Foxo1-C/enhancer-binding protein alpha transcriptional complex. *J Biol Chem.* 2006; 281(52),39915-24.
37. Banks AS, Kon N, Knight C, Matsumoto M, Gutiérrez-Juárez R, Rossetti L, Gu W, Accili D: SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell Metab.* 2008; 8(4),333-41.
38. Nakanishi S, Yamane K, Kamei N, Nojima H, Okubo M, Kohno N: A protective effect of adiponectin against oxidative stress in Japanese Americans: the association between adiponectin or leptin and urinary isoprostane. *Metabolism.* 2005; 54(2),194-9.
39. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, Messadeq N, Milne J, Lambert P, Elliott P, Geny B, Laakso M, Puigserver P, Auwerx J: Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell.* 2006; 127(6),1109-22.

40. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, Prabhu VV, Allard JS, Lopez-Lluch G, Lewis K, Pistell PJ, Poosala S, Becker KG, Boss O, Gwinn D, Wang M, Ramaswamy S, Fishbein KW, Spencer RG, Lakatta EG, Le Couteur D, Shaw RJ, Navas P, Puigserver P, Ingram DK, de Cabo R, Sinclair DA: Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 2006; 444(7117),337-42.
41. Timmers S, Konings E, Bilet L, Houtkooper RH, van de Weijer T, Goossens GH, Hoeks J, van der Krieken S, Ryu D, Kersten S, Moonen-Kornips E, Hesselink MK, Kunz I, Schrauwen-Hinderling VB, Blaak EE, Auwerx J, Schrauwen P: Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metab*. 2011; 14(5):612-22.
42. Vinayagamoorthi R, Bobby Z, Sridhar MG: Antioxidants preserve redox balance and inhibit c-Jun-N-terminal kinase pathway while improving insulin signaling in fat-fed rats: evidence for the role of oxidative stress on IRS-1 serine phosphorylation and insulin resistance. *J Endocrinol*. 2008; 197(2):287-96.
43. Price NL, Gomes AP, Ling AJ, Duarte FV, Martin-Montalvo A, North BJ, Agarwal B, Ye L, Ramadori G, Teodoro JS, Hubbard BP, Varela AT, Davis JG, Varamini B, Hafner A, Moaddel R, Rolo AP, Coppari R, Palmeira CM, de Cabo R, Baur JA, Sinclair DA: SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metab*. 2012; 15(5),675-90.
44. Dolinsky VW, Rueda-Clausen CF, Morton JS, Davidge ST, Dyck JR: Continued postnatal administration of resveratrol prevents diet-induced metabolic syndrome in rat offspring born growth restricted. *Diabetes*. 2011; 60(9),2274-84.

45. Chen WP, Chi TC, Chuang LM, Su MJ. Resveratrol enhances insulin secretion by blocking K(ATP) and K(V) channels of beta cells. *Eur J Pharmacol.* 2007; 568(1–3):269–277
46. Dao TM, Waget A, Klopp P, Serino M, Vachoux C, Pechere L, Drucker DJ, Champion S, Barthélemy S, Barra Y, Burcelin R, Séréé E: Resveratrol increases glucose induced GLP-1 secretion in mice: a mechanism which contributes to the glycemic control. *PLoS One.* 2011; 6(6):e20700.
47. Szkudelski T, Szkudelska K: Anti-diabetic effects of resveratrol. *Ann N Y Acad Sci.* 2011; 1215:34-9.
48. Chan WH: Effect of resveratrol on high glucose-induced stress in human leukemia K562 cells. *J Cell Biochem.* 2005; 94(6),1267-79.
49. Kim MY, Lim JH, Youn HH, Hong YA, Yang KS, Park HS, Chung S, Koh SH, Shin SJ, Choi BS, Kim HW, Kim YS, Lee JH, Chang YS, Park CW. (2012). Resveratrol prevents renal lipotoxicity and inhibits mesangial cell glucotoxicity in a manner dependent on the AMPK-SIRT1-PGC1 α axis in db/db mice. *Diabetologia.* 2013; 56(1):204-17.
50. Kobayashi M, Yamamoto M: Nrf2-Keap1 regulation of cellular defense mechanisms against electrophiles and reactive oxygen species. *Adv Enzyme Regul.* 2006; 46:113-40.
51. de Kreutzenberg SV, Ceolotto G, Papparella I, Bortoluzzi A, Semplicini A, Dalla Man C, Cobelli C, Fadini GP, Avogaro A: Downregulation of the longevity-associated protein sirtuin 1 in insulin resistance and metabolic syndrome: potential biochemical mechanisms. *Diabetes.* 2010; 59(4),1006-15.
52. Thirunavukkarasu M, Penumathsa SV, Koneru S, Juhasz B, Zhan L, Otani H, Bagchi D, Das DK, Maulik N: Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: Role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. *Free Radic Biol Med.* 2007; 43(5):720-9.

