A PROTEINÁZ-AKTIVÁLT RECEPTOR-4 VISZCERÁLIS ANTINOCICEPTÍV ÉS PROINFLAMMATORIKUS HATÁSAI ÉS SZEREPE A COLITIS ULCEROSA PATOGENEZISÉBEN

Ph.D. értekezés tézisei

Dr. Annaházi Anita

SZTE I. Belgyógyászati Klinika

Szeged

2012

1. BEVEZETÉS

A colitis ulcerosa (CU) és a Crohn-betegség (CD) krónikus gyulladásos bélbetegségek, melyek mintegy 2,2 millió embert érintenek Európában. Az utóbbi években egyre több a bizonyíték, hogy genetikai tényezőkön túl luminális faktorok is szerepet játszanak a vastagbélgyulladás kiváltásában, különösen CU esetén. A megváltozott tight junction működés kimutatható a colon epitheliumban aktív CD esetében, míg inaktív Crohn-betegekben a fokozott intestinális permeabilitás előre jelzi a relapszusokat. CU betegekben bizonyították, hogy a kórkép súlyossága korrelál az intesztinális permeabilitásfokozódással, és a megfelelő kezelés helyreállítja a bélpermeabilitást ezen betegcsoportban. A fokozott bélpermeabilitás segítheti a luminális komponensek, így a baktériumok penetrációját a mucosába, majd az ezekre adott abnormális immunválasz neutrophil granulocyta infiltrációhoz és citokin-vezérelt gyulladáshoz vezet.

A CU akut fázisára jellemző a colon mucosa károsodása és a leukocyták, köztük nagyszámú neutrophil granulocyta jelenléte a szövetsérülés helyén. A cathepsin-G (Cat-G) egy szerin-proteáz, mely a neutrophil granulocyták azurophil granulumainak kb. 20%-át tölti ki, és aktiválni képes a proteináz aktivált receptor (PAR)-4-et. A PAR-ok olyan 7-transzmembrán G-protein-kapcsolt receptorok, melyeket a szerin-proteázok az N-terminális domén hasítása révén aktiválnak, és fontos szerepet játszanak a gasztrointesztinális élettanban és kórélettanban. Jelenleg négyféle PAR ismert, a PAR-1, 2, 3 és 4, melyek ligandprofilja különböző: a PAR-1, 3 és 4 trombin receptorok, míg a PAR-2-t és 4-et a tripszin aktiválja. A PAR-1-et, 2-t és 4-et szintetikus, ún. aktiváló peptidek (PAR-AP) is működésbe hozzák. A PAR-2 aktiváció fokozza patkányban a vastagbél permeábilitását és gyulladást provokál, valamint CU betegek colon biopsziáiban expressziója fokozott a kontrollokéhoz viszonyítva. A PAR-4 patkány vastagbélben kimutathatóan jelen van, és friss eredmények alapján CU betegekből származó magas Cat-G tartalmú széklet felülúszó fokozza a vastagbél permeábilitást egérben *in vitro* és PAR-4 mediálta bélgyulladást provokál *in vivo*.

A hasi fájdalom és diszkomfort mind IBS-ben, mind IBD-ben szenvedő betegek jellemző tünete. A ballondisztenzióval kimutatott rectalis mechanikus hiperszenzitivitás IBS-ben szenvedő betegeken 1973 óta ismert. Az utóbbi évtizedben azonban kiderült, hogy az IBD-ben szenvedőknél rectalis hiperszenzivitás nincs jelen. A PAR-ok a zsigeri fájdalom

