

REZVERATROL HATÁSA 2-ES TÍPUSÚ CUKORBETEGSÉGBEN ÉS IGA NEFROPÁTIÁBAN

Doktori (Ph.D.) tézisei

Dr. Brasnyó Pál



Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,
II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrológiai Centrum

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

Programvezető: Prof. Dr. Wittmann István

Témavezetők:

Prof. Dr. Wittmann István

Prof. Dr. Winkler Gábor

Pécs, 2016

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AKT=PKB:	protein kinase B - protein kináz B
CCL11	C-C motif chemokine 11 - C-C motif kemokin 11
C _{CR}	creatinine clearance - kreatinin clearance
CGM	continuous glucose monitoring - folyamatos szöveti glükóz monitorozás
CKD	chronic kidney disease - krónikus vesebetegség
eNOS:	endothelial nitric oxide synthase - endoteliális nitrogén-monoxid szintáz
GFR	glomerular filtration rate - glomeruláris filtrációs ráta
GIP:	glucose-dependent insulinotropic peptide-glükózdependens inzulinotróp peptid
GLP-1:	glucagon-like-peptide-1- glukagonszerű peptid-1
HOMA:	homeostatic model assessment - homeosztázis model becslés
HOMA _{IR} :	homeostatic model assessment of insulin resistance-inzulin-rezisztencia homeosztázis model becslése
HOMA _β :	homeostatic model assessment of β-cell function - β sejt funkció homeosztázis model becslése
IgAN	IgA nephropathy - IgA nefropátia
IQR	interquartile range - interkvartilis tartomány
ISI:	insulin sensitivity index - inzulin szenzitivitási index
MCR:	metabolic clearance rate - metabolikus clearance
NF-κB	nuclear factor κB - nukleáris faktor-kappa B
Nrf2	nuclear factor erythroid 2-related factor 2
o-Tyr	ortho-tyrosine - orto-tirozin
pAKT	phosphorylated protein kinase B - foszforilált protein kináz B
ROS	reactive oxygen species - reaktív oxigén szabadgyökök
SD	standard deviation - szórás
SIRT	sirtuin
T2DM	type 2 diabetes mellitus - 2-es típusú cukorbetegség

1. Bevezetés

Európai epidemiológiai vizsgálatok szerint Franciaországban az igen magas zsírfogyasztás ellenére alacsonyabb a kardiovaszkuláris mortalitás a hasonló fejlettségű államokhoz képest. E francia paradoxonnak nevezett jelenség hátterében az országra jellemző magas vörösbor-fogyasztást tételezték fel.

A vörösborban számos, az egészségre kedvező hatású polifenol található. Közülük az egyik legtöbbet vizsgált molekula a rezveratrol, aminek kedvező élettani és biokémiai hatásait számos sejt-kultúras vizsgálat és állatkísérlet már kimutatta.

Ismertek a rezveratrol kardiovaszkuláris rendszerre gyakorolt kedvező hatásai. Szerepe van a vazodilatáció fokozásában, az iszkémiás prekondicionálásban, amelyek hátterében az endoteliális nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) aktiválása áll, gátolja a vérlemezék aggregációját, és az erek simaizom sejtjeinek proliferációját is. Ezeken túlmenően gyulladáscsökkentő és daganat-növekedést gátló hatását is leírták, sőt a kalória megszorítás során is aktiválódó jelátviteli útvonalak beindításán keresztül az öregedési folyamatokat is kedvezően befolyásolja.

Az oxidatív stressz fontos szerepet tölt be a diabetes mellitus kialakulásában valamint a szövődmények létrejöttében. Több tanulmány is igazolta, hogy a reaktív oxigén termékek (ROS) károsítják az inzulinfüggő glükózfelvételt és a glikogén-szintézist, így létrehozva az inzulin-rezisztenciát.

In vitro és *in vivo* vizsgálatok igazolták a rezveratrol antioxidáns hatását, és állatkísérletek során csökkentette a cukorbetegség okozta szövődményeket.