53. Rivera L, Morón R, Zarzuelo A, Galisteo M: Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochem Pharmacol.* 2009;77(6):1053-63.
54. Winkler G, Lakatos P, Salamon F, Nagy Z, Speer G, Kovács M, Harnos G, Dworak O, Cseh K: Elevated serum TNF-alpha level as a link between endothelial dysfunction and insulin resistance in normotensive obese patients. *Diabet Med.* 1999; 16(3):207-11.
55. Cseh K, Baranyi E, Melczer Z, Csákány GM, Speer G, Kovács M, Gerö G, Karádi I, Winkler G: The pathophysiological influence of leptin and the tumor necrosis factor system on maternal insulin resistance: negative correlation with anthropometric parameters of neonates in gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol.* 2002; 16(6):453-60.
56. Hays NP, Galassetti PR, Coker RH: Prevention and treatment of type 2 diabetes: current role of lifestyle, natural product, and pharmacological interventions. *Pharmacol Ther.* 2008; 118(2),181-91.
57. Labinskyy N, Csiszar A, Veress G, Stef G, Pacher P, Oroszi G, Wu J, Ungvari Z: Vascular dysfunction in aging: potential effects of resveratrol, an anti-inflammatory phytoestrogen. *Curr Med Chem.* 2006; 13(9),989-96.
58. Wang A, Liu M, Liu X, Dong LQ, Glickman RD, Slaga TJ, Zhou Z, Liu F: Up-regulation of adiponectin by resveratrol: the essential roles of the Akt/FOXO1 and AMP-activated protein kinase signaling pathways and DsbA-L. *J Biol Chem.* 2001; 286(1):60-6.
59. Ceriello A: Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. *Diabetes Care.* 2008 ;31 Suppl 2:S181-4.

60. Jun Saegusa, Seiji Kawano and Shunichi Kumagai: Oxidative Stress and Autoimmune Diseases . Oxidative Stress, Disease and Cancer. Edited by: Keshav K Singh , Roswell Park Cancer Institute, USA; ISBN: 978-1-86094-609-7
61. Túri S, Németh I, Torkos A, Sághy L, Varga I, Matkovics B, Nagy J: Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic Biol Med.* 1997;22(1-2):161-8.
62. Ruiz S, Pergola PE, Zager RA, Vaziri ND: Targeting the transcription factor Nrf2 to ameliorate oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2013;83(6):1029-41.
63. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG: Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochem J.* 2001;357(Pt 3):593-615.
64. Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG, Oubiña P, Lahera V, Luño J: Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int Suppl.* 2008;(111):S4-9.
65. Malhotra JD, Kaufman RJ: Endoplasmic reticulum stress and oxidative stress: a vicious cycle or a double-edged sword? *Antioxid Redox Signal.* 2007;9(12):2277-93.
66. Granata S, Dalla Gassa A, Tomei P, Lupo A, Zaza G: Mitochondria: a new therapeutic target in chronic kidney disease. *Nutr Metab (Lond).* 2015;12:49.
67. Saldanha JF, Leal Vde O, Stenvinkel P, Carraro-Eduardo JC, Mafra D: Resveratrol: why is it a promising therapy for chronic kidney disease patients? *Oxid Med Cell Longev.* 2013;2013:963217.
68. Xiao Y, Karnati S, Qian G, Nenicu A, Fan W, Tchatalbachev S, Höland A, Hossain H, Guillou F, Lüers GH, Baumgart-Vogt E: Cre-mediated stress affects

sirtuin expression levels, peroxisome biogenesis and metabolism, antioxidant and proinflammatory signaling pathways. *PLoS One*. 2012;7(7):e41097.

