

Doktori (PhD) értekezés tézisei

A hemoxigenáz-1 természetes eredetű induktorainak hatása időskori demencia és Zucker Diabetic Fatty (ZDF) patkánymodellekben

Dr. Kurucz Andrea

Témavezető: Dr. Juhász Béla



DEBRECENI EGYETEM

Táplálkozás – és Élelmiszertudományi Doktori Iskola

Debrecen, 2019.

A hemoxigenáz-1 természetes eredetű induktorainak hatása időskori demencia és Zucker Diabetic Fatty (ZDF) patkánymodellekben

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében

a Táplálkozás - és Élelmiszertudományok tudományágban

Írta: Dr. Kurucz Andrea okleveles orvos

Készült a Debreceni Egyetem Táplálkozás - és Élelmiszertudományok Doktori Iskolája

(Táplálkozástudományi doktori programja) keretében

Témavezető: Dr. Juhász Béla

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Gergely Lajos, az MTA doktora

tagok: Dr. Csonka Csaba, dr. habil, MD, PhD.

Dr. Gonda Sándor, PharmD. PhD.

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
2018. június 19. 11 óra

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Radák Zsolt, az MTA doktora

Dr. Újhelyi Bernadett, PhD.

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Gergely Lajos, az MTA doktora

tagok: Prof. Dr. Radák Zsolt, az MTA doktora

Dr. Újhelyi Bernadett, PhD.

Dr. Csonka Csaba, dr. habil, MD, PhD.

Dr. Gonda Sándor, PharmD. PhD.

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem Klinikai Központ, Belgyógyászati Intézet,
A épület tanterem
2019. június 06. 10 óra 30 perc

1. BEVEZETÉS

A demográfiai viszonyok megváltozása – elsősorban az emelkedő várható élettartam, valamint a fejlett országok növekvő életszínvonala – a társadalom előregedésével, valamint az időskorral és életmóddal asszociált patológiás állapotok – mint például a demencia és cukorbetegség – növekvő incidenciájával jár, egyre nagyobb terhet róva ezzel a társadalmakra.

A 2-es típusú cukorbetegség, valamint a sporadikus Alzheimer-típusú demencia két gyakori, életmóddal és életkorral összefüggő, az életminőséget jelentősen rontó rendellenesség, melyek közös jellemzője a metabolikus állapottal való szoros kapcsolat, a vascularis rendellenességek, valamint az oxidatív stressz szerepe, melyek együttes következménye kiterjedt sejtpusztulás, ezáltal súlyos mentális és fizikális károsodás. Az utóbbi évek tudományos közleményei a cukorbetegséget az Alzheimer-kór kialakulásának fontos kockázati tényezőjeként említik.

A diabetes mellitus időskorban gyakran kialakuló szövődménye a diabeteses retinopathia, valamint a retinális érelzáródás, melyekben a magas glükózsztint és a következményesen károsodott mikrocirkulációs kapacitás, valamint az ischaemia/reperfusio (I/R) fontos tényezők. A fitonutriensek – növényekben található egészségjavító vegyületek – táplálkozással történő bevitele jelentősen csökkentheti a komolyabb betegségek kialakulásának kockázatát, valamint javíthatja a terápia hatékonyságát, ezáltal a betegség kimenetelét, még a szemet ért károsodások esetén is. Kutatócsoportunk tagjai korábban már végeztek kísérletet a flavonoidban gazdag meggy-mag-kivonattal (*Prunus cerasus*) (SCSE), mely manapság egy egyre népszerűbb funkcionális élelmiszer. Analitikai mérések széles skálája szerint, beleértve a gáz-kromatográfia-tömeg-spektrometrát (GC-MS) és nagy teljesítményű folyadékkromatográfiát (HPLC), a SCSE összetevői között számos bioaktív vegyület szerepel, mint a dihidro-p-kumarinsav, ferulasav, kávéssav, cianidin, peonidin, szkvalén, β -tokoferol, γ -szitoszterol és E-vitamin, melyeknek a SCSE protektív, antioxidáns kapacitását köszönheti.

Az Alzheimer-kór egy progresszív neurodegeneratív megbetegedés, melynek prevalenciája az életkorral növekszik, és 8-10 év alatt a páciensek teljes kognitív hanyatlását eredményezi. A sporadikus megjelenési forma lényegesen gyakoribb (kb. az esetek 95%-a), mint a familiális változat, azonban mindkét forma neuropathológiailag nagyfokú extracelluláris amyloid- β felhalmozódással és intraneuronális tau-fehérje kötegek megjelenésével jellemezhető. Az Alzheimer-kór pontos pathomechanizmusa és kiváltó okai a mai napig nem teljesen tisztázottak, azonban az időskorral együtt járó metabolikus változások – mint amilyen az elhízás, inzulinrezisztencia és mozgásszegény életmód – és neuropathológiai elváltozások – mint az idegrendszeri gyulladás, oxidatív stressz, valamint a mikrotubulus asszociált tau fehérje hyperphosphorilatioja és funkcióvesztése –, illetve ezen tényezők által együttesen okozott neuronpusztulás szerepe vitathatatlan.