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

Az IgA nefropátia (IgAN) a leggyakoribb primer glomerulonefritisz. Okozhat egészen enyhe tüneteket és gyors progressziójú veseelégtelenséget. Kiemelendő, hogy a férfiak progressziós hajlama kifejezettebb, mint a nőké. Úgy tűnik, hogy az oxidatív stressz mértéke is fontos szerepet játszik a betegség hosszú távú kimenetelében.

CKD-ban fokozott oxidatív stressz észlelhető. A rezveratrol az oxidatív stressz és a gyulladós folyamatok csökkentésén (nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) aktiváción, SIRT-1 expresszió fokozásán, nukleáris faktor-kappa B (NF- κ B) gátlásán) keresztül kedvezően befolyásolhatja a CKD-val összefüggő kóros folyamatokat.

A C-C motif chemokine 11(eotaxin-1, CCL11) gyulladáshoz kapcsolódó biomarker, szintjét több gyulladáshoz kapcsolódó citokinnel együtt magasabbnak találták CKD betegekben. A CCL11 expresszióját gyulladáshoz kapcsolódó citokinek növelik. *In vitro* kísérletek során a rezveratrol-kezelés hatására a CCL11 transzkripciója és expressziója csökkent.

Korábbi állatkísérletek és klinikai vizsgálatok eredményei alapján CKD-ben is igazolták az öregedési folyamatok ellen ható alfa-Klotho kedvező hatását. *In vitro* és állatkísérletek alapján rezveratrol fokozta a Klotho gén renális expresszióját.

Statin kezelés *in vitro* kísérletek és klinikai vizsgálatok adatai alapján csökkentette a gyulladáshoz kapcsolódó folyamatokban fontos szerepet játszó kemokin, a CCL11 szintjét és növelte az alfa-Klotho szintjét.

IgAN esetén a glomerulusokban tapasztalható endokapilláris proliferáció rossz prognosztikai jel. Az ezért felelős jelátviteli utakra *in silico* drug screening során, többek között a rezveratrol is kedvezően hathat.

2. Célkitűzések

2.1 A rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegségben

- Célul tűztük ki a rezveratrol inzulin-rezisztenciára kifejtett hatásának vizsgálatát cukorbetegségben
- További célunk volt, hogy megvizsgáljuk a rezveratrol oxidatív stresszre kifejtett hatását
- Tisztázni kívántuk, hogy a fenti folyamatok háttérében milyen mechanizmusok állhatnak

2.2 A rezveratrol hatásának vizsgálata IgA nefropátiás betegekben

- Célunk volt annak tisztázása, hogy a rezveratrol-kezelés hogyan befolyásolja az IgAN betegek vesefunkcióját, albuminuriáját
- További célunk volt, hogy megvizsgáljuk a rezveratrol oxidatív stresszre kifejtett hatását, illetve hogy ezen folyamatok háttérében milyen hatások állhatnak

3. Betegek és módszerek

3.1 A rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegekben

A Pécsi Tudományegyetem Etikai Bizottságának engedélye (Ügyiratszám: 2168), és a betegek írásos beleegyezését követően kettősvak, placebokontrollált, randomizált, parallel csoportos, prospektív vizsgálatunkba 19 2-es típusú diabéteszes (T2DM), orális antidiabetikummal kezelt férfi beteget vontunk be. A kezelt csoport (tíz beteg) napi 2x1 tbl. 5 mg-os rezveratrolt, a kontroll csoport (kilenc beteg) pedig 2x1 tbl. placebo-t kapott per os.

3.1.1 Betegek

Bevonásra a 18 év feletti, T2DM-es személyek kerültek, akik eGFR értéke Cockcroft számítás szerint ≥ 90 ml/min, angiotenzin-konvertáló-enzim-gátlót, vagy angiotenzin-receptor-blokkolót szedtek és a vizsgálatban való részvételükhöz, tájékoztatást követően, írásban hozzájárultak.

Kizáró ok volt az inzulinkezelés, kortikoszteroid-terápia, az alkohol- vagy kábítószer-abúzus, súlyos májelégtelenség, súlyos szívelégtelenség (NYHA III-IV), ismert aktív autoimmun megbetegedés, akut infekció vagy meglévő daganatos betegség. A betegek a vizsgálat ideje alatt alkoholt, valamint rezveratrol tartalmú élelmiszereket (bor, szőlő, bogyós gyümölcsök) nem fogyaszthattak.

