

A NITROGÉN MONOXID LEHETSÉGES SZEREPE AZ  
INZULIN HATÁSÁNAK KIFEJLŐDÉSÉBEN

Adatok a diabéteses nephropathia pathogeneziséhez

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Dr. Wittmann István

II. sz. Belgyógyászati Klinika

Programvezető: Prof. Dr. Nagy Judit

Pécsi Orvostudományi Egyetem

Pécs, 1998

**A NITROGÉN MONOXID LEHETSÉGES SZEREPE AZ  
INZULIN HATÁSÁNAK KIFEJLŐDÉSÉBEN**

Adatok a diabeteses nephropathia pathogeneziséhez

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Dr. Wittmann István

II. sz. Belgyógyászati Klinika

Programvezető: Prof. Dr. Nagy Judit

Pécsi Orvostudományi Egyetem

Pécs, 1998

## 1. BEVEZETÉS

A nyugati típusú életmódot folytató népesség körében 25-35 %-ra tehető az inzulin rezisztencia szindrómában szenvedők aránya. A magyar populáció, ilyen szempontból, a nyugati típusú életvitelt folytató társadalom közé tartozik. Sőt, feltételezhető, hogy hazánkban ezen betegség súlyosabb formában fordul elő a mozgáskultúra hiánya és a kifejezetten hátrányos diéta hagyományok miatt. A szindróma obligát összetevői az inzulin rezisztencia, a szénhidrát anyagcsere zavara, a férfias típusú (abdominális, vagy még inkább visceralis) obesitas, az essentialis hypertonia, a dyslipidaemia (általában hypertrigliceridaemia, gyakran hypercholesterinaemia és HDL cholesterolin csökkenés), és a hyperuricaemia. Ez a tünetegyüttes azért viseli a halálos jelzőt, mert szimptomái a leglényesebb cardiovascularis rizikófaktoroknak bizonyultak. Közismert tény, hogy a magyar populáció kritikusan magas halálozási mutatóiért elsősorban a cardiovascularis megbetegedések felelősek.

Tovább emeli az inzulin rezisztencia szindróma jelentőségét az a tény, hogy a szindróma tünetei a legfontosabb rizikófaktorai a diabéteses nephropathia kialakulásának is, ami a Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) tanulmánya szerint a szénhidrát anyagcsere rendezésével kedvezően befolyásolható. Ugyanezen tanulmány, IDDM-ben szenvedő betegek esetében azonban arra is rámutatott, hogy a vércukor közel normál szintre csökkentése nem védte ki minden esetben a szövődemények, így pl. a diabéteses nephropathia kialakulását. Ezért tehát a cukorbetegségben szenvedőknel nem elég a szénhidrát anyagcsere rendezése. Fokozottan igaz ez az NIDDM-ben szenvedő betegekre, akiknél a cukor anyagcsere zavara mellett fennálló eltérések lényegesen többetűek, és a kérdés fontosságát aláhúzza az a tény is, hogy ezen betegek közül kerül ki az inzulin rezisztenciában szenvedők jelentős része.

NIDDM-es betegeknél újabbban letrák, hogy a myocardialis infarctus és a diabéteses nephropathia kialakulásának a cukor anyagcsere zavarán kívül egyéb rizikófaktorai is vannak, pl. az inzulin rezisztencia, a hyperinzulinaemia, a nem-enzimikus glikáció, az oxidatív stress, amelyek a komplikációk pathomechanizmusát is megmagyarázhatják.

Az a régi adat, amely szerint a dohányzás a myocardialis infarctus rizikófaktora, új megvilágításba került az által az új megfigyelés által, hogy a dohányzás acut inzulin rezisztencia-szerű képet okoz.

Ezért a mi érdeklődésünk homlokterébe is az említett rizikófaktorok kerültek (az inzulin rezisztencia, a hyperinzulinaemia, a nem-enzimikus glikáció, az oxidatív stress és a dohányzás). Úgy gondoljuk, hogy ezeket a rizikófaktorokat együttesen a szabadgyökös pathomechanizmus köti össze.

