

A hólyagfájdalom szindrómában szenvedő betegek innovatív terápiás lehetőségei

Doktori (PhD) értekezés tézisei



Dr. Horváth Adrienn

Gyógyszerésztudományok Doktori Iskola

Biológiailag aktív anyagok izolálása és vizsgálata program

Doktori iskola vezető: Prof. Dr. Pintér Erika

Program vezető: Prof. Dr. Deli József

Témavezetők: Dr. Horváth Györgyi és Dr. Birinyi Péter

**Pécsi Tudományegyetem
Gyógyszerésztudományi Kar**

Pécs, 2022.

1. Bevezetés

A Hólyagfájdalom szindróma (BPS) más néven az Interstitialis Cystitis (IC), amely egyelőre egy kevésbé ismert betegség, bár nagyon sok embert érint világszerte. A BPS nomenklatúrája az elmúlt évszázadban több változáson is keresztül ment, de az Európai Urológiai Társaságirányelve a BPS kifejezés használatát javasolja. A kórkép gyakori vizeleti panaszokkal és jelentős fájdalommal járó megbetegedés, amely a páciens életminőségét nagymértékben rontja. Diagnosztizálási aránya sajnos igen rossz. A tünetek és a betegség súlyossága stádiumonként változhat. Egyes betegeknél csak enyhe kellemetlen érzés és nyomás van a hólyagban, amihez gyakoribb vizeleti inger társul. Előrehaladott stádiumban, azonban a páciensek nagyon erős fájdalomtól szenvedhetnek, néha akár tartósan is, amit állandó vizeleti inger egészít ki éjjel-nappal. A megfelelő kezelés hiányában a betegség progrediál, évek múltával zsugorhólyag és veseelégtelenség alakul ki. A betegséghez nagyon gyakran társulhat depresszió és a szexuális funkciók károsodása, ami ismét életminőség romlást eredményez a páciensnél. A hólyagfájdalom szindróma kialakulásának pontos oka még ismeretlen, azonban bizonyított a panaszok háttere, amely a hólyaghártya felszíni nyák rétegének elégtelen termelődésével magyarázható. Ez a réteg nem áthatolhatatlan, hanem ép, sérülésmentes állapotában egyensúlyt tart a ki- és beáramló anyagok között. A problémát a glükózaminoglikán-réteg folytonosságának megszűnése okozza a vizeletben található ingerlő anyagokkal szemben. Így kialakul egy krónikus kémiai irritáció és egy nem-bakteriális eredetű gyulladás (steril gyulladás) a hólyagfal rétegeiben. Ezt támasztja alá a BPS-ben szenvedő betegek biopsziás mintáinak elemzése. A barrier elvesztése kórszövettani, génexpressziós és molekuláris változásokhoz kapcsolódik. Erre példa a Hunner-léziókkal rendelkező hólyagok, melyek sugárirányú erezettséget mutatnak, közepén pedig fehér fibrinnel fedett hámszáj, fekélyes területek találhatók. Továbbá ezen léziók diffúz és intenzív gyulladást mutatnak, a gyulladást elősegítő gének túlzott expressziója miatt. Ezek a léziók nem minden esetben vannak jelen a húgyhólyagban, ezért megkülönböztettünk Hunner-léziós BPS-t és Nem-Hunner-léziós BPS-t is. A fájdalmat fokozza a hízósejtek felszaporodása és az általuk termelt hisztamin is. Ezeken a helyeken receptorszám növekedés tapasztalható, a fájdalom-receptorok tartós ingerlése miatt, ami további fájdalom fokozódással jár. Ezen folyamatok következtében az ödémássá vált szövetekbe bevándorolnak a kötőszöveti sejtek, így a hólyag elveszti a rugalmasságát. Ez a folyamat hosszú évek alatt heges zsugorhólyag kialakulásához vezethet.

2. Célkitűzés

- Egy hazai BPS kezelési protokoll kidolgozása. Figyelembe véve a gyógyszeres kezelési, valamint az étkezési szempontokat is.
- A folyamatos fájdalom és az esetleges mellékhatások (pl. reflux) mérséklésére egy káliummentes nyújtott hatóanyagleadású tablettá fejlesztése, amellyel a napi 2x1 dózis biztosítható. Ezzel növelve a beteg adherenciát.
- A húgyhólyagban kialakuló steril, krónikus gyulladás sejtszintű csökkentése érdekében levendula és eukaliptusz illóolajokkal, illetve ezek fő összetevőivel (linalool, eukaliptol) végeztünk T24 hólyagepítél sejtvonalon vizsgálatokat. Célunk volt a gyulladáscsökkentő hatás mértékének meghatározása a gyulladásokeltető interleukinek (IL-1 β , IL-6 és IL-8) mRNS expressziójának változása alapján. Emellett összehasonlítottuk hatékonyságukat az ACHP (2-amino-6-[2-(ciklopropil-metoxi)-6-hidroxifenil]-4-(4-piperidinil)-3-piridin-karbonitril) inhibitorral, egy bizonyított NF κ B-gátlóval. Az mRNS szintek változása mellett fehérjeszinten is megvizsgáltuk a komponensek gyulladáscsökkentő hatását.

3. Vizsgálati anyagok és módszerek

3.1 A BPS kezelési protokoll ajánlás megalkotása a hatályos külföldi társaságok irányelveinek tanulmányozásával

A hólyagfájdalom-szindróma kezelésére kidolgozott protokoll javaslat a nemzetközi ajánlásokon és a hazai tapasztalatokon alapult. Magyarországon jelenleg nincsenek hivatalosan elfogadott szakmai ajánlások a hólyagfájdalom-szindróma kezelésére. A protokollunk megalkotásánál a biztonságos és folyamatos gyógyszerellátás kialakításának érdekében, felkerestünk urológus szakorvosokat és az általa kezelt IC betegek tüneteiről, kezeléséről konzultálva, valamint a betegek gyógyszerelését tanulmányozva, készítettük el ajánlásunkat. Továbbá figyelembe vettük a különböző országok Urológiai Társaságai által közzétett irányelveket is. A BPS terápiájában alkalmazott indikáción túli gyógyszerrendelésekre hatósági engedélyt kértünk (OGYÉI/64008-4/2019). Továbbá, a BPS alaposabb megértése érdekében, hogy milyen tényezők befolyásolják pozitív, illetve negatív irányba a terápia kimenetelét, összeállítottunk egy táplálkozással kapcsolatos kérdőívet. A „Gyógyszerek, gyógyszernek nem minősülő termékek, étkezési és életviteli szokások hatása az interstitialis cystitis (hólyagfájdalom szindróma) tüneteire – kérdőíves felmérés” című kérdőívből nyert adatok a betegellátás színvonalát hivatottak javítani. Az adatokat anonim módon gyűjtöttük és kezeltük. A kérdőívet 246 páciens kapta meg, közülük 126 fő vett részt a felmérésben, 30-99 éves kor között. Az adatgyűjtés 2019 márciusa és

májusa között zajlott. A kérdőív 30 kérdést tartalmazott. A kérdőív egy- és többszörös választási lehetőségű kérdést és néhány rövid kifejtős válaszlehetőséget tartalmaz. A vizsgálatot az Egészségügyi Tudományos Tanács, Tudomány és Kutatásetikai Bizottság 8230-2/2019 számú engedélye alapján végeztük el.