kiváltásának mechanizmusában is szerepet játszanak, és a közelmúltban kimutatták, hogy a PAR-2 agonista vastagbélbe történő infúziója *(ic.)* a bél disztenziója által kiváltott colorectális hiperszenzitivitást provokál patkányban. Kezdeti klinikai eredmények alapján az emelkedett luminalis szerin-proteáz aktivitás szerepet játszhat a diarrhea-predomináns irritábilis bél szindróma (IBS-D) pathogenezisében: IBS-D-ben szenvedő betegek széklet felülúszója egérbélbe infundálva hiperszenzitivitást eredményez a PAR-2 aktivációja révén. Ugyanakkor más PAR-ok ellentétes hatásúak, pl. a PAR-1 vagy PAR-4 agonista intraplantáris injekciója analgetikus hatású mind mechanikus, mind termális stimulusokra. A PAR-4-et a colon epithelium mellett hátsó gyöki ganglion neuronokban (DRG) is kimutatták, ahol aktivációja feltehetőleg gátolja a nociceptív jelátvitelt. A PAR-ok az immunrendszer számos sejtjén megtalálhatóak, ahol aktivációjuk befolyásolja a citokinek felszabadulását, így szerepet játszhatnak a viszcerális szenzitivitás modulálásában.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1) A Cat-G és proteáz aktivitás mérése CU és IBS-D betegek és egészséges kontroll személyek székletében.
2) Annak vizsgálata, hogy az CU betegek széklet felülúszója megváltoztatja-e a vastagbél paracelluláris permeábilitását egérben *in vivo*, és hogy ez a hatás Cat-G vagy PAR-4-agonista adásával reprodukálható-e.
3) Annak tisztázása, hogy az CU betegekből származó széklet felülúszó, a PAR-4-agonista vagy a Cat-G képes-e vastagbélgyulladást kiváltani egér modellben.
4) A myosin-könnyűlánc-kináz (MLCK) aktiváció szerepének vizsgálata a CU betegek széklet felülúszójának vastagbél permeábilitásra és gyulladásra kifejtett hatásában.
5) Annak vizsgálata, hogy a CU betegek széklet felülúszója befolyásolja-e a colorectalis mechanikai szenzitivitást egérben, és ez a hatás Cat-G vagy PAR-4-agonista adásával reprodukálható-e. A fenti mechanizmusban részt vevő receptorok lokalizálása.
6) Annak vizsgálata, hogy a PAR-4 szerepet játszik-e az IBS-D-ben szenvedő betegektől származó széklet felülúszó *ic.* infúziója által kiváltott viszcerális hiperszenzitivitásban, és ez a hiperszenzitivitás ellensúlyozható-e Cat-G-vel történő PAR-4 aktivációval.
7) A PAR-4-agonista hatásának vizsgálata két viszcerális hyperszenzitivitás modellben egérben: gyulladásos (2,4,6-trinitrobenzén szulfonsav, TNBS) és nem gyulladásos körülmények között (water avoidance stress, WAS) egyaránt.

3. MÓDSZEREK

Humán vizsgálatok

CU (férfi/nő: 13/10, átlagéletkor: 44 év) és IBS-D betegek (férfi/nő: 3/8, átlagéletkor: 53 év) illetve egészséges önkéntesek (férfi/nő: 4/7, átlagéletkor: 44 év) székletmintáinak vizsgálata történt. A széklet felülúszók teljes szerin-proteáz és Cat-G aktivitását mértük enzimatikus módszerrel.

CU betegektől származó széklet felülúszó hatása a colon permeabilitására és gyulladására

A további kísérletek egérmodellben történtek. A CU betegek széklet felülúszójának (előkezeletlen vagy specifikus Cat-G inhibitorral előkezelt formában), PAR-4 aktiváló peptid (PAR-4-AP, AYPGKF-NH_2) vagy Cat-G colonba történő perfúzióját követően a colon myeloperoxidáz (MPO) aktivitását és a vastagbél paracelluláris permeábilitását mértük. A myozin könnyűlánc-kináz (MLCK) pathogenetikai szerepének vizsgálatára az MLCK specifikus inhibitorát, ML-7-et használtunk. A vastagbél paracelluláris permeábilitásának mérését ^{51}Cr-EDTA-val végeztük.