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Irodalmi és saját eredményeink is arra utalnak, hogy az inzulin intracelluláris másodlagos hírvivője az NO lehet. Az érdeklődésünk középpontjában álló diabéteses szövődemények (érkomplikációk, nephropathia) szempontjából különösen fontosnak tántek az endothel sejtek és a thrombocyták. Egyrészt ezen sejtek állapota jelentős mértékben meghatározza a parenchymás szervek működését, másrészt mindkét sejttípusban ugyanaz az eNOS mutatható ki. Ezért thrombocytá és endothel sejt-modellel felhasználásával dolgoztunk.

*Az alábbi hypothesiseket állítottuk fel:*

- 2.1. Az inzulin az eNOS aktiválásának megváltoztatásán keresztül fejti ki a hatását.
- 2.2. Az inzulin jel-átvitelt rombják mindazok a tényezők, amelyek az eNOS rendszer működését károsítják.

2.3. A szervezetben pathophyziológias viszonyok között nagyobb mennyiségben termelt szabad gyökök szerepet játszanak az NO jel-átvitel módosításában azzal, hogy gátolják az NO-nak a guanilát cikláz enzimre gyakorolt hatását.

### 3. MÓDSZEREK

#### 3.1. Az inzulin másodlagos hírvivője az NO

##### 3.1.1. *Eolált békasziv modell (thesis D)*

Időrendi és logikai sorrendben is első vizsgálatunk alapján 1987-ben között cikkünkben elsőként írtuk le, hogy a metilénkéek eliminálja az inzulin hatását. Ekkor az extracelluláris kálium ion koncentráció változásait kamulmányoztuk ionszelektív elektrodával, amely módszert korábban vázizmon dolgoztunk ki és írtuk le. A vizsgálatok elvégzésekor és a dolgozat megírásakor még nem volt ismert a metilénkéek szuperoxid szabad gyök termelésén keresztül megalósuló, nitrogén monoxidot hatástalanító effectusa.

##### 3.1.2. *Thrombocytá ATP secretios modell (thesis II, III)*

Az izolált békaszíven végzett vizsgálatunk, az újabb irodalmi adatok alapján, arra utalnak, hogy az inzulin bizonyos hatásai nitrogén monoxidon keresztül mediálódnak. Feltételezésünk igazolására egy, a humán viszonyokhoz közelebb álló modellt dolgoztunk ki, melynek során egészséges egyének thrombocytá dús plazmáját használtuk fel. Az adrenalin által kiváltott ATP secretiot inzulinnal moduláltuk, és ezen inzulin effectust vizsgáltuk a nitrogén monoxid szintáz enzim szubsztájával, L-argininnel, és az enzim kompetitív antagonistájával, N<sup>G</sup>-nitro-L-argininnel (L-NA). Egészséges önkéntesektől, 12 óras éhezés után, vért vettünk citrátos vacutainerbe. Az önkéntesek a vérvétel előtti két hét során nem kaptak gyógyszert. Az irodalomban leírt módszer szerint thrombocytá-dús plazmát (PRP) preparáltunk. Az ATP szekréciót 3,13 μmol/l adrenalinmal indítottuk el. Az adrenalin-

kiváltotta ATP szekréció mérésére kemilumineszcenciás csatornával is ellátott aggregométert használtunk.

Az ATP szekréciót a luciferáz-luciferin metodika segítségével mértük.

##### 3.1.3. *Kemilumineszcenciás eljárás (thesis IV, V, VI)*

Az eddig említett módszerekkel csak indirekt módon lehet igazolni az NO szerepét az inzulin hatásának kifejtésében. Ezért a továbbiakban az NO direkt kimutatására törekedtünk. Tekintettel arra, hogy az NO szabad gyök, párosítatlan spinű elektronja van, ezért direkt kimutatására két módszer lehet alkalmas, mint általában a szabad gyökök identifikálására, az elektron spin rezonancia (ESR) és a kemilumineszcencia. Az irodalomban említett spin trapping módszerrel metil-nitroso-propant alkalmazva, az általunk vizsgált körülmények között nem tudtunk NO-t kimutani. Ezért az ESR-nél jóval érzékenyebb luminal mediálta kemilumineszcenciás módszert állítottuk be. A fentiekben leírtak szerinti thrombocytá-dús plazma (PRP) modellt használtuk. A PRP-be luminalt tettünk, ami vasfüggő és vasfól független oxidáció hatására fényt bocsát ki. A vasfüggő kemilumineszcenciát, ami lehet lipid peroxidáció vagy hidroxil szabad gyök eredetű, dezferrioxamin hozzáadásával gátoltuk.