3.2 A káliummentes nyújtott hatóanyagleadású tablettá formulálása

A saját egyedi K⁺-mentes receptúránk hatóanyag tartalmát 60%-ra állítottuk be a tablettá tömegéhez viszonyítva. A tablettá fő hatóanyaga a citromsav, a nátrium-citrát, és a magnézium-citrát volt. A hatóanyagok a homogenizálásuk során eutektikumot képeztek ezért, az egyes hatóanyag komponenseket külön-külön porítottuk dörzsmozsárban a VII. szita finomság eléréséig. Ezt követően adtuk hozzá Aerosil-t részletekben. A homogenizálás után magnézium-sztearát segédanyaggal biztosítottuk a kívánt lubrikáns hatást. Ezekon kívül Avicel DG nevű magas vízmegkötő képességű segédanyagot alkalmaztunk. A felszabadulási sebességet szabályozó anyagként magas viszkozitású Benecel hypromellose grade-eket alkalmaztunk: Benecel K4M PH DC, a Benecel K15M PH DC és a Benecel K100M PH DC-t. Minden esetben öt különböző módon állítottuk össze a tablettá poranyagát, amelyeket különböző vizsgálatoknak vettünk alá.

3.2.1 A granulátumok rheológia mérése

Első lépésként 15 különböző összetételű granulátum folyási tulajdonságait vizsgáltuk meg a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv előírásai szerint. Stampfvoluméterrel meghatároztuk a Hausner faktort és a Carr-indexet. ASTM tölcserő használtunk a kifolyási idő meghatározásához és a lejtőszög kiszámításához.

3.2.2 A tablettá direkt préselése

A száraz granulálással előállított granulátumokat excenteres Korsch-típusú tablettázógéppel tablettáztuk, amihez oblong alakú matricát. A préserő minden esetben 10 kN volt. A tabletták átlagos tömege $643 \pm 2,44$ mg.

3.2.3 A tablettá fizikai vizsgálata

Az így elkészített tablettákat a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv előírásai alapján vizsgáltuk, az alábbiak szerint:

- egyedi és átlagos tömeg meghatározás
- kopási veszteség meghatározása
- törési szilárdság meghatározása
- hatóanyag kioldódás vizsgálata
- hatóanyag-tartalmi meghatározása

vizsgálatban húsz felnőtt: négy férfi és tizenhat nő, terápia naiv betegeket vontunk be. A humán klinikai pilot vizsgálat végpontja a vizelet átlagos pH- értékének meghatározása volt. Arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a nyújtott hatóanyag-leadású citrát tablettának megfelelő-e a lúgosító hatása az azonnali hatóanyag-leadású citrát tablettá és a placebo adagolásával összevetve. A placebo kontrollált, kettős vak klinikai pilot vizsgálat követelményeinek megfelelően a három különböző tablettá azonos megjelenésű és tömegű volt. A betegek frissen kalibrált, digitális, Testo-típusú, hordozható pH-mérőt kaptak és pontos pH-mérési protokollt, ami tartalmazta lépésről-lépésre az utasításokat. Az adatok regisztrálásra kerültek egy kifejezetten a klinikai vizsgálatához tervezett weboldalon. Sürgős kérdések esetén biztosítottuk a telefonos kapcsolatot a klinikai vizsgálatot vezető orvossal. Az adatok statisztikai kiértékelése a Statistica nevű program (TIBCO Software Inc. (2018) Statistica (Data Analysis Software System), 13. verziójával történt.

3.5 Illóolajok gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata T24 hógyagepithel sejtvonalon

3.5.1 Illóolajok beszerzése és törzsoldatok elkészítése

A levendulát elő- (2019. június 20) és utóvirágzásban (2019. július 18) gyűjtöttük be és a PTE GYTK Farmakognóziai Intézetében desztilláltunk belőle illóolajokat. A gyűjtés helye Magyarország, Bolhó. Az illóolajokat a növényből vízgőzdesztillációval vontuk ki, a VIII. Magyar Gyógyszerkönyv ide vonatkozó cikkelye szerint. Az illóolaj mennyiségét volumetrikus módszerrel határoztuk meg. Az eukaliptusz illóolajt az Aromaxtól vásároltuk. A linalool és eukaliptol standardokat a Sigma-Aldrich-től rendeltük meg. Az illóolajok törzsoldatainak elkészítése során az illóolajhoz dimetil-szulfoxidot adtunk. Az emulziókat vortexeltük és hígítottuk foszfát pufferelt sóoldattal. A linalool és eukaliptol standardok törzsoldatait az illóolajokkal azonos módon készítettük el.

3.5.2 Az illóolajok GC-MS analitikája

Az analitikai elemzés előtt az eukaliptusz illóolajat (10 µL) 990 µl n-hexánban (hígítás: 1:100) oldottunk, a levendulaolajokat (10 µl) 990 µl metanolban (hígítás: 1:100) oldottunk, és GC-MS és GC-FID rendszerbe injektáltunk. A levendula illóolaj gázkromatográfiás méréseit az olaszországi Messinai Egyetemen (University of Messina) végezték el. Az eukaliptusz illóolaj gázkromatográfiás mérését a Semmelweis Egyetem Gyógyszerésztudományi Karának Farmakognóziai Intézetében végeztük el.