CU és IBS-D betegektől származó széklet felülúszó hatása a viszcerális szenzitivitásra

A viszcerális hiperszenzitivitás indikátoraként colorectalis ballondisztenzióra (CRD) kialakult EMG választ detektáltunk a hasfalban rögzített elektródok segítségével a következő oldatok intracolonikus *(ic.)* infúzióját követően*:* UC, IBS-D betegek és kontroll egyének széklet felülúszója, PAR-4-AP vagy Cat-G. A nociceptív választ CU betegek széklet felülúszójának pepducin (PAR-4-antagonista, P4pal-10) előkezelését illetve antiproteázokkal vagy Cat-G inhibitorral történő preinkubációt követően is vizsgáltuk.

A PAR-4 hatásmechanizmusának vizsgálata a viszcerális szenzitivitásra élettani körülmények között és két különböző hiperszenzivitási modellben

Az egerek PAR-4-AP-vel vagy oldószerével intraperitonális (*ip.)* illetve *ic.* előkezelést kaptak a CRD-t megelőzően. Egy másik csoport esetében a PAR-4-AP *ic.* infúzióját 2,4,6-triaminopyrimidinnel (TAP), egy kémiai tight junction blokkolóval vagy vivőanyagával kombináltuk. SCID egereket vizsgáltunk a lymphocyták szerepének tisztázására az antihyperalgesiás effektus kialakulásában. PAR-4-AP (*ic.)* és PAR-4-antagonista (*ip.)* hatását teszteltük kétféle viszcerális hiperszenzitivitási modellben, stress (WAS) modellben és enyhe akut TNBS colitis modellben, miközben mértük a széklet Cat-G aktivitását. A spinális neuronaktivációt kimutató Fos protein expressziót immunohisztokémiai vizsgálattal detektáltuk CRD-t követően oldószerrel vagy PAR-4-AP-vel *ic.* előkezelt állatokban.