69. Kim HJ, Vaziri ND: Contribution of impaired Nrf2-Keap1 pathway to oxidative stress and inflammation in chronic renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;298(3):F662-71.
70. Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Gurnani P, Nandi A, Kurosu H, Miyoshi M, Ogawa Y, Castrillon DH, Rosenblatt KP, Kuro-o M: Regulation of oxidative stress by the anti-aging hormone klotho. *J Biol Chem*. 2005;280(45):38029-34. Epub 2005 Sep 26.
71. Kooman JP, Shiels PG, Stenvinkel P: Premature aging in chronic kidney disease and chronic obstructive pulmonary disease: similarities and differences. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18(6):528-34.
72. Papaioannou AI, Rossios C, Kostikas K, Ito K: Can we delay the accelerated lung aging in COPD? Anti-aging molecules and interventions. *Curr Drug Targets*. 2013;14(2):149-57.
73. Kooman JP, Kotanko P, Schols AM, Shiels PG, Stenvinkel P: Chronic kidney disease and premature ageing. *Nat Rev Nephrol*. 2014;10(12):732-42.
74. Fourtounis J, Wang IM, Mathieu MC, Claveau D, Loo T, Jackson AL, Peters MA, Therien AG, Boie Y, Crackower MA: Gene expression profiling following NRF2 and KEAP1 siRNA knockdown in human lung fibroblasts identifies CCL11/Eotaxin-1 as a novel NRF2 regulated gene. *Respir Res*. 2012;13:92.
75. Mansouri L, Paulsson JM, Moshfegh A, Jacobson SH, Lundahl J: Leukocyte proliferation and immune modulator production in patients with chronic kidney disease. *PLoS One*. 2013 ;8(8):e73141

76. Yang CJ, Lin CY, Hsieh TC, Olson SC, Wu JM. Control of eotaxin-1 expression and release by resveratrol and its metabolites in culture human pulmonary artery endothelial cells. *Am J Cardiovasc Dis.* 2011;1(1):16-30.
77. Magistroni R, D'Agati VD, Appel GB, Kiryluk K: New developments in the genetics, pathogenesis, and therapy of IgA nephropathy. *Kidney Int.* 2015;88(5):974-89.
78. Coppo R, Camilla R, Amore A, Peruzzi L: Oxidative stress in IgA nephropathy. *Nephron Clin Pract.* 2010;116(3):c196-8.
79. Kitada M, Zhang Z, Mima A, King GL: Molecular mechanisms of diabetic vascular complications. *J Diabetes Investig.* 2010;1(3):77-89.
80. Sharma S, Anjaneyulu M, Kulkarni SK, Chopra K: Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, attenuates diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology.* 2006; 76: 69-75.
81. Zhang L, Pang S, Deng B, Qian L, Chen J, Zou J, Zheng J, Yang L, Zhang C, Chen X, Liu Z, Le Y. High glucose induces renal mesangial cell proliferation and fibronectin expression through JNK/NF- κ B/NADPH oxidase/ROS pathway, which is inhibited by resveratrol. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012 ;44(4):629-38.
82. Liu M, Wilk SA, Wang A, Zhou L, Wang RH, Ogawa W, Deng C, Dong LQ, Liu F: Resveratrol inhibits mTOR signaling by promoting the interaction between mTOR and DEPTOR. *J Biol Chem.* 2010;285(47):36387-94.
83. Yuan Y, Huang S, Wang W, Wang Y, Zhang P, Zhu C, Ding G, Liu B, Yang T, Zhang A: Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α ameliorates mitochondrial dysfunction and protects podocytes from aldosterone-induced injury. *Kidney Int.* 2012 ;82(7):771-89.
84. Li J, Qu X, Ricardo SD, Bertram JF, Nikolic-Paterson DJ: Resveratrol inhibits renal fibrosis in the obstructed kidney: potential role in deacetylation of Smad3. *Am J Pathol.* 2010;177(3):1065-71.