3.5.3 T24 sejtkultúra és kezelése

A T24 humán hólyag epitélisejteket (HTB-4) McCoy's 5A médiumban tartottuk, amelyet 10% borjú szérummal és 1% penicillinnel/streptomiccinnel egészítettünk ki. A T24 sejteket 6 lyukú lemezekre helyeztük ki és a kezelések előtt 24 órán át tenyésztettük. A gyulladást TNF α kezeléssel indukáltuk és koncentrációját koncentrációfüggőségi kísérletekkel határoztuk meg, majd elemeztük a gyulladáskeltő citokin mRNS expresszióját. Illóolaj/standard kezelések időbeosztásai: a) TNF α előkezelés 24 órán keresztül, majd 6 órás illóolaj/standard kezelés; b) TNF α előkezelés 24 órán keresztül, majd 24 órás illóolaj/standard kezelés; c) TNF α előkezelés 6 órán keresztül, majd 24 órás illóolaj/standard kezelés. Az illóolajokat és a standardokat 500-szoros hígításban alkalmaztuk a citokin-termelésre gyakorolt hatásuk meghatározásához. Minden kísérletben DMSO-val kezelt sejteket használtunk kontrollként. Minden kísérletet 37 °C-on, 5% CO₂-t tartalmazó párásított légkörben.

3.5.4 T24 sejtek viabilitási mérés

A T24 sejteket illóolajokkal/standardokkal kezeltük 200-szoros, 500-szoros, 1000-szeres és 2000-szeres hígításban 6 és 24 órán keresztül. A kezelések után a T24 sejtek életképességét Cell Counting Kit-8 (CCK-8) viabilitási teszttel mértük. A DMSO-val kezelt sejteket az illóolajjal kezelt sejtek kontrolljaként, míg a DMSO sejteletképességre gyakorolt hatását a kezeletlen sejtek kontrolljaként használtuk. A minták abszorbanciáját 450 nm-en határoztuk meg MultiSkan GO microplate spektrofotométerrel. A sejtek életképességét a megfelelő kontroll teljes sejtszámának százalékában fejeztük ki.

3.5.5 Real-Time PCR módszer

A sejt pelleteket tartalmazó mintákat teljes RNS izolálásnak vetettük alá a Quick RNA Mini Kit segítségével. A komplementer DNS-t 200 ng teljes RNS-ből szintetizáltuk a High capacity cDNA Reverse Transcription Kit protokollja szerint. A génexpressziót 20 μ l teljes reakcióterfogóban mértük CFX96 valós idejű PCR rendszerrel iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix segítségével. A relatív mennyiségi meghatározáshoz a Livak (2- $\Delta\Delta$ Ct) módszert használtuk a Bio-Rad CFX Maestro szoftver segítségével. A mintákban kapott génexpressziós szinteket a β -aktin szintjéhez viszonyítva ábrázoltuk.

3.5.6 Humán IL-8 ELISA mérés

A sejtek minden egyes kezelése után a kontroll és a kezelt sejtek felülúszóját összegyűjtöttük, és a mérésekig -80°C-on tároltuk. A felülúszóban lévő szekretált IL-8

koncentrációját humán IL-8 ELISA kit segítségével határoztuk meg a gyártó utasításait követve.

3.5.7 Illóolajok gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálatainál kapott eredmények statisztikai elemzése

A statisztikai elemzést az SPSS szoftver segítségével végeztük. A statisztikai szignifikanciát egyutas ANOVA-val határoztuk meg, amelyet Tukey's HSD post hoc teszt követett. Az adatokat átlag \pm standard eltérés (SD) értékben tüntettük fel. A statisztikai szignifikanciát p -érték $< 0,05$ -nél állapítottuk meg. Minden vizsgálatot három alkalommal ismételtük, egymástól független kísérletekben ($n=3$).

4. Eredmények és következtetések

4.1 Az BPS kezelési protokoll ajánlás megalkotása a meglévő külföldi társaságok irányelveinek tanulmányozásával

4.1.1 A BPS kezelési protokoll

Kezdeti stádiumban enyhe tüneteket mutató betegek esetén javasolható az IC-diéta, bő folyadékfogyasztás és a vizelet lúgosítása, amellyel elérhető a vizeletirritáló hatásainak csökkentése. Ezek mellett szedhetők orális GAG-réteg regeneráló gyógyszerek, mint pl. kondroitin-szulfát és a pentozán-poliszulfát-nátrium-tartalmú készítmények. A kezdeti kezelést, ha szükséges, kiegészíthetjük gyulladáscsökkentők, antihisztaminok és anxiolitikum adásával.

Előrehaladottabb stádiumban, közepesen súlyos panaszok esetében a leghatásosabb a kombinált terápia, amely alatt orális és lokális kezelés egyidejű alkalmazását értjük. A húgyhólyagba intravezikális oldatokat adnak a szakorvosok, amelyek a GAG-réteg fő összetevőit tartalmazzák. A fenti kezeléstől a GAG-réteg regenerálódása és ennek következtében a hólyagfal gyulladásának csökkenése várható.

Súlyos stádiumban vagy a kezelés ellenére romló állapotok szükségessé teszik az érintett területek műtéti eltávolítását: transzuretrális lézerrel vagy elektrkoaguláció által. Végstádiumban zsugorhólyag alakulhat ki. Ilyen esetben végső megoldás már a cystectomy. Amennyiben az oki terápia nem elégséges, akkor tüneti kezelést is kell alkalmazni. Ez alatt erős fájdalomcsillapítókat, antidepresszánsokat, izom relaxánsokat, antihisztaminokat és anxiolitikumokat értünk.

4.1.2 Nemzetközi irányelvek gyógyszeres kezelésének összehasonlítása

A világ vezető urológiai társaságai: az amerikai (AUA), a brit (RCOG), az európai (EAU), a kanadai (CUA) és a japán (JUA) öt fő iránymutatást tettek közzé, amelyek ajánlási fokozatok. A protokollunkban szereplő hatóanyagok áttekintése a következő következtetésekhez vezetett az irányelvek között.

1. Az orális pentozán-poliszulfát az enyhébb tünetek kezelésére ajánlott, mivel erősíti a GAG-ot és csökkenti a sérülést az urothelben. Az irányelvek közül az EAU és a RCOG irányelv szerint A szintű ajánlásba sorolta be a hatóanyagot. B szintűek az AUA és a JUA az erre vonatkozó bizonyítékai. A CUA irányelv bizonyíték szintje D.

2. A heparint is tartalmazza a protokoll javaslatunk. Az EAU irányelvben az intravezikális heparin ajánlása kevésbé ajánlott, mint a RCOG irányelvben (D). Az AUA és a CUA protokollok evidenciái C szintűek, csakúgy, mint a JUA irányelvben.

3. A hialuronsavra vonatkozó ajánlás evidencia szintje nem egyértelmű. A RCOG irányelvben a bizonyíték szintje B és az AUA protokoll pedig nem tartalmazza ezt a hatóanyagot. A JUA és a CUA irányelvben a bizonyíték szintje C. Az általunk ajánlott protokoll azért tartalmazza, mert fontos lehet a GAG-réteg helyreállításában: csökkenti a membrán permeabilitását, ami szükséges a GAG réteg regenerációjához.