5. EREDMÉNYEK

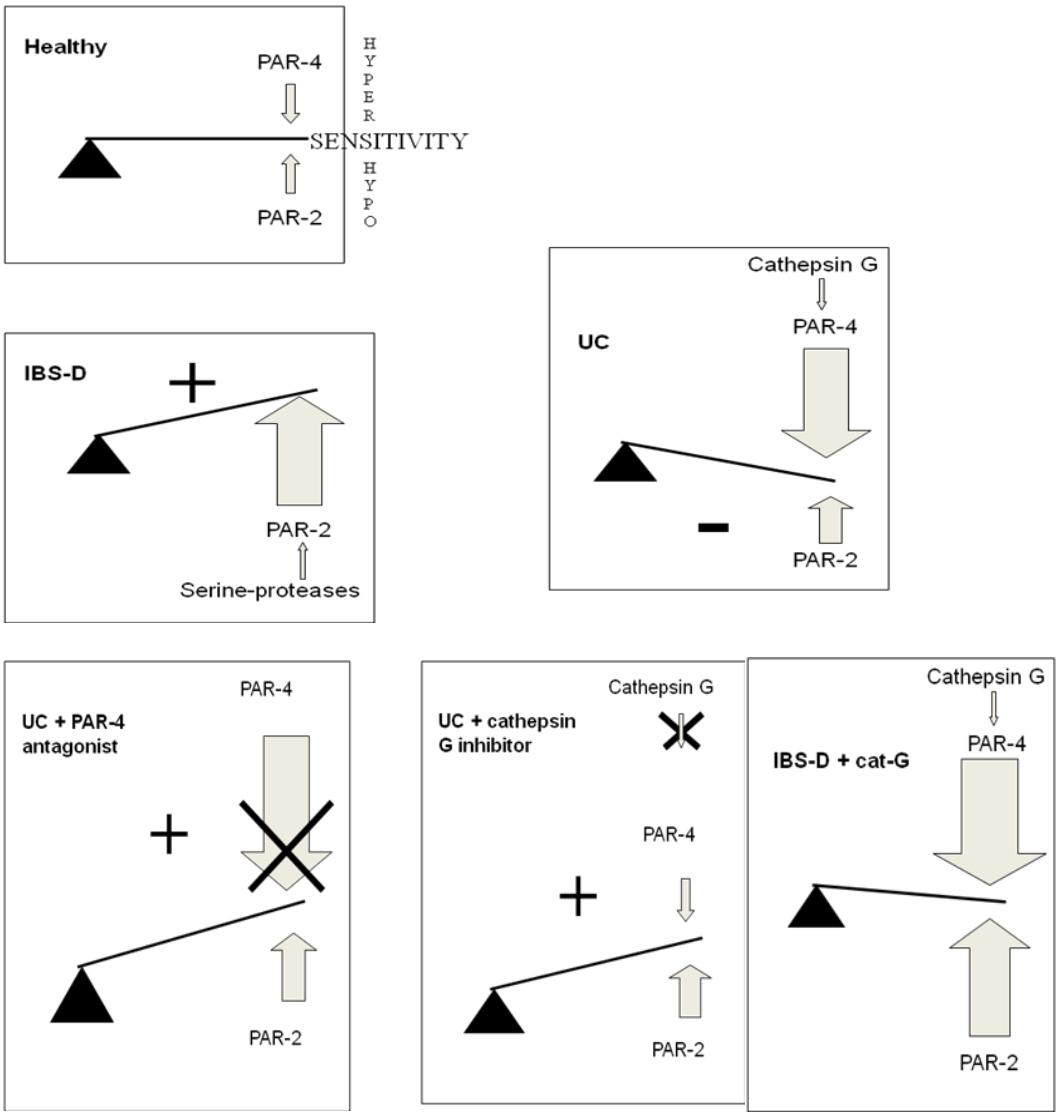
A széklet szerin-proteáz aktivitása emelkedett CU és IBS-D betegekben a kontroll csoporthoz viszonyítva. A Cat-G aktivitás csak a CU betegek székletmintáiban emelkedett, IBS-D esetében nem. CU betegek széklet felülúszója, a Cat-G és a PAR-4-AP egyaránt fokozza a vastagbél paracelluláris permeabilitását és MPO aktivitását egér modellben. A Cat-G által triggerelt paracelluláris permeabilitás fokozódás blokkolható ML-7 adásával, továbbá a Cat-G által fokozott MPO aktivitás is csökken ML-7 adása mellett. A CU betegekből származó mintákkal végzett vizsgálatok során az IBS-D betegekből származó felülúszók viszcerális hiperszenzitivitást okozó hatásával ellentétben, a CU felülúszók vastagbél hiposzenzitivitást okoznak, mely hatás PAR-4-AP vagy Cat-G adásával is előidézhető. A CU felülúszók által indukált hipoalgesia gátolható antiproteáz koktél adásával. A CU széklet felülúszó infúziója melletti PAR-4 blokád vagy Cat-G gátlás az IBS-D felülúszók adásához hasonló vastagbél hiperszenzitivitást vált ki. Cat-G IBS-D felülúszóval történő együtt adása kivédi az IBS-D felülúszó nociceptív hatását. A PAR-4-AP antinociceptív hatása nem jelentkezik *ip*. adás esetén vagy vastagbél epitheliális tight junction blokád mellett. CRD indukálta spinális Fos expresszió növekedés csökkenthető PAR-4-AP adásával. PAR-4-AP antinociceptív hatású mindkét hyperalgesia modellben és lymphocyta depletált állatokban is. A PAR-4-antagonista adása szignifikánsan növeli a TNBS colitis esetén a vastagbél hyperalgesiát, míg WAS modellben ez a hatás nem jelentkezik.

6. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK, KÖVETKEZTETÉSEK

1. A széklet Cat-G szint emelkedett CU betegek székletmintáiban, míg IBS-D betegekben ez az eltérés nem tapasztalható.
2. A CU betegekből származó széklet felülúszó intracolonicus infúziója egerekben fokozza a colon paracelluláris permeabilitását *in vivo.* A paracelluláris permeabilitás fokozódását a széklet felülúszó Cat-G tartalma provokálja PAR-4 aktiváció közvetítésével.
3. A CU betegekből származó széklet felülúszója a vastagbélben gyulladásos folyamatot vált ki a beadás kezdetétől számított 4 órán belül, mely a Cat-G által kiváltott PAR-4 aktivációval magyarázható.
4. A gyulladásos folyamat kialakulásának fontos lépcsője a CU betegek széklet felülúszójának infúziója okozta myosin-könnyűlánc-kináz (MLCK) aktiváció a vastagbél nyálkahártyán, mely paracelluláris permeabilitás-fokozódáshoz vezet.
5. A CU betegektől származó, magas Cat-G tartalmú széklet felülúszó egerekben viszcerális hiposzenzitivitást vált ki a PAR-4 aktivációja révén.
6. A PAR-4 aktiváció nem játszik szerepet az IBS-D-ben szenvedők széklet felülúszója által kiváltott viszcerális hiperszenzitivitásban, és a PAR-4-et aktiváló Cat-G hozzáadása révén ez a hiperszenzitivitás ellensúlyozható.
7. A PAR-4-AP viszcerális antinociceptiv hatása a lymphocytáktól független és a vastagbélben helyileg alakul ki.
8. A PAR-4-AP kiváltotta intracolonicus PAR-4 aktiváció antihyperalgesiás hatású kétféle viszcerális hiperszenzitivitási modellben, a water avoidance stress modellben és az akut TNBS colitis modellben.
9. A TNBS indukálta colitis modellben endogén PAR-4 aktiváció mutatható ki, mely antinociceptív hatású, és a WAS modellben nincs jelen.

Eredményeink arra engednek következtetni, hogy luminális faktorok, mint a PAR-4 és a Cat-G proinflammatorikus szerepet tölthetnek be a CU pathogenezisében. Eredményeink arra is utalnak, hogy ez a hatás összefügg a vastagbél paracelluláris permeábilitásának fokozódásával. A hasonlóan emelkedett szerin-proteáz aktivitás ellenére az IBS-D és CU betegek felülúszói ellentétes, viszcerális pro- és antinociceptív hatást fejtenek ki egérmodellben. A CU széklet felülúszók viscerális hiposzenzitivitást okozó hatása Cat-G által

triggerelt, PAR-4 által mediált folyamat lehet, mely ellensúlyozhatja a szimultán PAR-2 aktiváció pronociceptív hatását. Eredményeink alapján feltételezzük, hogy colitisben endogén PAR-4 aktiváció van jelen, mely ellensúlyozza a gyulladás által kiváltott vastagbél hyperalgesiát.



1. **ábra. A PAR-2 és 4 viszcerális szenzitivitásban játszott szerepének sematikus ábrázolása.** Egészséges személyekben észlelhető alapszintű szerin-proteáz aktivitás kisfokú, egyensúlyi helyzetet teremtő PAR-2 és 4 aktivációt tart fenn. IBS-D-ben azonban a magas szerin-proteáz aktivitás aktiválja a PAR-2-t, mely viszcerális hiperszenzitivitáshoz vezet. Ezzel ellentétben a CU-ban szenvedők székletében található magas cathepsin-G (Cat-G) tartalom aktiválja a PAR-4-et, mely hiposzenzitivitást eredményez. A PAR-2-t aktiváló anyagok jelenlétére a CU betegek székletében akkor derül fény, ha a PAR-4-et vagy a Cat-G-t blokkoljuk, és viszcerális hiperszenzitivitás jelenik meg. Amennyiben Cat-G-t adunk az infundálandó IBS-D széklet felülúszóhoz, annak pronociceptív hatása megszűnik.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁT KÉPEZŐ IN EXTENSO KÖZLEMÉNYEK