3.1.2 Vizsgálati protokoll

A szűrés alkalmával általános belgyógyászati vizsgálatot (anamnézis, fizikális státusz, EKG, vérnyomás, pulzus) és rutin laboratóriumi vizsgálatot (vérkép, szérumnátrium, -kálium, -karbamid, -kreatinin, -összfehérje, -albumin, 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 Cockcroft-Gault formula 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 első 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-monitorozást (CGM) (Medtronic MINIMED, SOF-SENSOR

(MMT-7002)) és 24-órás ambuláns vérnyomás-monitorozást kezdtünk. Ezután éhomi vérvételt végeztünk a következő vizsgálatok elvégzése céljából: plazma-glükóz, széruminzulin, C-peptid, triglicerid, LDL, HDL, összkoleszterin, fruktózamin, nagy érzékenységű 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). Két hét elteltével a második vizit, majd ismét 2 hét elteltével a harmadik vizit alkalmával az első viziten elvégzett vizsgálatokat ismételtük.

3.1.3 Minták feldolgozása

A rutin laboratóriumi paraméterek mérése a PTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézetben beállított, rutinszerűen alkalmazott módszerekkel történt.

Az inzulin-rezisztenciát ($HOMA_{IR}$ -t), a β -sejtfunkciót ($HOMA_{\beta}$ -t) valamint az inzulin szenzitívítási indexet ($ISI_{Stumvoll}$) és a glükóz metabolikus clearance-t ($MCR_{Stumvoll}$) az irodalomból ismert képletek alapján számoltuk.

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.

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 trombocitadús-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 $CaCl_2$, 1mM $MgCl_2$, 11mM glükóz, pH 7,4) reszuszpendáltuk, a trombocitaszámot $5,0 \times 10^8$ /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 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.

3.1.4 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: 945 kJ, fehérje: 10,13 g, szénhidrát: 20,81 g, zsír: 11,25 g.

3.1.5 Statisztikai analízis

A bemutatott adataink (CGM paraméterek, maximális intersticiális glükózsztig eltelt idő, HOMA_{IR}, orto-tirozin/vizelet kreatinin, pAkt/Akt) normális eloszlást mutattak. Adataink eloszlását az átlag ± 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.

3.2 A rezveratrol hatásának vizsgálata IgA nefropátiás betegekben

A Pécsi Tudományegyetem Etikai Bizottságának engedélye (Ügyiratszám: 4583), és a betegek írásos beleegyezését követően kettősvak placebokontrollált, randomizált, parallel csoportos, prospektív 12 hétig tartó elővizsgálatunkba 100 IgAN-es 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.

3.2.1 Betegek

Azok a stabil állapotú betegek kerültek be a vizsgálatba, akik elmúltak 18 évesek, beleegyeztek a vizsgálatba, szövettani mintavétel során igazolt IgA nefropátiásak, kalkulált kreatinin clearance-ük (eGFR) CKD-EPI számítás szerint nagyobb vagy egyenlő 60 ml/min/1,73 m²-nél, és hipertóniás betegek esetében minimum egy renin-angiotenzin-aldoszteron rendszerre ható vérnyomáscsökkentő szert szednek. A Kontroll csoportban egészséges (non-IgAN) személyek voltak. A Kontroll férfi csoport életkor, vesefunkció, testsúly tekintetében is illesztve volt az IgA nefropátiás férfiak csoportjához. Nők esetében hasonlóan illesztett csoport volt.

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.