4. Az orális és az intravezikális kondroitin-szulfát is benne található a javaslatunkban, mivel a GAG réteg egyik alkotóeleme. Alkalmazását pozitív tapasztalatok igazolják, mert számos készítmény tartalmazza, amelyeket az Egyesült Királyságban és az EU-ban forgalmaznak (pl. Uracyst[®], iAluRil[®]). Az ajánlás szintje azonban szintén nem egységes. Ugyanis az intravezikálisan adott kondroitin-szulfátnak az EAU irányelv ajánlása gyenge és az evidenciája II. szintű. A bizonyítékok szintje a RCOG és a CUA irányelvben D, a japán irányelv C szintű.

4.1.3 A dietetikai kérdőív felmérésének eredményei

A kérdőív dietetikai kérdésére kapott válaszok értékelése után az alábbi eredményeket kaptuk. A betegség nehezen diagnosztizálható volta itt is megmutatkozott, a páciensek 37%-nál csak 4 év után történt meg a diagnózis felállítása, a legszerencsésebb esetekben a betegek 10%-nál már 1 éven belül sikerült. A leggyakoribb panaszok, amellyel felkeresték az orvosukat a betegek: a hólyagtáji fájdalom, gyakori vizelet inger, húgycsőfájdalom, hüvelyfájdalom és a véres vizelet. A betegek által a diagnosztizálás előtt szedett gyógyszerek 60%-ban antibiotikumok voltak. 19%-ban fájdalomcsillapítókat szedtek, és 14%-uk gyógynövény készítményeket használt, illetve ezek kombinációit. A leggyakoribb gyógyszeres kezelési mód, az urológus

rendelése alapján, egy speciális hólyagkóktélnak nevezett intravezikális oldat, amit a megkérdezettek 51%-a kapott. A kezelés további jelentős részét a hatékonyan tartott pentozán-poliszulfátot, valamint nem-szteroid gyulladáscsökkentők, és fájdalomcsillapítók adják. Ezen felül 24%-ban egyéb gyógyszereket is szedtek a betegek, például antibiotikumokat és vizelet lúgosító készítményeket. A felmért betegcsoport több mint 50%-ának volt más krónikus betegsége is. Közülük a legtöbb páciens érinti a magas vérnyomás és a magas koleszterinszint, de sok az allergiás és a refluxo panasz is. A betegek 82%-a megváltoztatta étkezési szokásait, miután betegségét diagnosztizálták. Általában BPS betegeknek javasolt diétákra váltottak. A tejtermékek közül a tej fogyasztását az előírások javasolják. Ezzel szemben a megkérdezett korábbi tejfogyasztók 23%-a már egyáltalán nem fogyaszt tejet. Hasonló csökkenést lehetett megfigyelni a joghurt, túró, tejföl és a hosszú ideig érlelt sajtok esetén is. A kávé, a fekete és a zöld teák és energitalok esetén a betegek többsége a betegség diagnosztizálása előtt rendszeresen fogyasztotta valamelyik terméket. A diagnózis felállítása után ez az érték lecsökkent 21%-ra. Ellenben a koffeinmentes kávé fogyasztása megnőtt 32%-kal. Ezeken túlmenően felmértük még milyen italok fogyasztása fokozta a tüneteket. A páciensek megemlézték még az alkoholos italokat, a narancslét, a feketeribizli-levet és a szénsavas üdítőket. Az alkohol fogyasztási szokásokat illetően a betegek 60%-a válaszolta, hogy nem fogyaszt semmilyen alkoholt. Megkérdeztük a betegek zöldségfogyasztásának szokásait is. Legjelentősebben a paradicsom fogyasztása csökkent (60%-kal) a diagnózist követően. Ezen kívül csökkent még a vöröshagyma, zöldhagyma, bab és a burgonya fogyasztása is. Ezeken felül megemlézték a spenótot, brokkolit és a tököt is a kellemetlen tüneteket fokozó zöldségek között. Néhány közkedvelt gyümölcs (alma, banán, sárgabarack, őszibarack, görögdinnye, fekete áfonya) fogyasztására is rákérdeztünk. A kérdőíves felmérés alapján mindegyik fogyasztása körülbelül a felére csökkent a diagnózist követően. Továbbá néhány beteg szerint a tüneteket fokozzák még a citrusfélék, szőlő, szeder, málna, meggy és a körte is. A nemzetközi ajánlások szerint a csípős és erősen fűszerezett ételek ronthatják a betegek tüneteit. Ennek megfelelően a megkérdezettek többsége (66%) nem is fogyasztja ezeket az ételeket. Betegeink 64%-a szed étrendkiegészítőket és vitaminokat. Gyógynövénykészítményeket 17%-uk használ rendszeresen és 49%-uk csak ritkán. A leggyakoribb gyógynövények a citromfű (37%), a tőzegáfonya (29%) és az orvosi medveszőlő (25%) voltak.

4.2 A káliummentes nyújtott hatóanyagleadású tablettá formulálása

4.2.1 A granulátumok rheológiai és az előzetes hatóanyag-kioldódási vizsgálatok eredményei

A rheológiai eredmények és az előzetes kioldódás mérések alapján csak 3 tablettát vizsgáltunk tovább, amelyek a A/3; a B/3 és a C/3 összetételű tabletták voltak. A kiválasztott granulátumok rheológiai eredményei a következők voltak. Az A/3összetétel esetében a Hausner-faktor 1,15, Carr-index 13,72 és a lejtőszög $43,83^\circ$ volt. A B/3 összetételnél a Hausner-faktor 1,17, Carr-index 15,34 és $45,83^\circ$ -os volt a lejtőszög. A C/3 porkeverékek rheológiai eredményei a következők voltak: Hausner-faktor 1,17, a Carr-index 15,28 és a lejtőszög $44,77^\circ$ volt. Az előzetes hatóanyag-kioldódási vizsgálatot a 7 tablettánál végeztük el három párhuzamos méréssel.

4.2.2 A tabletták fizikai vizsgálata

Az egyedi és az átlagos tömeg meghatározására kapott eredmények megfelelnek a gyógyszerkönyvi előírásoknak. $N = 30$ tabletták esetén a maximális eltérés 5% volt. Hatóanyag-tartalom egységessége: min 372,4 mg; max 422,6 mg; 6 tabletták átlaga: $397,83 \pm 2,99$ mg. A tabletták kopási vesztesége is megfelelő volt. $N = 20$ tabletták esetében $0,88\% \pm 0,01$ volt, ami megfelelt a gyógyszerkönyvi kritériumoknak. A törési szilárdság átlagértéke ($n = 20$ tabletták): $182 N \pm 4,3$.