1. **Annaházi A**, Gecse K, Dabek M, Ait-Belgnaoui A, Rosztóczy A, Róka R, Molnár T, Theodorou V, Wittmann T, Bueno L, Eutamene H. Fecal proteases from diarrheic-IBS and ulcerative colitis patients exert opposite effect on visceral sensitivity in mice. *Pain.* 2009; 144:209-17. ***IF: 5.371***

2. **Annaházi A**, Dabek M, Gecse K, Salvador-Cartier C, Polizzi A, Cenac N, Rosztóczy A, Róka R, Theodorou V, Wittmann T, Bueno L, Eutamene H. Proteinase activated receptor-4 evoked colorectal analgesia in mice: an endogenously activated feed-back loop in inflammatory pain. *Neurogastroenterol Motil.* 2012; 24:76-85. ***IF: 3.349***

3. Dabek M, Ferrier L, **Annaházi A**, Polizzi A, Cartier C, Leveque M, Róka R, Wittmann T, Theodorou V, Bueno L. Intracolonic infusion of fecal supernatants from ulcerative colitis patients triggers altered permeability and inflammation in mice: role of cathepsin-G and protease activated receptor-4. *Inflamm Bowel Dis*. 2011;17:1409-14. ***IF: 4.613***

Összesített impakt faktor: ***13.333***

AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KAPCSOLÓDÓ EGYÉB KÖZLEMÉNYEK

1. **Annaházi A**., Gecse K., Dabek M., Ait-Belgnaoui A., Rosztóczy A., Róka R., Molnár T., Theodorou V., Bueno L., Wittmann T., Eutamene H. Colorectal hyposensitivity triggered by fecal supernatants from ulcerative colitis patients is linked to proteinase-activated receptor-4 activation by cathepsin G. *Gut*, 2008; 57 (S II): A 331.

2. **Annaházi A**., Gecse K., Dabek M., Ait-Belgnaoui A., Rosztóczy A., Róka R., Molnár T., Theodorou V., Wittmann T., Bueno L., Eutamene H. Colorectal hyposensitivity triggered by fecal supernatants from ulcerative colitis patients is linked to proteinase-activated receptor-4 activation by cathepsin G. *Neurogastroenterol Motil.* 2008; 20 (Suppl 2): 21

3. **Annaházi A**, Gecse K, Dabek M, Ait-Belgnaoui A, Rosztóczy A, Róka R, Molnár T, Theodorou V, Wittmann T, Bueno L, Eutamene H. La cathepsine-G des surnageants fécaux de patients RCH est responsable d'une hyposensibilité viscérale en réponse á la distension colorectale chez la souris: un effet médié par l'activation des récepteurs aux protéases de type IV. *Gastroentérologie Clinique et Biologique*. 2009; 33. Hors-série 1, A199.

4. **Annaházi A**, Gecse K, Dabek M, Ait-Belgnaoui A, Rosztóczy A, Róka R, Molnár T, Theodorou V, Wittmann T, Bueno L, Eutamene H. Fecal Supernatants from Ulcerative Colitis Patients Display Antinociceptive Effects On Colorectal Sensitivity When Infused Intracolonically in Mice: Role of Cathepsin-G. *Gastroenterology* 2009; 136, (Suppl. 1), A19

5. Dabek M, Ferrier L, **Annaházi A**, Róka R, Gecse K, Wittmann T, Fioramonti J, Theodorou V, Bueno L. Intracolonic Infusion of Fecal Supernatant from UC Patients Triggers Altered Permeability and Inflammation in Mice: Role of Cathepsin G and Protease-Activated Receptor-4. *Gastroenterology* 2009; 136*, (Suppl. 1), A*242

6. Annaházi A, Dabek M., Gecse K, Rosztóczy A, Róka R, Theodorou V, Wittmann T, Eutamene H, Bueno L. Endogenous Antinociceptive Role of Par-4 in Inflammatory but Not in Stress-Induced Colorectal Hyperalgesia in Mice. *Gastroenterology* 2010, 138; 5, (Suppl. 1), S-574.