3.2.2 Vizsgálati protokoll

A szűrést követően a beválasztási kritériumokat teljesítő betegek az első vizit előtti napon 24 órán keresztül gyűjtötték vizeletüket. A betegektől egyszeri reggeli első vizeletmintát is gyűjtöttünk vizeletalbumin és albumin/kreatinin hányados meghatározásra. Éhgyomri vérvételt végeztünk a következő vizsgálatok elvégzése céljából: plazmaglükóz, fruktózamin, HbA_{1c}, széruminzulin, C-peptid, szérumnátrium, szérumkálium, szérumkálcium, szérumfoszfát, parathormon, szérumkarbamid, -kreatinin, -összfehérje, -albumin, -triglicerid, -LDL, -HDL, összkoleszterin, -GOT, -GPT, -ALP, -LDH, - γ GT, -bilirubin, protrombin, hsCRP, vérkép, retikulocita szám, szérumvas-, transferrinszint, transferrin szaturáció, szérumferritinszint, erythropoetinszint, IgA-szint, orto-tirozinszint, valamint alfa-klotho és CCL11 szint 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.

3.2.3 Minták feldolgozása

A rutin laboratóriumi vizsgálatok a PTE ÁOK Laboratóriumi Medicina Intézetben beállított, rutinszerűen alkalmazott módszerekkel történtek.

Az oxidatív stressz mértékét jelző orto-tirozinszint mérésére az előző vizsgálatkor alkalmazott módszert használtuk (ld.: 3.1.3 fejezet). A vizeletaminosav-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 szintjének mérésére pedig a humán α -Klotho Assay kitet (Immuno-Biological Laboratories Co.; Cat. No.:JP27998) .

3.2.4 Vizsgálati készítmény

Jelen vizsgálatban a korábbiakban is alkalmazott 5 mg rezveratrol tartalmú és placebo kapszulákat alkalmaztuk (ld.: 3.1.4 fejezet).

3.2.5 Statisztikai analízis

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

A vizitek összehasonlításánál nem normális eloszlás esetén Kruskal-Wallis tesztet, majd -annak pozitivitása esetén- a páronkénti összehasonlításokhoz Mann-Whitney U tesztet használtunk. Normális eloszlás esetén egyutas ANOVA-t alkalmaztunk, Bonferroni *post hoc* teszttel. Az eGFR és albuminuria 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 esetszámba és az értékek nagy variabilitására tekintettel az eGFR és albuminuria változásait a kiindulási értékhez képest százalékos arányban tüntettük fel.

A klinikai paraméterek közötti összefüggés vizsgálatára Pearson-féle korrelációt alkalmaztunk.

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

4. Eredmények

4.1 A rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegségben

A betegek vizsgálati készítmény szedési compliance-e 100%-os volt. A véletlenszerűen placebo és rezveratrol csoportba sorolt betegek kiindulási klinikai ill. laboratóriumi paramétereikben és gyógyszer-szedésében különbség nem volt. A két csoport között a klinikai és a biokémiai paraméterek tekintetében a vizsgálat végén (negyedik hét) találtunk szignifikáns eltéréseket .

4.1.1 A rezveratrol hatása a szöveti cukorszintekre

A tesztékezést 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 intersticiális vércukorszintig eltelt idő szignifikánsan megnyúlt a rezveratrolt szedő betegeknél ($49,50 \pm 13,83$ min. vs. $81,25 \pm 20,49$ min., $p=0,006$), valamint a harmadik vizitre különbözött a két csoport között is ($81,25 \pm 20,49$ min. vs. $58,1 \pm 18,42$ min., $p=0,03$).

A negyedik hétre a tesztékezést 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 ($6,79 \pm 2,95$ vs. $8,64 \pm 4,42$ mmol/l, $p=0,023$).

4.1.2 A rezveratrol hatása az inzulin-rezisztenciára

A kiindulási értékhez képest a negyedik hétre a $HOMA_{IR}$ változásának átlaga a rezveratrol csoportban csökkent a placebo csoporthoz képest (rezveratrol csoport: $-1,52 \pm 1,18$ vs. placebo csoport: $0,04 \pm 1,4$; $p=0,044$). A $HOMA_{\beta}$ értékekben nem volt eltérés.