85. Liang J, Tian S, Han J, Xiong P: Resveratrol as a therapeutic agent for renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *Ren Fail.* 2014 ;36(2):285-91.
86. Hodgin JB, Berthier CC, John R, Grone E, Porubsky S, Gröne HJ, Herzenberg AM, Scholey JW, Hladunewich M, Cattran DC, Kretzler M, Reich HN: The molecular phenotype of endocapillary proliferation: novel therapeutic targets for IgA nephropathy. *PLoS One.* 2014;9(8):e103413.
87. Takeda K, Kaisho T, Akira S: Toll-like receptors. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:335-76.
88. Cockcroft DW, Gault MH: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976; 16: 31–41.
89. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28: 412-19.
90. Nagaretani H, Nakamura T, Funahashi T, Kotani K, Miyanaga M, Tokunaga K, Takahashi M, Nishizawa H, Kishida K, Kuriyama H, Hotta K, Yamashita S, Matsuzawa Y: Visceral fat is a major contributor for multiple risk factor clustering in Japanese men with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care.* 2001; 24: 2127-33.
91. Wagner L, Laczy B, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Mohás M, Cseh J, Fekete A, Wittmann I: Cigarette smoke-induced alterations in endothelial nitric oxide synthase phosphorylation: role of protein kinase C. *Endothelium .* 2007; 4: 245-55.
92. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, et al: CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009; 150: 604–612.

93. Baynes JW: Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405–412.
94. R weler M, G lden M, Maser E, Murias M, Seibert H: Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant activities of resveratrol and analogues in C6 astrogloma cells in vitro. *Chem Biol Interact.* 2009; 182: 128-35.
95. Silan C: The Effects of Chronic Resveratrol Treatment on Vascular Responsiveness of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biol Pharm Bull.* 2008; 31: 897-902.
96. Soufi FG, Sheervalilou R, Vardiani M, Khalili M, Alipour MR: Chronic resveratrol administration has beneficial effects in experimental model of type 2 diabetic rats. *Endocr Regul.* 2012; 46(2),83-90.
97. Zhang H, Morgan B, Potter BJ, Ma L, Dellsperger KC, Ungvari Z, Zhang C: Resveratrol improves left ventricular diastolic relaxation in type 2 diabetes by inhibiting oxidative/nitrative stress: in vivo demonstration with magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2010; 299(4):H985-94.
98. Molnár GA, Mikolás EZ, Szi rt  IA, Kun S, Sélley E, Wittmann I: Tyrosine isomers and hormonal signaling: A possible role for the hydroxyl free radical in insulin resistance. *World J Diabetes.* 2015;6(3):500-7.
99. Avogaro A, de Kreutzenberg SV, Fadini GP: Oxidative stress and vascular disease in diabetes: is the dichotomization of insulin signaling still valid? *Free Radic Biol Med.* 2008;44(6):1209-15.
100. Evans JL, Maddux BA, Goldfine ID: The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(7-8):1040-52.
101. Wang N, Ko SH, Chai W, Li G, Barrett EJ, Tao L, Cao W, Liu Z: Resveratrol recruits rat muscle microvasculature via a nitric oxide-dependent mechanism that is blocked by TNF . *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011; 300(1):E195-201

102. Timmers S, Hesselink MK, Schrauwen P: Therapeutic potential of resveratrol in obesity and type 2 diabetes: new avenues for health benefits? *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1290:83-9.
103. Bhatt JK, Thomas S, Nanjan MJ: Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res.* 2012; 32(7),537-41.
104. Movahed A, Nabipour I, Lieben Louis X, Thandapilly SJ, Yu L, Kalantarhormozi M, Rekabpour SJ, Netticadan T: Antihyperglycemic effects of short term resveratrol supplementation in type 2 diabetic patients. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:851267.
105. Liu K, Zhou R, Wang B, Mi MT: Effect of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity: a meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2014;99(6):1510-9.
106. King GL, Shiba T, Oliver J, Inoguchi T, Bursell SE: Cellular and molecular abnormalities in the vascular endothelium of diabetes mellitus. *Annu Rev Med.* 1994;45:179-88.
107. Kanauchi M, Kimura K, Akai Y, Saito Y: Insulin resistance and pancreatic beta-cell function in patients with hypertensive kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2004; 19(8):2025-9.
108. Vaziri ND, Bai Y, Ni Z, Quiroz Y, Pandian R, Rodriguez-Iturbe B: Intra-renal angiotensin II/AT1 receptor, oxidative stress, inflammation, and progressive injury in renal mass reduction. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;323(1):85-93.
109. Shah SV, Baliga R, Rajapurkar M, Fonseca VA: Oxidants in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2007 ;18(1):16-28.
110. Chen JX, Zhou JF, Shen HC: Oxidative stress and damage induced by abnormal free radical reactions and IgA nephropathy. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2005 ;6(1):61-8.