A JELÖLT IN EXTENSO KÖZLEMÉNYEINEK TELJES LISTÁJA

1. Farkas E, **Annaházi A**, Institóris A, Mihály A, Luiten PG, Bari F. Diazoxide and dimethyl sulphoxide alleviate experimental cerebral hypoperfusion-induced white matter injury in the rat brain. *Neurosci Lett.* 2005;373:195-9. **IF: 1.898**

2. Farkas E, Domoki F, Institoris A, **Annaházi A,** Busija D, Bari F. Neuroprotection by Diazoxide in Animal Models for Cerebrovascular Disorders. *Vascular Disease Prevention* 2006; 3:253-263.

3. **Annaházi A**, Mracsko E, Sule Z, Karg E, Penke B, Bari F, Farkas E. Pre-treatment and post-treatment with alpha-tocopherol attenuates hippocampal neuronal damage in experimental cerebral hypoperfusion. *European Journal Of Pharmacology* 2007; 571:120-128. **IF: 2.376**

4. **Annaházi A**, Róka R, Izbéki F, Lonovics J, Wittmann T, Rosztóczy A. Többcsatornás nyelőcsőimpedancia-méréssel igazolt krónikus köhögést okozó, döntően nem savas gastrooesophagealis reflux esete. *Magyar Belorvosi Archivum* 2007; 62:357-361.

5. **Annaházi A**, Németh I, Modok S, Szentpáli K, Tiszlavicz L, Wittmann T, Czakó L. Amyloidosis induced colonic stricture. The first symptom of myeloma multiplex. A case report. *Orvosi Hetilap* 2008; 149:1181-1185.

6. **Annaházi A**, Gecse K, Dabek M, Ait-Belgnaoui A, Rosztóczy A, Róka R, Molnár T, Theodorou V, Wittmann T, Bueno L, Eutamene H. Fecal proteases from diarrheic-IBS and ulcerative colitis patients exert opposite effect on visceral sensitivity in mice. *Pain.* 2009; 144:209-17. **IF: 5.371**

7. Dabek M, Ferrier L, Roka R, Gecse K, **Annaházi A**, Moreau J, Escourrou J, Cartier C, Chaumaz G, Leveque M, Ait-Belgnaoui A, Wittmann T, Theodorou V, Bueno L.

Luminal cathepsin g and protease-activated receptor 4: a duet involved in alterations of the colonic epithelial barrier in ulcerative colitis. *American Journal Of Pathology* 2009; 175:207-214. **IF: 5.673**

8. **Annaházi A**, Terhes G, Deak J, Tiszlavicz L, Rosztoczy A, Wittmann T, Roka R. Fulminant Epstein-Barr virus esophagitis in an immunocompetent patient. *Endoscopy.* 2011; 43:E348-E349. **IF: 6.096**

9. Dabek M, Ferrier L, **Annaházi A**, Polizzi A, Cartier C, Leveque M, Róka R, Wittmann T, Theodorou V, Bueno L. Intracolonic infusion of fecal supernatants from ulcerative colitis patients triggers altered permeability and inflammation in mice: role of cathepsin-G and protease activated receptor-4. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17:1409-14. **IF: 4.613**

10. **Annaházi A**, Polyák I, Nagy F, Wittmann T, Molnár T. "Ulcerative crepitus" - A case with subcutaneous emphysema and pneumomediastinum without colonic perforation or toxic megacolon in ulcerative colitis successfully treated conservatively. *Journal Of Crohn's & Colitis* 2012; 6:717-719. **IF: 2.566**