4.1.3 A rezveratrol 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 (rezveratrol csoport: $-0,015 \pm 0,014$ vs. placebo csoport: $0,02 \pm 0,046$ $\mu\text{mol}/\text{mmol}$; $p=0,043$)

4.1.4 A rezveratrol hatása az Akt aktivációjára

A foszforilált Akt / teljes Akt (pAkt/Akt) arány emelkedést mutatja négy hetes rezveratrol-kezelés hatására ($0,78 \pm 0,25$ vs. $1,41 \pm 0,36$; $p=0,032$). A placebo csoportban változás nem volt ($0,81 \pm 0,54$ vs. $0,72 \pm 0,37$; $p=NS$).

4.1.5 A rezveratrol 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 ($p=NS$).

4.1.6 A rezveratrol hatása a vérnyomásterhelés és inzulin-rezisztencia kapcsolatára

Korrelációs vizsgálat során a 24-órás vérnyomásmonitor által adott szisztolés hiperbáriás impakt és az $ISI_{Stumvoll}$ közti 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. $R_{negyedik\ heti} = -0,717$, $p=0,045$.

4.2 A rezveratrol hatásának vizsgálata IgA nefropátiás betegekben

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.

A Kontroll csoport (non-IgAN) 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 illesztve volt az IgAN-es betegekhez.

A Kontroll férfiak csoportja (non-IgAN) szintén illesztve volt életkor ($54,0$ év (IQR:10) vs. $34,0$ év (IQR:20); $p=NS$), eGFR ($87,3$ ml/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 IgAN-es férfiakhoz.

A Kontroll nők csoportja (non-IgAN) 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 IgAN-es nőkhöz.

Ezen túlmenően a Kontroll csoporton belül (non-IgAN) 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.

4.2.1 Nemi különbségek a rezveratrol hatásában a vizelet-orto-tirozin-ürítésre.

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. A rezveratrollal kezelt IgAN-es csoportban a férfiak esetében kiinduláskor magasabb vizelet orto-tirozin koncentráció látszott a nőkhöz képest (534,37(911,46) nmol/l vs 85,94 (189,60) nmol/l , p=0,018), illetve orto-tirozin/kreatinin hányados tekintetében a férfi kontroll csoporthoz képest (p=0,019).

Kiinduláskor, az IgAN-es férfiak esetében, a vizelet orto-tirozin koncentráció (534,37(911,46) nmol/l vs 241,74(603,64) nmol/l, p=NS) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados (90,16(193,66) nmol/mmol vs 60,85 nmol/mmol, p=NS) tekintetében nem volt különbség (rezveratrol és placebo csoport összehasonlításában).

Az IgAN-es és kontroll csoportba tartozó nők között nem volt különbség a vizelet-orto-tirozin és orto-tirozin/kreatinin hányados tekintetében.

Hat hét múlva rezveratrol kezelés hatására a férfiak esetében a vizelet orto-tirozin koncentráció (534,37(911,46) nmol/l vs 144,56(177,83) nmol/l, p=0,017) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados (90,16(193,66) nmol/mmol vs. 22,80(24,42) nmol/mmol, p=0,008) is csökkent a kiindulási értékhez képest. Nők esetében hasonló változást nem találtunk.

A tizenkettedik héten a férfiak esetében a vizelet orto-tirozin koncentráció (534,37(911,46) nmol/l vs. 39,06(88,00) nmol/l , p=0,001) és a vizelet orto-tirozin/kreatinin hányados (90,16(193,66) nmol/mmol vs. 3,90(17,94) nmol/mmol, p=0,004) továbbra is alacsonyabb volt a kiindulási értékhez képest. Nők esetében továbbra sem találtunk eltérést.

4.2.2 A rezveratrol hatása az eGFR-re

IgAN-es férfiak esetében, a hat hetes rezveratrol kezelést követően az eGFR a kiindulási értékhez képest növekedett a placebo csoporthoz képest (103,2(13) % vs 96 (24) %, $p=0,026$). A 12. hétre a kiindulási értékhez viszonyított változás hasonló volt a rezveratrol és a placebo csoportban (105,1(25)% vs 98,3(18)%, $p=NS$).

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

Nők esetében sem a hatodik (108,3(27) vs. 85,1(24)%, $p=NS$), sem a 12. hétre (102,7(14)% vs 97,9(20) %, $p=NS$) nem változott az eGFR érték a kiindulási értékhez képest a rezveratrol és placebo csoport viszonylatában.