#### 3.2. Az NO-jel inaktiválása

##### 3.2.1. *cGMP és GSH meghatározás dohánnyüst modellen (thesis VII, VIII, IX)*

Az NO-cGMP rendszer érzékeny a sejteket ért oxidatív stresszre. Az NO termelődésének kimutatására a guanilát cikláz enzim aktiválódása során létrejövő cGMP felszabadulás mértékének meghatározását választottuk. A dohánnyüst, mint említettük, acut inzulin rezisztencia syndroma szerű képet okozhat. A dohánnyüst toxicus összetevői közül sokan szabad gyök tulajdonságúak (pl. a nitrogén oxidált származékai), mások, mint pl. a

formaldehid, olyan elváltozásokat okoznak a sejtek antioxidáns védekező rendszerében, amelyek a szabadgyökös behatásokra érzékenyebbé teszik. A formaldehid a redukált glutation szulfhidril csoportjához kötődhet, elfogyaszva így a szövetek egyik legfontosabb antioxidáns molekuláját. Ezáltal a sejtek SH-enzimeinek aktivitása megváltozik, például a NOS inaktiválódhat. Disznó aorta endothelsejti kultúrákat használtunk 5-6 napos tenyésztés után, akkor, amikor a növekedés során konfluálva vált a tenyészet. A cigarettafüstöt Krebs pufferen keresztül buborékolattuk át, és ezt használtuk, mint cigaretta puffert (SB) a dohányzás hatásának modellezésére. A sejtek NO termelését bradikinnel indukáltuk. Az SB kezelés során, a bradikinin indukciót megelőzően, az SB különböző hígításával előkezeltük a sejteket, illetve az időfüggés tanulmányozásakor ugyanazon SB koncentrációval a sejteket különböző ideig preinkubáltuk. Az antioxidáns kísérletekben az SB adagolásával egyidejűleg történt az antioxidáns előkezelés. A sejtek sósavas (0,1 mol/l) extraktumának cGMP koncentrációját határoztuk meg. Erre, minimális módosításokkal, a New England Nuclear kitéhez mellékelt módszert használtuk. A dohányfüst formaldehid tartalmát a SB-ben a Nash reagens segítségével fotometriásan határoztuk meg 410 nm-nél mérve és standard formaldehid sort alkalmazva. A formaldehid SH- csoport fogyasztását úgy mutattuk ki, hogy 10 mmol/l GSH oldathoz növekvő koncentrációjú, maximum 10 mmol/l formaldehidet adtunk. 45 perc inkubáció után az oldatban jelenlévő maradék SH- csoportot az Ellman reagens alkalmazásával fotometriásan mértük 412 nm-nél.

### 3.2.2. A dohányfüst fehérje degenerációt okozó hatásának mérése natív PAGE módszerrel (thesis X)

A dohányfüst fehérje degenerációt (szabad gyök-kiváltotta degradáció, és interhínging, azaz nagymolekulásúví termékek képződése) okozó hatásának kimutatására (amely minden valószínűség szerint érinti az NO-cGMP rendszert is) natív polyacrilamid géli

Először 90 °C körüli hőmérsékleten kísérletünk meg kimutatti szabad gyök jelet. A detektálhatóság javítása érdekében magas koncentrációkat alkalmaztunk: 1 mol/l glukózt, 1 mol/l arginint. A gyök termelést katalizátorral, vassal segítettük elő. A méréseket Bruker ESP 300 E jelet ESR készüléken végeztük.