A hemoxigenáz-1 enzim (HO-1), amely HSP-32-ként is ismert, kulcsszerepet játszik az oxidatív stressz által indukált patológias folyamatok enyhítésében, többek között cardiovascularis,- tüdő,- neurológiai- és vesebetegségekben. Több kutatás is demonstrálta korábban, hogy a HO-1 enzim aktivitásának gyógyszeres vagy természetes hatóanyagok, esetleg rendszeres fizikai aktivitás általi fokozása mérsékelheti az oxidatív stressz által okozott szervi károsodásokat. A Debreceni Egyetem kutatóinak korábbi munkái pedig azt bizonyítják, hogy a fitonutriensek terápiás potenciállal bírhatnak a diabeteshez asszociált vascularis károsodások tekintetében: Bak és mtsai, majd pedig Czompa és mtsai demonstrálták a SCSE védő hatását I/R által károsított myocardiumban; Juhász és mtsai megerősítették ezt a cardioprotectiv hatást hypercholesterinaemiás nyulakban; Szabó és mtsai bizonyították védő szerepét I/R-s sérülést szenvedett retinában. A kivonatot toxikológiailag is vizsgálták, lehetővé téve ezzel a SCSE humán tanulmányokban történő alkalmazását. Ezek az eredmények rendkívül biztatóak, és a SCSE-t jövőbeli gyógyszerfejlesztések és kutatások potenciális jelöltjévé teszik.

Kutatásunkban egyrészt a SCSE glükózsintre, valamint az állatok retinafunkciójára gyakorolt hatását vizsgáltuk ZDF patkánymodellben, másrészt tanulmányoztuk a rendszeres fizikai aktivitás befolyását az időskorral asszociált Alzheimer-típusú demencia kognitív és neuropathológiai eltéréseire. Mindkét vizsgálat sorozat célja volt a lehetséges molekuláris háttér felderítése is, melynek érdekében az általunk széles körben vizsgált HO-1 koncentrációját és aktivitását is mértük.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Per os meggymagkivonat (SCSE) kezelés plazma glükózsztintre gyakorolt hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegség patkánymodelljében (Zucker Diabetic Fat, ZDF).
2. Per os SCSE-kezelés retinafunkcióra és retinaszerkezetre gyakorolt hatásának vizsgálata 2-es típusú cukorbetegség patkánymodelljében (Zucker Diabetic Fat, ZDF).
3. Rendszeres fizikai aktivitás befolyásának vizsgálata az időskorral asszociált Alzheimer-típusú demencia kognitív és neuropathológiai eltéréseire, „aging” patkánymodellben.
4. A táplálkozás, illetve testmozgás molekuláris hatásainak feltérképezése – hemoxigenáz-1 (HO-1) enzim koncentráció – és aktivitásmérése.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A kutatásban alkalmazott valamennyi protokollt a Debreceni Egyetem Munkahelyi – és Állatjóléti Bizottsága, Debrecen, Magyarország engedélyezte (18/2013/DE MÁB). Az állatokat konvencionális állatházban, standard méretű ketrecekben tartottuk, 22-24 °C közötti átlaghőmérsékleten, ahol 12-12 órás sötét és világos periódusok váltották egymást. Az állatok Purina 5008 tápot és igény szerinti mennyiségű vizet kaptak a kísérlet teljes időtartama alatt.

3.1. SCSE-kezelés plazma glükózsztintre és retinafunkcióra gyakorolt hatása ZDF patkánymodellben

3.1.1. Kísérleti állatok és kísérleti elrendezés

6 hetes hím Zucker diabeteses elhízott (ZDF-Leprfa/Crl) patkányokat és kontroll társaikat („sovány” típus) vizsgáltunk. Az állatokat 3 csoportba osztottuk (n=6): I. kontroll diabeteses csoport, II. kezelt diabeteses csoport és III. egészséges csoport. A kezelt csoport tagjait orális szondázási technikával kezeltük, napi 30mg/kg SCSE-t kaptak, miközben a kontroll csoport tagjai a vivőanyagot (metil-cellulóz nyák) kapták a szondán keresztül.

3.1.2. Orális glükóz tolerancia teszt

A kísérlet kezdetén, illetve az 50 napos kísérleti időtartam végén orális glükóz tolerancia tesztet (OGTT) végeztünk. A teszt kivitelezése előtt az állatok 12 órán keresztül éheztek. A teszt során először az éhomi plazma glükóz értékeket mértük meg (AccuCheck Active plazma glükózsztint mérővel), majd 1 g/ml koncentrációjú vizes glükóz oldatot készítettünk, melyet – testhőmérsékletre történő felmelegítés után – orális szondázási technikával juttattunk minden állat gyomrába, 3 g/kg dózisban. A glükóz terhelést követően 1 órával újra megmértük az állatok plazma glükózsztintjét.