4.2.3 A rezveratrol hatása az albuminuriára

IgAN-es férfiak esetében, a hat hetes rezveratrol-kezelést követően az albuminuria a kiindulási értékhez képest növekedett a placebo csoporthoz képest, ahogy az a reggeli első vizeletben vizsgált albumin/kreatinin arány növekedésén látszik (201,6(2504)% vs 43,9(43) %; $p=0,006$). 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 (184,2 % vs 58,4(73)%; $p=NS$). 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 IgAN-es férfiak albuminuria-fokozódása is reverzibilisnek mutatkozott, a kiindulási értékhez viszonyított vizelet-albumin/kreatinin változása csökkent, a placebo csoport hatodik heti változásához képest már nem látszott különbség ($p=NS$).

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 (42,9(110)% vs 96,1(187)%, $p=NS$). 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 (61,4(109)% vs 58,4(73)%, p=NS) rezveratrol-kezelés hatására.

4.2.4 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.

4.2.5 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. 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. 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.

4.2.6 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 a nők esetében a rezveratrol-kezelés hatására nem látszott kapcsolat a két paraméter között.

5. Megbeszélés

5.1 A rezveratrol hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegekben

Első, kettősvak, placebo kontrolllos, randomizált, parallel csoportos, prospektív vizsgálatunkban a transz-rezveratrol hatását vizsgáltuk T2DM betegekben. Napi 2x5 mg orálisan alkalmazott transz-rezveratrol javította az inzulin-rezisztenciát, csökkentette a vércukorértékeket, valamint a vércukorcsúcs megjelenésének idejét is eltolta. Ezen kívül növelte a pAkt/Akt arányt valamint csökkentette az oxidatív stressz mértékét. Nem volt hatással a β -sejt funkcióra (HOMA_{β}) illetve nem befolyásolta a GLP-1, GIP és az amilin szintet.

A rezveratrol *in vitro* hatékony szabadgyökfogó, illetve *in vivo* is csökkenti az oxigén szabadgyök-termelést az antioxidáns enzimek szintjének/aktivitásának emelésével. Eredményeink – a korábbi vizsgálatokkal összhangban – arra utalnak, hogy a rezveratrol valóban hatékonyan csökkenti az oxidatív stresszt, ahogy azt korábban találták humán leukémia K562 sejtvonalon, illetve streptozotocinnal diabeteszessé tett patkányokban is.

Ismert a rezveratrol vércukorcsökkentő hatása diabéteszes patkányokban, aminek hátterében Akt- és eNOS-aktivációt találtak. Az Akt-foszforyláció (pAkt/Akt arány növekedése) egyik fontos lépése az inzulin jelátviteli mechanizmusának. Jelen vizsgálatunk arra utalnak, hogy a rezveratrol vércukorcsökkentő hatásában humán viszonylatban is szerepet játszhat az Akt jelátvitel aktiválása.

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

5.2 A rezveratrol hatásának vizsgálata IgA nefropátiás betegekben

Második vizsgálatunkban a rezveratrol lehetséges hatásait vizsgáltuk IgAN-es betegekben. A vizsgálatot a tervezettnél korábban zártuk, tekintettel arra, hogy a rezveratrolt szedő csoportban növekvő albuminuriát észleltünk.

Vizsgálatunkban IgAN-es férfiak esetében már kiinduláskor fokozottabb oxidatív stressz látszott, ami összhangban áll korábbi, hasonló betegpopuláción végzett vizsgálatunk utólagos analízisével. Ebben a vizsgálatunkban az oxidatív stressz okozta proteinkárosodásra utaló fluoreszcenciát tanulmányoztuk és azt találtuk, hogy férfiak esetén

ez az érték magasabb volt, mint nőkben. Ez és a jelen tanulmány orto-tirozinos eredményei az IgAN férfiak fokozott oxidatív stressz állapotát mutatja, ami parallel az irodalom klinikai adataival, amelyek szerint az IgAN-es férfiak prognózisa rosszabb.