### 3.2.4.2. Glukóz- és arginin-kiváltotta ferri-redukció (thesis XIX)

Vizsgálatainkkal tisztázni kívántuk, hogy az arginin + glukóz reakcióban szereplő elektron termelésére melyik molekula képes. Mivel úgy tűnt, hogy a reakcióban alapvető fontosságú a vas szerepe, ezért a ferri vas redukcióját mértük. A redukált ferri vas, a ferro forma, képes az oxigénnel reagálni és szuperoxid szabad gyököt termelni. A ferri vas redukcióját ferrozin segítségével, szobahőmérsékleten, fotometriásan 561 nm-nél mértük. A ferrozin csak a redukált ferro vassal képes komplexet alkotni, és ezen komplex képzés közben színreakció jön létre. Ezt a reakciót használtuk a ferri vas redukciójának kimutatására.

### 3.2.4.3. Az arginin elektron donor képességének spin trap bizonyítása (thesis XX)

Az előző pontban leírtak szerint az arginin is képes a ferri vasat ferrová redukálni. Feltételezhető, hogy ilyenkor a már említett Fenton reakcióban hidroxil szabad gyök is képződik. A hidroxil gyök kimutatására pedig alkalmas az ún. spin trapping módszer. *N*-t-butil-fenilnitrón (PBN) spin trap-et használtunk a hidroxil gyök kimutatására, mivel ezen gyökcsapda jellegzetes ESR szignált ad ilyen körülmények között. 100 mmol/l arginint inkubáltunk 100 mmol/l PBN jelenlétében, szobahőmérsékleten. Az oldatunk mindig tartalmaznak nyomokban vasat, ezért vasat külön nem adagoltunk az inkubációs médiumhoz. Inkább a nyomnyi mennyiségű vas redox ciklusát gátoljuk dezferrioxamminal, megelőzve ezzel a Fenton reakció lejátszódását, ami a hidroxil szabad gyök termeléséhez szükséges.

### 3.2.4.4. *Az arginin guanidino csoportjának jelentősége (thesis XXI)*

A továbbiakban azt tanulmányoztuk, hogy az arginin molekula melyik csoportja vesz részt a szabadgyökös reakciókban. Feltételeztük, hogy a guanidino csoport szerepe kitüntetett, ezért spin trap módszerrel vizsgáltuk az arginin guanidino csoportját nem tartalmazó, de ahhoz nagyon hasonló szerkezetű ornitin és citrullin szabad gyök képző tulajdonságát. Tanulmányoztuk a guanidino csoport szelektív modifikációját szobahőmérsékleten, malondialdehiddel pH 7,5 mellett, és a termék (pirimidini-1-ornitin) képződésének kinetikáját az UV tartományban (304 nm) fotometriásan detektáltuk. A malondialdehidet 1,1,3,3-tetramethoxy-propanból savas hidrolízissel nyertük. A reakció komplett voltát a TBA reaktív szubsztanciák mérésével ellenőriztük.

### 3.2.4.5. *A glükóz szabad gyök képződése (thesis XXII)*

Ha az arginint egyútt inkubáltuk szobahőmérsékleten glükózzal PBN spin trap jelenlétében, akkor az arginin indukálta szabad gyök jelet a glükóz koncentráció függően csökkentette. Ebből arra következtettünk, hogy a glükóz itt scavengerként viselkedik, azaz olyan glükóz szabad gyökké alakul át az arginintől nyert elektronnal, amit a PBN-nel nem tudunk kimutatni. Az irodalomban leírt  $\text{Fe}^{2+}$ - $\text{H}_2\text{O}_2$  tartalmú hidroxil szabad gyök generáló rendszerben dimetil-1-pirrolin *N*-oxid (DMPPO) spin trap alkalmazásával a glükóz szabad gyököt ki tudtuk mutatni.

## 4. ÚJ EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

### 4.1. *Az inzulin másodlagos hírvívője az NO*

#### 4.1.1. *Északi békasziv modell*

I. thesis: A szuperoxid szabad gyök kelte metilénkék kivédte az inzulin gátló hatását az izolált békasziv kálium kiáramlása vonatkozásában. A metilénkék szuperoxid szabad gyököt termelve, inzulin jelenlétében peroxinitriet kellett, és így inaktíválta az inzulin kiváltoa NO-hatást.