4.2.3 A tabletták hatóanyag-felszabadulás mérése *in vitro*

Az *in vitro* kioldódási adatainak összehasonlításakor a C/3 minta szabadítja fel hatóanyag-tartalmát a legegyszerűsebben a többi tablettához képest. A citrát-sók átlagosan 28,33%-a oldódott fel 1 óra alatt. Ezt követően a hatóanyag 54,64%-a oldódik fel 3 óra alatt, és 6 óra elteltével a hatóanyag 80,83%-a szabadul fel a mátrix tablettából. A C/3 összetételt páronkénti összehasonlításban hasonlítottuk össze az A/3 és B/3 összetételekkel, a különbözőségi- és hasonlósági tényezőkkel együtt. A hatóanyag-felszabadulás mechanizmusának tisztázása során az elsőrendű modell illeszkedésének determinációs együtthatója a legmagasabb értéket mutatta. Az elsőrendű kinetika alátámasztására az azonnali hatóanyag-leadású tablettához képest a retard tabletták (C/3) felszabadulási sebessége lassabb és egyenletesebb.

4.2.4 A C/3 minta tabletták stabilitási vizsgálata

A tabletták paramétereit illetően 2 év elteltével a következő értékeket mértük. A törési szilárdság átlagértéke: $167,9 N \pm 3,3$. Az átlagos tömege $625,2 \pm 1,4$ mg volt. A kopási vesztesége $1,02\% \pm 0,02$ volt. Ezen eredmények alapján a tabletták átlagos tömege 2,78%-kal, a törési szilárdság pedig 7,75%-kal csökkent. A 24 hónapig tárolt C/3 tabletták hatóanyagának kioldódási profilját összehasonlítottuk a kezdeti oldódási adatokkal. A kioldódási hatékonyság 89,41%-osnak bizonyult. A modellillesztés eredményei még 24

hónap elteltével sem mutattak változást, az elsőrendű felszabadulás modellje a legmagasabb determinációs együtthatóval, azaz $R^2=0,9743$ értékkel rendelkezett. Ezen felül megvizsgáltuk a különbségei és a hasonlósági faktorokat a kioldódás tekintetében. A különbözőségi és a hasonlósági tényező értéke 8,34, illetve 59,94 volt.

4.3 A tablettá hatásosságának vizsgálata kettős vak randomizált placebo kontrollált humán klinikai pilot vizsgálatban

A vizelet pH-értékének heti átlaga nem mutatott szignifikáns különbséget a kimosási időszak és a placebo között. Mind a hagyományos citrát tablettá, mind az nyújtott hatóanyag-leadású citrát tablettá jelentős emelkedést okozott a vizelet pH-jában azokhoz a hetekhez képest, amikor nem adtak aktív lúgosító vegyületeket (kimosás és placebo).

A vizelet pH-értékének heti átlagát megvizsgálva nem mutatott szignifikáns különbséget a káliummentes hagyományos tablettá és a káliummentes nyújtott hatóanyag-leadású tablettá lúgosító hatása. Azonban figyelembe kell venni, hogy a nyújtott hatóanyag-leadású tablettá 22%-kal kevesebb hatóanyagot tartalmazott. Ez az eredmény arra utalhat, hogy a szabályozottan felszabaduló tablettá biológiai hasznosulása hatékonyabb volt.

4.4 Illóolajok gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata T24 hólyagepithel sejtvonalon

4.4.1 Az illóolajok és standardok hatása a T24 sejtek viabilitására

Az eredmények alapján a DMSO nem befolyásolta a sejtek életképességét. A T24 sejtek esetében az életképességben a következő változásokat figyeltük meg. A levendulaolajok és a linalool 200x hígításban nem okoztak csökkenést a sejtek számában 6 óra alatt. A 24 órás kezelések során a linalool erősen toxikusnak bizonyult a sejtekre, míg a levendulaolajok csak enyhe toxicitást okoztak. Az 500-szoros, 1000-szeres és 2000-szeres hígításban a sejtek életképességét már nem befolyásolta jelentősen sem a linalool, sem a levendulaolajok 6 és 24 órás vizsgálata során. Az eukaliptuszolaj és az eukaliptol esetében egyik vizsgálti anyag sem volt toxikus a sejtekre 6 órás kezelések során egyik hígításban sem. A toxicitást csak a 24 órás vizsgálatokban mértük, az 500-szoros hígítás volt a legkevésbé káros a sejtekre.

4.4.2 A levendula illóolajok és a linalool hatása az IL-1 β , IL-6 és IL-8 mRNS expressziójára és szekréciójára TNF α előkezelést követően.

Az IL-8 mRNS expressziójánál szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető minden levendula illóolajok és a linalool kezelés esetén. Rövid TNF α előkezelésnél (6 óra) a linalool standard hatékonyabbnak bizonyult, mint az illóolajok. A 24 órás TNF α előkezelést követő 6 órás kezelésnél a levendula utóvirágzásból desztillált illóolaj bizonyult a leghatékonyabbnak. A hosszú távú (24 órás) kezelés hatása 24 órás TNF α előkezelés után azonban nem volt

kiemelkedő változás az anyagok között. Az IL-6 citokint nézve a leghatékonyabb kezelés a 6 órás TNF α előkezelést követő 24 órás illóolaj kezelés volt. A levendula utóvirágzásból desztillált illóolajnak volt a legjobb a gyulladáscsökkentő hatása. A 24 órás TNF α előkezelés után történő 6 órás kezelés csak a linalool esetében volt sikeres. A 24 órás TNF α előkezelés utáni expresszió csökkenése azonban a 24 órás kezelésnél már megfigyelhető volt, itt is a legkifejezettebb hatás ismét a linaloolnál tudtuk kimutatni. Az IL-1 β mRNS-expresszió csökkenését a 6 órás TNF α -előkezelés után levő 24 órás kezelést követően figyeltük meg a linalool standarddal és a levendula utóvirágzásából nyert illóolajjal való kezelése során. A levendula elővirágzásából desztillált illóolaj használata nem volt hatékony az IL-1 β esetében. A 24 órás TNF α előkezelést követő rövid kezelés (6 óra) esetén az utóvirágzásból nyert illóolajnál mértük a legnagyobb expressziós változást. A linalool standard viszont itt bizonyult a legkevésbé hatékonynak. A 6 órás kezeléssel ellentétben a 24 órás előkezelést követő 24 órás kezelésnél más eredmények voltak megfigyelhetők. Az IL-1 β expressziójának legnagyobb mértékű csökkenését a linalool standardnál kaptuk, valamint a rövid kezelés után leghatékonyabbnak bizonyuló (levendula utóvirágzás) olaj 24 óra után már nem produkált megfelelő hatást.