Napi 2x5 mg orálisan bevitt transz-rezveratrol csökkentette az oxidatív stresszt, eGFR növekedését és a proteinuria növekedését okozta IgAN-es férfiakban, nők esetén nem voltak kimutathatók ezek a hatások. A hatás reverzibilisnek bizonyult, ahogy az a három hónapos kimosási időszakot követő eGFR és albuminuria vizsgálatából kitűnt.

Állatkísérletek adatai alapján a rezveratrol többek között az oxidatív stressz gátlásán keresztül kedvezően befolyásolhatja a CKD-val összefüggő kóros folyamatokat. Eredményeink – összhangban az irodalmi adatokkal- arra utalnak hogy a rezveratrol kezelés az IgAN férfiakban észlelt szignifikánsan magasabb orto-tirozin/kreatinin hányadossal jelzett oxidatív stressz szintjét csökkentheti. A férfi betegek körében, rezveratrol kezelést követően talált orto-tirozin/kreatinin hányados és CCL11 közötti pozitív korreláció pedig a gyulladós folyamatok és az oxidatív stressz parallel voltára utalhat.

Irodalmi adatok alapján ismert hogy a statin terápia csökkenti a gyulladós folyamatokban fontos szerepet játszó CCL11 szintjét, valamint növeli az öregedési folyamatokat gátló alfa-klotho szintjét. Jelen vizsgálatunkban ezeket az adatokat nem tudtuk megerősíteni.

Ismert állatkísérletek eredményei alapján, hogy az antioxidáns rezveratrol endotélium-dependens renális vazodilatációt okoz. Ennek eredményeként fokozódik a vese vérátáramlása, ami a single nephron hyperfiltration fokozásán keresztül szerepet játszhat a GFR növekedésében is, amire adataink is utalnak. Rezveratrol kezelés hatására az oxidatív stressz csökkenésével párhuzamosan GFR-növekedést észleltünk az IgAN férfiak esetében.

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. A bardoxolon-metil-terápiát követő albuminuria fokozódáshoz hasonló jelenség volt kimutatható rezveratrol mellett IgAN-es férfi betegeinknél. A két szer hatásának hátterében feltehetőleg hasonló mechanizmusok állhatnak. A súlyosan beszűkült vesefunkciójú T2DM CKD-betegek körében végzett BEACON vizsgálatban is a bardoxolon-metil növelte a proteinuriát. Veseelégtelenség esetén a maradék nefron hiperfiltráció fokozása hosszú távon a vesefunkció romlását és proteinuria növekedését okozhatja

Eredményeink alapján a bardoxolon metilhez hasonlóan T2DM betegekben, a rezveratrol adása sem javasolt krónikus vesebeteg IgAN betegekben.

6. 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 inzulin-rezisztencia ($HOMA_{IR}$) csökkentésében is.
3. A rezveratrol-kezelés T2DM-es betegekben nem befolyásolta az inkretin-szinteket.
4. IgAN-es férfiakban, az IgAN-es nőkhöz képest fokozott vizelet-orto-tirozin-ürítés észlelhető, ami fokozott oxidatív stresszre utal.
5. IgAN-es 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. IgAN-es férfiakban a rezveratrol-kezelés reverzibilisen növeli az eGFR-t és növeli az albuminuriát. Nőkben hasonló hatás nem látszik.

7. 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 Halmi, 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. **IF:3,013**
2. **Brasnyó P**, Molnár G A, Mohás M, Markó L, Laczy B, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I A, Halmi R, Mészáros G L, Sümegi B, Winkler G, Wittmann I. REZVERATROL HATÁSA 2-ES TÍPUSÚ DIABETESES 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 Sziájtó, 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. **IF:1,236**
4. P Kisfali, 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. **IF:3,438**
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. **IF:3,018**

Kumulatív Impakt faktor: 10,705

Összes citáció:317

8. Köszönetnyilvánítás

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

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

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. Sümegi 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 Zsanettnak támogatásukat, türelmüket.

Köszönet barátaimnak a támogatásukért, ösztönzésükért.

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