#### 4.1.2. *Thrombocytá ATP secretios modell*

II. thesis: Igazoltuk, hogy az inzulin gátolja a humán thrombocyták ATP secretióját.

III. thesis: Vizsgálataink szerint az inzulinnak a thrombocyták ATP secretiójára kifejtett gátló hatását a nitrogén monoxid szintáz enzim szubsztája, az L-arginin potencálja.

#### 4.1.3. *Kemilumineszcenciás eljárás*

IV. thesis: Új kemilumineszcenciás módszert dolgoztunk ki a nitrogén monoxid detektálására thrombocytá-dús plazmában.

V. thesis: Kemilumineszcencia alkalmazásával kimutattuk, hogy az inzulin növeli a thrombocyták nitrogén monoxid termelését.

VI. thesis: Kemilumineszcencia alkalmazásával igazoltuk, hogy az inzulin növeli a thrombocyták szuperoxid szabad gyök produktóját.

### 4.2. *Az NO-jel inaktiválása*

#### 4.2.1. *cGMP és GSH meghatározás dohányfüst modellben*

VII. thesis: Vizsgálataink szerint a dohányfüst csökkenti az endotel sejtek cGMP termelését, ami az alkalmazott modellben az NO termelés csökkenését is jelenti.

VIII. thesis: A dohányfűstnek az endothel sejtek nitrogén monoxid termelését csökkentő hatása glutationnal kivédhető.

IX. thesis: A dohányfűst jelentős mennyiségű formaldehidet tartalmaz, amely nagy aktivitással csökkenti a redukált glutation mennyiségét.

#### 4.2.2. A dohányfűst fehérje degenerációt okozó hatásának mérése natív PAGE módszerrel

X. thesis: Natív poliakrilamid géli elektroforézis (PAGE) vizsgálatokkal igazoltuk thrombocyták és endothelisejtek fehérjéinek dohányfűstre bekövetkező ástrukturálódását. Mindkét modell esetében egy 270 kD molekulásúlyú fehérje eltűnését tapasztaltuk, amely a fehérje molekula súlya alapján megfelelhet a konstitutív nitrogén monoxid szintáz enzimnek.

#### 4.2.3. Hypoxia modell

XI. thesis: Vizsgálataink szerint az inzulin rezisztenciával járó hypoxia és pseudohypoxia (amely pl. hyperglycaemiában lép fel) modelljében a glukóz-6-foszfátáz enzim aktivitása csökken.

XII. thesis: A hypoxia és a pseudohypoxia modelljében lipid peroxidáció és hidroxil szabad gyök termelés okozza a glukóz-6-foszfátáz enzim gátlását.

XIII. thesis: A hypoxia modellünkben a különböző vas komplexek szabad gyökök termelődését segítik elő: a vas-ATP komplex a lipid peroxidációnak, a vas-EDTA komplex a hidroxil szabad gyök termelődésnek kedvez.

#### 4.2.4. Nem-enzimatis glükációs modell

##### 4.2.4.1. Arginin-glükóz reakció magas hőfokon

XIV. thesis: Vizsgálataink szerint elektron spin rezonancia (ESR) spektroszkópia alkalmazásával igazolható, hogy az arginin és a glukóz reakcióba lép egymással.

XV. thesis: ESR vizsgálatokkal igazoltuk, az arginin + glukóz reakció hőmérséklet függését is.

#### 8. A DISSZERTÁCIÓHOZ KAPCSOLÓDÓ SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

##### Közlemények

1. I.WITTMANN, A.PUPPI, M.DELY, Relationship between the tissue redox state potential and dK/dt changes of K activity during k-strophanthoside or acetylcholine induced contractures. Acta Physiol.Hung. 1982;66:233-236.
2. A.PUPPI, I.WITTMANN, M.DELY, Redox state potential influences dNa activity values during acetylcholine contractures of frog skeletal muscles. Gen.Pharmacol. 1982;13:321-325.
3. A.PUPPI, I.WITTMANN, M.DELY, Inverse modulation of extracellular Na- and K-activities by ascorbate or methylene blue. Gen. Physiol. Biophys. 1986;5:187-192.
4. A. HOFFMANN-TRAEGER, G.PEIKER, R.GLOECKNER, I.WITTMANN, A.BALOGH, I.HENSCHEL, The influence of phenobarbital on the pharmacokinetics of propranolol in pregnancy. Biol. Res. Pregn. Perinat. 1987;8:57-59.
5. I.WITTMANN, A.PUPPI, M.DELY, Changes in autorhythmic heart frequency elicited by redox agents. Chem.-Biol. Interactions 1987;63:115-125.
6. I.WITTMANN, T.PAST, ZS.TAPSONYI, T.HORVÁTH, T.JÁVOR, In vitro model for measurement of free radical effects: effect of PMS/phenazine methosulfate/ on red blood cell membrane. Acta Physiol. Hung. 1989;73:341-345.