4.4.3 Az eukaliptusz illóolaj és az eukaliptol hatása az IL-1 β , IL-6 és IL-8 mRNS expressziójára és szekrúciójára TNF α előkezelést követően.

Az IL-8 kemokin expressziójának változása a következőképpen alakult. A 6 órás TNF α előkezelést követően végzett 24 órás kezelése során az eukaliptusz olaj hatékonyabbnak mutatkozott a standardnál. A 24 órás TNF α előkezelést követően végzett rövid kezelésnél az eukaliptol standard jobbnak bizonyult az eukaliptusz olajnál, míg a 24 órás kezelése során az illóolaj mutatkozott hatékonyabbnak. Az IL-6 expresszió változását tekintve az eukaliptusz olaj 6 órás TNF α előkezelést követő 24 órás kezelése során jobban csökkentette az IL-6 expresszióját. Hasonló eredményt kaptunk a 24 órás TNF α előkezelést követő 6 órás kezelés esetében is. Csak 24 órás kezelés után mutatott nagyobb hatékonyságot az eukaliptol az illóolajjal szemben. Az IL-1 β mRNS-expressziójának változása a 6 órás TNF α előkezelést követően végzett 24 órás kezeléseknél szintén az eukaliptusz olajnak mutatkozott meg kifejezettebben a hatása, ahogy a másik három vizsgált citokin esetében is ez volt megfigyelhető. Mind a 6 órás, mind a 24 órás TNF α előkezelést követően történő 24 órás kezelése során azonban az eukaliptol standard volt hatékonyabb.

4.4.4 A levendulaolajok és a linalool hatásának összehasonlítása az ACHP-kezeléssel

A levendula illóolajok és fő komponensük hatékonyságának bizonyítására a 3 kezelési módot összehasonlítottuk az NF κ B-gátló ACHP hatásával. A TNF α 24 órás előkezelés után az IL-6 mRNS expressziója 6 órás ACHP-kezelés hatására csökkent legjelentősebben. Az IL-8 mRNS expresszióját tekintve az utóvirágzásból származó illóolajjal történő kezelés volt a leghatásosabb, jobb eredményt mutatott, mint az ACHP inhibitoros kezelés. Az IL-1 β esetében is az ACHP kezelés után kaptuk a legnagyobb expresszió csökkenést, ezt követte hatékonyságilag az utóvirágzásból származó illóolaj. A 6 órás TNF α előkezelést követő 24 órás ACHP-kezelés tekintetében ismét a legjelentősebben az IL-6 expresszióját csökkentette. Az ACHP kezeléshez képest jobb eredményeket kaptunk az IL-8 esetében a linalool és az utóvirágzásból desztillált illóolaj alkalmazásával. Az IL-6 expresszó csökkenését vizsgálva az utóvirágzásból származó illóolaj hatékonyabbnak bizonyult, mint az ACHP-kezelés. Az IL-1 β nézve az mRNS-expresszió változása az IL-8-at követi, a linalool és az utóvirágzásból származó illóolaj hatása kedvezőbb volt, mint az ACHP-gátló kezelés. A 24 órás TNF α előkezelés és a 24 órás ACHP-kezelés során az IL-6 és az IL-8 expressziója közel azonos mértékben csökkent. Az ACHP-kezelésnél hatékonyabb eredményt ebben az esetben sehol sem kaptunk.

4.4.5 Az eukaliptusz olaj és az eukaliptol hatásának összehasonlítása az ACHP-kezeléssel

A DMSO-kontrollhoz képest az ACHP NF κ B-inhibitor szignifikánsan csökkentette az összes vizsgált citokin expresszióját. A 24 órás TNF α előkezelést és 6 órás ACHP-kezelést IL-6 expresszióját csökkentette a legjobban, majd az IL-8-at és az IL-1 β -ét. Sem az eukaliptuszolaj, sem az eukaliptol nem volt hatékonyabb az inhibitoros kezelésnél egyik citokin esetében sem. Az illóolajat és az eukaliptolt összehasonlítva az IL-8 esetében az olaj mutatkozott hatásosabbnak, viszont az IL-6 és IL-1 β -nál az eukaliptol volt az eredményesebb. A 6 órás TNF α -előkezelés után történő 24 órás kezeléseknél ismét az IL-6-nál tapasztaltuk a legnagyobb expresszió csökkenést, amelyet az IL-8 és az IL-1 β követett. Az ACHP-nál hatékonyabb kezelést az eukaliptusz olaj alkalmazása után kaptunk mind az IL-8, mind az IL-6 esetében. 24 órás TNF α előkezelés követően alkalmazott 24 órás ACHP kezeléseknél az IL-8 és az IL-6 expressziójának közel azonos mértékű csökkenése volt megfigyelhető. Az IL-8 és IL-6 esetében az eukaliptusz olaj mutatkozott hatásosabbnak, míg az IL-1 β esetében sokkal kisebb volt az expresszió csökkenés a kontrollhoz képest és az eukaliptol volt a hatásosabb.

4.4.6 Humán IL-8 ELISA mérés

A vizsgált illóolajok és fő vegyületeik legígéretesebb gátló hatását az IL-8 kemokin esetében mértük. Az így kapott eredmények szignifikáns csökkenést mutattak a rövid távú TNF α előkezelés után 24 órával és a hosszú távú TNF α előkezelés után is az ACHP inhibitor kezelés hatására. A levendula illóolajok szignifikánsan csökkentették az IL-8 fehérje szintjét 24 órával 6 órás TNF α előkezelés után. Sőt, a levendula elővirágzásból származó illóolaj mutatkozott a leghatékonyabbnak, összehasonlítva ugyanezen kezelésmenetű linaloolal és az utóvirágzásból származó levendula illóolajjal. A mért eredményt összevetve az ACHP inhibitoros kezeléssel, szignifikánsan hatékonyabbnak bizonyult a levendula elővirágzásból származó illóolaj. Az eukaliptusz illóolaj és az eukaliptol standard kezeléseket esetében a 24 órás TNF α előkezelés után történő 24 órás kezelésnél volt mérhető csökkenés.