11. **Annaházi A**, Molnár T, Farkas K, Rosztóczy A, Izbéki F, Gecse K, Inczefi O, Nagy F, Földesi I, Szűcs M, Dabek M, Ferrier L, Theodorou V, Bueno L, Wittmann T, Róka R. Fecal MMP-9: A new noninvasive differential diagnostic and activity marker in ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Diseases* 2012 May 1 (epub). **IF: 4.855**

12. **Annaházi A**, Dabek M, Gecse K, Salvador-Cartier C, Polizzi A, Cenac N, Rosztóczy A, Róka R, Theodorou V, Wittmann T, Bueno L, Eutamene H. Proteinase activated receptor-4 evoked colorectal analgesia in mice: an endogenously activated feed-back loop in inflammatory pain. *Neurogastroenterol Motil.* 2012; 24:76-85 **IF: 3.349**

13. Gecse K, Róka R, Séra T, Rosztóczy A, **Annaházi A**, Izbéki F, Nagy F, Molnár T, Szepes Z, Pávics L, Bueno L, Wittmann T. Leaky gut in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome and inactive ulcerative colitis. *Digestion* 2012; 85: 40-46. **IF: 2.146**

Összesített impakt faktor: 39.185

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetemet fejezem ki témavezetőimnek, **Dr. Wittmann Tibor Professzor Úrnak**, az SZTE I. sz. Belgyógyászati Klinika intézetvezetőjének, és **Dr. Róka Richárd Adjunktus Úrnak**, akik figyelmemet a vastagbélbetegségekre irányították, az orvoslás mellett lehetőséget biztosítottak a tudományos kutatásra, inspirálták és vezették a munkám, és segítettek a tézis elkészítésében.

Hálával tartozom **Dr. Lionel Bueno Professzor Úrnak**, hogy toulouse-i laboratóriumában dolgozhattam, szakértelmével irányította kutatói munkámat és hogy ajtaja számomra mindig nyitva állt.

Szeretném megköszönni minden kollégámnak és társszerzőmnek: **Dr. Rosztóczy Andrásnak, Dr. Izbéki Ferencnek, Dr. Gecse Krisztinának, Prof. Dr. Nagy Ferencnek, Dr. Molnár Tamásnak, Dr. Lénárt Zsuzsannának, Dr. Inczefi Orsolyának, Vadászi Klárának,** toulouse-i barátaimnak és kollégáimnak: **Dr. Hélène Eutamène-nek, Dr. Jean Fioramontinak, Dr. Vassilia Theodorounak, Dr. Marta Dabeknek, Dr. Laurent Ferriernek, Dr. Rafael Garcia-Villarnak, Dr. Afifa Ait-Belgnaouinak, Dr. Simona Agostininek, Valérie Bezirardnak, Mathilde Leveque-nek, Christel Salvador-Cartier-nak, Valérie Bacquiének, Dr. Isabelle Olivier-nek, Dr. Viorica Braniste-nek, Cathy Beaufrandnak, Lara Moussának, Céline Arliguie-nek, Eric Gaultier-nek, Arnaud Polizzinak, Gilles Chaumaznak** and **Patrice Roubynak** a munkámban nyújtott segítségüket, valamint **I. sz. Belgyógyászati Klinika minden munkatársának** megértésüket és támogatásukat.

Továbbá külön köszönettel tartozom korábbi témavezetőimnek és kollégáimnak az SZTE ÁOK Élettani Intézetéből, akik diákkörös koromban és pályám kezdetén bevezettek a tudományos munkába és megszerettették velem az orvosi kutatást: **Dr. Bari Ferenc Professzor Úrnak**, **Dr. Domoki Ferencnek**, **Dr. Farkas Eszternek**, **Tóth-Szüki Valériának** és **Mátyás Adrienne-nek**.

Végezetül köszönöm **Férjemnek** és **Családom minden tagjának** a sok türelmet és támogatást, melyet tudományos munkámhoz biztosítottak.