- 7, T.PAST, I.WITTMANN, J.BELÁGYI, T.JÁVOR, Effect of ion milieou to the free radical s generated by phenazine methosulfate /PMS/. Acta Physiol.Hung. 1989:73:347-349.
- 8, T.JÁVOR, T.PAST, L.NAGY, GY.MÓZSIK, I.WITTMANN, Free radicals and their interpretations. Acta. Physiol.Hung. 1989:73:323-330.
- 9, A.PUPPI, I.WITTMANN, M.DEL Y, Redox agents modulate a /K/o changes evoked by acetylcholine and adrenaline in frog heart. Acta Physiol.Hung. 1990:76:1/61-69.
- 10, I.WITTMANN, T.PAST, ZS.TAPSONYI, J.BELÁGYI, T.JÁVOR, Indirecte and directe evidences for three type effect of the phenazine methosulfate on erythrocytes. Pharmacol.Res. 1992:Suppl.2:183.
- 11, B.HUNYADY, CS.HORVÁTH, I.WITTMANN, Hisztamin H2-receptor blokkoló kezelésre nem reagáló fekélybeteg esete. Magyar Belorvosi Arch. 1994:47(4)301-304.
- 12, JNAGY, M.MOLNÁR, I.WITTMANN, Microalbuminuria jelentősége a diabeteses nephropathia korai diagnózisában és kezelésében. Diabetologia Hungarica 1996:1:5-11.
- 13, I.WITTMANN, M.MOLNÁR, JNAGY, A felhítkori diabeteszes nefropátia kezelése. Diabetologia Hungarica 1996(Suppl.II)103-104.
- 14, I.WITTMANN, JNAGY, Are insulin resistance and atherosclerosis the consequences of oxidative stress? Diabetologia 1996:39:1002-1003.

- 15, I.WITTMANN, JNAGY, Effectiveness of phosphorus supplementation in glucose intolerant hypophosphatemic patients. Mineral. Electrol. Metab. 1997:23:62-63.
  - 16, I.WITTMANN, IMAZÁK, L.WAGNER, JNAGY, Possible role of free radicals generated by pseudohypoxia in the regulation of hepatic glucose output. An in vitro model using rat liver microsomal glucose 6-phosphatase. Diabetologia 1997:40:1251-1254.
  - 17, JNAGY, E.G.DEMASTER, I.WITTMANN, P.SCHULTZ, L.RAJI, Induction of endothelial cell injury by cigarette smoke. Endothelium 1997:5:251-263.
  - 18, M.MOLNÁR, I.WITTMANN, IMÓD, Á.VÖRÖS, JNAGY, A diabeteses nephropathia előfordulása, stádiumai és rizikótenyezői NIDDM-ben. Magyar Belorvosi Archivum 1998:51:66-72.
  - 19, JNAGY, I.WITTMANN, L.WAGNER, E.G.DEMASTER, P.SHULTZ, L.RAJI, A cigarettafüstben lévő szabadgyökök okozta endothelsejt károsodás. Magyar Belorvosi Archivum 1998:51:43-49.
  - 20, I.WITTMANN, L.WAGNER, JKÁTYAI, GKASSAI, IMAZÁK, JNAGY, Az inzulin gátló hatása thrombocyták ATP szekréciójára. Magyar Belorvosi Archivum 1998:51:61-65.
- Könyvfejezetek:**
- 1, T.JÁVOR, T.HORVÁTH, I.WITTMANN, S.NAGY, JDELY, E.BALOGH, IKÁDAS, The free radical evoked capacity of hepatotoxic agents /ethanol and carbone tetrachloride/ oxidized by microsomal cytochrome system and the protective effect on these

damages by scavengers in Cytochrome P-450 Biochemistry Biophysics and Induction Eds. L. Vereczkei and K. Magyar, Akadémia Kiadó, Budapest, 1985:67-70.