5. Összefoglalás és új következtetések

Munkánk során arra fókuszáltunk, hogy a legnagyobb teljességgel ismertessük a hólyagfájdalom szindróma betegséggel kapcsolatos jelenlegi információkat, az elérhető terápiákat, valamint célunk volt a fejlesztéseinkkel a hiányos terápiás területekre megoldást találni. A hólyagfájdalom szindróma egy kevésbé ismert, nehezen diagnosztizálható betegség, amely valószínűleg nagyon sok embert érint világszerte. A betegség hátterében a felszíni nyák rétegének elégtelen termelődése áll. A legnagyobb részt glükózaminoglikán molekulákból álló réteg hiánya esetén a vizeletben lévő anyagok irritációt váltanak ki, amely jelentős életminőségbeli romlást okoz a betegnek (gyakori vizelési inger, vizeléskor erős fájdalom stb.) Ezért célul tűztük ki, hogy átfogóan tanulmányozzuk a betegséget és komplex módon segítjük a hólyagfájdalom szindrómában szenvedő betegek egészségügyi ellátását. Munkánk során az alábbi eredményeket értük el:

1. Elkészítettük a hólyagfájdalom szindrómában szenvedő betegek gyógyszeres kezelési és étkezési protokollját. Szükség esetén OGYÉI engedélyt kérve az indikáción túli gyógyszerrendelésre.
2. Létrehoztunk egy új innovatív tablettát. Ez a készítmény káliummentes, amely nem irritálja a húgyhólyag nyálkahártyáját. A nyújtott hatóanyagleadásnak köszönhetően pedig folyamatosan biztosított a vizelet kémhatásának lúgosítása. A kettős vak, placebo kontrollált, randomizált pilot vizsgálat pedig egyértelműen bizonyította, hogy innovatív készítményünk szignifikáns módon emeli a vizelet pH értékét a kontroll csoporthoz képest.
3. Steril gyulladássos T24 humán uroepithel modellben a levendula illóolajok hatékonyabbnak bizonyultak, mint az eukaliptusz illóolaj. Továbbá arra a következtetésre

jutottunk a T24 sejtek által szekretált IL-8 proinflammatorikus citokin mennyisége alapján, hogy a levendula illóolajok hatékonyabbak voltak, mint az ACHP inhibitorral történő kezelés. A két levendula illóolajt egymással összehasonlítva a virágzási időszak elején gyűjtött és desztillált levendula illóolaj volt a hatékonyabb az utóvirágzásból nyert illóolajnál.

Összefoglalásként megállapíthatjuk, hogy a hólyagfájdalom szindrómában szenvedő betegek egészségügyi ellátásában jelentős eredményeket értünk el. A gyógyszeres kezelési és étkezési protokollunkat már több urológus szakorvos alkalmazza Magyarországon kiváló eredményekkel. Protokollunk könnyebb tüneti felismerést és gyógyszeres terápia átláthatóságot biztosít. A dietetikai javaslatunk nagymértékben hozzájárul a betegek fájdalomérzetének csökkenéséhez és ezáltal életminőségük javulásához is. Innovatív, nyújtott hatóanyagleadású készítményünkkel hatékonyan tudjuk a vizelet pH értékét emelni, ezáltal pedig bizonyított módon csillapítjuk a hólyagfájdalom szindrómában szenvedő betegek tüneteit (vizeleti fájdalom, vizeleti inger stb.). Az elsőrendű hatóanyag kioldódásnak köszönhetően pedig elégségesnek bizonyult a napi 2x dozírozás, amely hozzájárul a betegek adherenciájának hatékony növeléséhez. A pH semleges vizelet elérése és szinten tartása céljából a napi dózis megemelését javasoljuk 2x2-re. Ezzel biztosítva a hatékonyabb terápiát, amellyel a hólyagfájdalom szindrómában szenvedő betegek teljes tünetmentessége is elérhető lehetne. A tableta 2 éves stabilitási vizsgálatai alapján pedig kijelenthetjük, hogy készítményünk stabilnak tekinthető, megfelel az előírt követelményeknek. Az újonnan fejlesztett készítményünk jelenleg hazai gyógyszergyártás alatt van. Kutatásunk kiterjedt a levendula és az eukaliptusz illóolajok és fő összetevőik gyulladáscsökkentő hatásának a vizsgálatra is steril gyulladással modellben T24 humán uroepithel sejtvonalon. Az itt kapott eredményeink konklúzióját a 3. pont tartalmazza, amely alapján a levendula illóolajok megfelelő formulálás után alkalmasak lehetnek az intravezikális terápia kiegészítőjeként való alkalmazásra, mivel a gyulladáscsökkentő hatásuk jól kiegészítheti a GAG-regeneratív terápiát a hólyagban.

6. Publikációk

6.1. A doktori értekezés alapját képező publikációk

Adrienn Horváth, Gábor Vasvári, Sándor Lovász, Györgyi Horváth, Péter Birinyi: Formulation and examination of a new urine alkalizing tablet for the symptomatic treatment of bladder pain syndrome. *Journal Of Drug Delivery Science and Technology* **2022**, 74, 103537
IF: 5,062 DOI: 10.1016/j.jddst.2022.103537

Adrienn Horváth, Edina Pandur, Katalin Sipos, Giuseppe Micalizzi, Luigi Mondello, Andrea Böszörményi, Péter Birinyi, Györgyi Horváth: Anti-inflammatory effects of lavender and eucalyptus essential oils on the in vitro cell culture model of bladder pain syndrome using T24 cell. *BMC Complementary Medicine and Therapies* **2022**, 22 (1) 119.
IF: 2,838 DOI:10.1186/s12906-022-03604-2.

ΣIF: 7,9

6.2. Egyéb, a disszertációhoz fel nem használt publikációk

Edina Pandur, Giuseppe Micalizzi, Luigi Mondello, **Adrienn Horváth**, Katalin Sipos, Györgyi Horváth: Antioxidant and anti-inflammatory effects of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils prepared at different plant phenophases on *Pseudomonas aeruginosa* LPS activated THP-1 macrophages. *Antioxidants* **2022**,
IF: 7,675 DOI: 10.3390/antiox11071330

Edina Pandur, Alex Balatinácz, Giuseppe Micalizzi, Luigi Mondello, **Adrienn Horváth**, Katalin Sipos, Györgyi Horváth: Anti-inflammatory effect of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) essential oil prepared during different plant phenophases on THP-1 macrophages. *BMC Complementary Medicine and Therapies* **2021**, 21 (1) 287.
IF: 2,838 DOI: 10.1186/s12906-021-03461-5.