111. Heidland A, Sebekova K, Schinzel R: Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(4 Suppl 1):S100-6.
112. Wagner Z, Wittmann I, Mazák I, Schinzel R, Heidland A, Kientsch-Engel R, Nagy J: N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine levels in patients with type 2 diabetes: role of renal function. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(4):785-91.
113. Ljiljana C Gojković-Bukarica, Vladimir I Kanjuh, Radmila B Novaković, Dragana D Protić, Jelena M Cvejić and Milica T Atanacković. The differential effect of resveratrol on the renal artery of normal and diabetic rats: *BMC Pharmacology and Toxicology* 2012, 13(Suppl 1):A48 .
114. Gordish KL, Beierwaltes WH: Resveratrol induces acute endothelium-dependent renal vasodilation mediated through nitric oxide and reactive oxygen species scavenging. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014;306(5):F542-50.
115. Pergola PE, Raskin P, Toto RD, Meyer CJ, Huff JW, Grossman EB, Krauth M, Ruiz S, Audhya P, Christ-Schmidt H, Wittes J, Warnock DG; BEAM Study Investigators: Bardoxolone methyl and kidney function in CKD with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 201;365(4):327-36.
116. Lambers Heerspink HJ, Chertow GM, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Goldsberry A, Krauth M, Linde P, McMurray JJ, Meyer CJ, Parving HH, Remuzzi G, Christ-Schmidt H, Toto RD, Vaziri ND, Wanner C, Wittes J, Wrolstad D, de Zeeuw D: Baseline characteristics in the Bardoxolone methyl EvAluation in patients with Chronic kidney disease and type 2 diabetes mellitus: the Occurrence of renal eveNts (BEACON) trial. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(11):2841-50.

117. de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, Bakris GL, Chin M, Christ-Schmidt H, Goldsberry A, Houser M, Krauth M, Lambers Heerspink HJ, McMurray JJ, Meyer CJ, Parving HH, Remuzzi G, Toto RD, Vaziri ND, Wanner C, Wittes J, Wrolstad D, Chertow GM; BEACON Trial Investigators: Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. *N Engl J Med.* 2013;369(26):2492-503.
118. Molnár GA, Kovács T, Wittmann I: Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and advanced chronic kidney disease. *N Engl J Med.* 2014;370(18):1767-8.
119. Chartoumpekis DV, Sykiotis GP: Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and advanced chronic kidney disease. *N Engl J Med.* 2014;370(18):1767.

11. Köszönetnyilvánítás

Kiemelt köszönettel tartozom Prof. Dr. Wittmann Istvánnak, aki tudományos munkám vezetőjeként, intézetvezetőként segítette és tanácsaival irányította klinikai és kutatási tevékenységemet és biztosította azok hátterét.

Köszönöm Prof. Dr. Winkler Gábornak tudományos munkámban nyújtott támogatásért.

Szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Nagy Juditnak , hogy csatlakozhattam a klinika munkacsoportjához és bevezetett a klinikai nefrológiába.

Köszönöm Dr. Halmai Richárdnak, Dr. Mazák Istvánnak, Dr. Molnár Gergőnek, Dr. Kovács Tibornak, Dr. Mohás Mártonnak, Dr. Markó Lajosnak, Dr. Sélley Eszternek, Dr. Kun Szilárdnak, Dr. Laczy Boglárkának, Dr. Szijártó András Istvánnak, Dr. Cseh Juditnak, Dr. Vas Tibornak, Dr. Mikolás Esztellának a tudományos és klinikai munkába nyújtott segítségüket.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Sümegei Balázsnak , Dr. Fekete Katalinnak és Dr. Mészáros G. Lászlónak a biokémiai vizsgálatokért, a támogatásért és a hasznos tudományos észrevételeikért.

Köszönöm Bodor Enikőnek, Horváth Klaudiának és Horváth Viktóriának az adminisztrációs tevékenységben nyújtott segítséget.

Köszönöm a II.sz. Belgyógyászati Klinika többi dolgozójának, akik munkám során segítettek.

Köszönöm Dr. Molnár Mártának és Dr. Peidl Zsanettnek támogatásukat, türelmüket.

Köszönet barátaimnak a támogatásukért, ösztönzésükért.

Köszönet a családomnak, akik támogattak és kitartottak mellettem, segítették munkámat.