2. APÁR, T.HORVÁTH, T.BERÓ, IKÁDÁS, F.PAKODI, I.WITTMANN AND T.JÁVOR, Effect of cyanidanol/Catergen/ on hepatic drug biotransformation and elimination in patients with chronic alcoholism and cirrhosis in Cytochrom P-450. Biochemistry Biophysics and Induction. Eds. L.Vereczkei and K.Magyar. Akadémia Kiadó, Budapest, 1985:311-314

3. T.PAST, I.WITTMANN, Á.NAGY, T.HORVÁTH, L.SZABÓ, É.SZABÓ, T. JÁVOR, Heavy metal ions and free radicals. Oxygen Free radicals and Scavengers in the Natural Sciences Eds: Gy. Mózsik, I.Emert, J.Fehér, B.Matkovics, Á.Vincze, Akadémia Kiadó, Budapest, 1993, pp.105-108.

#### Abstractok

1. K.TÓTH, I.WITTMANN, T.PAST, T.JÁVOR, I.JURICKAY, Increase of red blood cell suspension viscosity caused by free radical generator. Biorheology 1989;26:643.

2. I.WITTMANN, A.I.CEDERBAUM, T.PAST, Effect of free radicals on the glucose transport of microsomal glucose-6-phosphatase in rat liver. Diabetologia 1993;36:Suppl.1.:A152.

3. I.WITTMANN, S.KESZTHELYI, L.CZOPF, J.NEMES, GY.MÓZSIK, The inverse relation between serum phosphate and blood glucose in glucose intolerant patients. Z.Gastroenterol. 1994;32:308.

4. I.WITTMANN, JKÁTAI, M.MOLNÁR, J.NAGY, The possible role of nitric oxide in the effect of insulin on the aggregation and adenosine triphosphate release of human platelets. Diabetologia 1996;39(Suppl.1):A139.

5. I.WITTMANN, JKÁTAI, M.MOLNÁR, J.NAGY, The role of inhibition by insulin of aggregation and ATP release of platelets in the prevention of diabetic nephropathy: evidence supporting nitric oxide mediation of the insulin effect on platelet functions. Nephrol Dial Transplant 1996;11:A120.

6. L.WAGNER, I.WITTMANN, T.KÖSZEGI, JKÁTAI, J.NAGY, The possible role of hyperinsulinemia in the development of diabetic nephropathy. Nephrology 1997;3:(Suppl. 1) S259.

7. I.WITTMANN, T.KÖSZEGI, JKÁTAI, L.WAGNER, M.Molnar, J.NAGY, Insulin induced nitric oxide and superoxide free radical production of human platelets. Diabetologia 1997;40:(Suppl.1) A144.

8. M.MOLNÁR, I.WITTMANN, Á.VÖRÖS, J.NAGY, Characteristics of diabetic nephropathy in NIDDM patients. Diabetologia 1997;40:(Suppl.1) A528.

9. I.WITTMANN, J.BELÁGYI, L.PÓTÓ, Z.WAGNER, J.NAGY, Iron catalyzes glycation of L-arginine. Nephrol Dial Transplant 1998;13:A109.

- 10, L. WAGNER, LWITTMANN, JKÁTAI, B. MELEGH, JNAGY, The effect of cigarette smoke on the protein components of endothelial cells. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:A52.
- 11, JKÁTAI, LWITTMANN, L. WAGNER, B. MELEGH, JNAGY, Protein degradation in platelets caused by cigarette smoke. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:A52.
- 12, MMOLNÁR, LWITTMANN, GKASSAI, JNAGY, The prevalence, stages and risk factors of diabetic nephropathy in NIDDM. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:A105.
- 13, LWITTMANN, JBELÁGYI, LPÓTÓ, Z. WAGNER, JNAGY, Glycation of L-arginine is catalyzed by iron and is resulted in free radical production. *Diabetologia* 1998. (in press).