Eszter Csikós, **Adrienn Horváth**, Kamilla Ács, Nóra Papp, Viktória Lilla Balázs, Marija Sollner Dolenc, Maša Kenda, Nina Kočevar Glavač, Milan Nagy, Michele Protti, Laura Mercolini, Györgyi Horváth, Ágnes Farkas: Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia by Natural Drugs. *Molecules* **2021**, 26 (23):7141.
IF: 4,927 DOI: 10.3390/molecules26237141.

Györgyi Horváth, **Adrienn Horváth**, Gréta Reichert, Andrea Böszörményi, Katalin Sipos, Edina Pandur: Three chemotypes of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and their main compounds affect differently the IL-6 and TNF α cytokine secretions of BV-2 microglia by modulating the NF- κ B and C/EBP β signalling pathways. **2021**, 21 (1):148.
IF: 2,838 DOI: 10.1186/s12906-021-03319-w.

Horváth Adrienn, Birinyi Péter: Magisztrális gyógyszerkészítés a Wilson kór terápiájában-retrospektív vizsgálat. *GYÓGYSZERÉSZET* **2022** (elfogadva)

Horváth Adrienn, Birinyi Péter: Allergénspecifikus immunterápia. *GYEREKORVOS TOVÁBBKÉPZÉS* (1589-0309) **2021**, 20 (3.): 145-149

Horváth Adrienn, Ács Kamilla: Fototerápia helyzete, elfogadottsága, az orvosi alkalmazása Európában és Magyarországon. *Terápia Natura* **2020**, ősz, 15-16

Birinyi Péter, **Horváth Adrienn**: A helyes vitamin-, nyomelem- és ásványianyag-bevitel a várandósoknál. *GYÓGYSZERÉSZET* **2019**, 63, 716-722.

Birinyi Péter, **Horváth Adrienn**: A várandósgondozásról-2: Táplálkozási ajánlások várandósoknak. *GYÓGYSZERÉSZET* **2019**, 63, 609-612

Birinyi Péter, **Horváth Adrienn**: A várandósgondozásról-1: Teratogén és fetotoxikus gyógyszerek. *GYÓGYSZERÉSZET* **2019**, 63, 601-608

ΣIF:26,178

7. Konferencia közlemények

7.1 Doktori értekezés alapját képező előadás absztraktok

Horváth Adrienn, Birinyi Péter: Advanced pharmaceutical care for interstitial cystitis. Congressus Pharmaceuticus Hungaricus XVI. Debrecen, Hungary, 10-12 September 2020
ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA **2020**, 90, 60-60

7.2 Doktori értekezés alapját képező poszter prezentációs absztraktok

Horváth Adrienn, Pandur Edina, Sipos Katalin, Horváth Györgyi: Levendula és eukaliptusz illóolajok gyulladáscsökkentő hatásának vizsgálata hólyagfájdalom szindróma in vitro sejt kultúrás modelljében, T24 sejteken. XXV. Tavaszi Szél Konferencia, Pécs, **2022.05.06-05.08.**

7.3 Egyéb poszter prezentációs absztraktok

Horváth Adrienn, Pandur Edina, Jánosa Gergely, Pap Ramóna, Sipos Katalin: Interaction of dithiothreitol-induced unfolded protein response and vitamin D in a neuronal cell model. Annual Meeting of the Hungarian Biochemical Society, 25-27 August, 2022, Pécs Hungary

Jánosa Gergely, Pandur Edina, Pap Ramóna, **Horváth Adrienn**, Sipos Katalin: A D-vitamin selejtfehérje válasza (unfolded protein response) gyakorolt hatása az idegrendszer vonatkozásában. XXV. Tavaszi Szél Konferencia. Pécs, **2022.05.06-05.08.**

Böszörményi Andrea, Szögi-Tatár Bernadett, **Horváth Adrienn**, Balázs Viktória Lilla, Kovács Judit, Schneider György, Horváth Györgyi: 100%-ban tiszta és természetes: Mi rejlik egy illóolajos üvegben? METT25 a Magyar Elvásztástudományi Társaság jubileumi konferenciája. Egerszalók, **2021.10.18.-2021.10.20.** Magyar Elvásztástudományi Társaság: P-08. (2021). ISBN: 9786155270666

Birinyi Péter, Tinta Anikó, Árvai István, Hubay Zsuzsa, Vukmann Nikolett, **Horváth Adrienn**: Drug developments for rare diseases. Hungaricus XVI. Debrecen, Hungary, 10-12 September 2020
ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA **2020**, 90, 48-49

8. Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretném megköszönni témavezetőimnek Dr. Horváth Györgyinek és Dr. Birinyi Péternek a támogatásukat, szakértelmüket és töretlen biztatásukat egész PhD munkám során. Köszönöm a bizalmukat, amelyben részesítettek PhD hallgatójukként.

Külön köszönettel tartozom Prof. Dr. Deli Józsefnek a Gyógyszerésztudományok Doktori Iskola, „Biológiailag aktív anyagok izolálása és vizsgálata” c. programjának vezetőjének, aki kutatómunkám során végig támogattott. Szeretném megköszönni Dr. Sipos Katalinnak és Dr. Pandur Edinának, akik lehetővé tették és támogattak, hogy elsajátíthassam a kutatómunkámhoz nélkülözhetetlen molekuláris sejtbiológiai kutatási módszereket. Köszönettel tartozom Dr. Bencsik Tímeának, aki segítette és figyelemmel kísérte a kutatómunkámat a PhD hallgató első éveimben.

Ezúton szeretném megköszönni minden kollégámnak a töretlen támogatását az évek alatt. Köszönöm Dr. Böszörményi Andreának az eukaliptusz illóolajának GC analízisét (Semmelweis Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Farmakognóziai Intézet), illetve Dr. Giuseppe Micalizzi-nek és Prof. Luigi Mondello-nak (Department of Chemical, Biological, Pharmaceutical and Environmental Sciences, University of Messina) a levendula illóolajok GC vizsgálatát. Köszönöm Dr. Vasvári Gábornak (Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszertechnológiai Intézet) a tableta kioldódási számolásoknál nyújtott segítségét. Valamint köszönöm az urológus kollégáknak, hogy megosztották velünk a tapasztalataikat, ezzel segítve munkánkat.

Végezetül nagy hálával tartozom családomnak és barátaimnak, akik végig támogattak és lelkesítettek. Külön köszönet illeti a szüleimet, akik erkölcsi és anyagi támogatással végig segítettek tanulmányaimon, illetve szeretném megköszönni páromnak a feltétel nélküli támogatását, a végtelen türelmét és biztatását.