3.1.3. Okuláris ischaemia/reperfusio (I/R)

Az 50 napos kísérleti fázis végén az állatokat általános anesztéziában részesítettük intramuscularis ketamin/xylazin (50/5 mg/kg) injekció segítségével. Az állatok szemeit lokálisan is érzéstelenítettük 0,4%-os oxybuprocain szemcsepp alkalmazásával. Minden állat bal szemének retinális artériáját egy selyem sebészi varróanyag szál segítségével lekötöttük, amely lekötést 1 órán keresztül fenntartottunk. Makroszkóposan egy 120-D-s lencsével igazoltuk az ischaemiát. Az ischaemia ideje alatt az állatok szemeit steril gézlappal fedtük le. A cornea kiszáradását karbomer-alapú szem gél segítségével akadályoztuk meg. A reperfúziót az okkluder felengedésével hoztuk létre.

3.1.4. Electoretinographia

24 órás reperfúziót követően az állatokat általános anesztéziában részesítettük intramuscularis ketamin/xylazin (50/5 mg/kg) injekció segítségével. Minden állat pupilláját 0,5%-os ciklopentolát hidroklorid oldattal tágítottuk ki. Minden méréshez 5 ezüst elektródát használtunk a következőképpen. A corneális felszínen retinális jeleket analizáltunk két mérő elektród segítségével (egy-egy mindkét szemben), melyeket az ínhártya sérülés vagy corneális perforáció elkerülése érdekében inzertáltunk. Referencia elektródokat rögzítettünk az állatok fülcimpájára (minden cimpára egyet), a fő referencia elektróda pedig a glabellán volt található. A hatékony elektronikai kapcsolatot és a szemek dehidrációval szembeni védelmét karbomer-alapú szem gél alkalmazásával valósítottuk meg. Az ERG-méréseket sötétben végeztük, egy sötét-adaptációs periódus (20 perc) után. A retina stimulációjához a szemeket stroboszkóppal világítottuk meg (20 cd/m², 0,5 Hz). Az elektromos jelek, tehát a retina fényhullámokra történő válaszai keresztül haladtak egy erősítőn és egy analóg-digitális átalakító rendszeren, megjelentek egy számítógépen, rögzítésre kerültek, majd analizáltuk őket a PowerLab Chart szoftver segítségével. Az electroretinogramokon az "a" és "b" hullámokat elemeztük. Az "a" hullámok a fotoreceptorok sejtjeinek működéséről, elektromos tevékenységéről adnak információt, míg a "b" hullámok a fotoreceptorok mögötti sejtek, nagyrészt a bipoláris sejtek működését reprezentálják.

3.1.5. Hemoxigenáz-1 koncentrációmérés

Az ERG-mérések után az állatok szemből eltávolítottuk, majd a jobb oldalt szuszpendáltuk egy homogenizációs pufferben. A 7,4 pH-jú puffer összetétele: 10 mM HEPES (4-(2-hidroxietil)-1-piperazin-4-yl-szulfonsav), 32 mM szukróz, 1mM DTT (ditiotritol), 0,1 mM EDTA, 10 µg/mL szójabab tripszin inhibitor, 10 µg/mL leupeptin és 2 µg/mL aprotinin. A homogenizátum 30 perces, 20 000 g-n, 4°C-on történő centrifugálása után megkaptuk a felülúszót. A HO-1 tartalmat enzimkapcsolt immunoszorbens esszé (ELISA) segítségével határoztuk meg. Az optikai denzitást 450 nm-en mértük, és az eredményeket ng/mg fehérje formájában fejeztük ki.

3.1.6. Histológiai vizsgálat

Az állatokból eltávolított bal oldali szemből az üvegtesti részét kivettük, a golyó maradék részét pedig Bouin-oldatban fixáltuk, alkohollal dehidráltuk, paraffinizáltuk, 7 µm vastag sagittális metszeteket készítettünk belőlük, hematoxylin-eosinnal (H&E) megfestettük, végül pedig fénymikroszkóp alatt vizsgáltuk őket. Az átlagos retinavastagságot a belső limitáló membrán és a retinális pigment epithel réteg (ILM-RPE) között mértük, és µm-ben fejeztük ki, minden metszeten manuális skálát alkalmazva. A ganglion sejtrétegben található sejtek számát egységnyi távolságon belül (100 µm) szintén megszámoltuk. A kvantitatív analízishez csoportonként 6 szemet, szemenként pedig 6 metszetet vizsgáltunk.

3.1.7. Statisztikai analízis

A D'Agostino & Pearson omnibusz normalitás teszt alapján kapott Gaussi értékek egyirányú variancia analízisét a Tukey vagy Neuman-Keuls poszt-teszttel végeztük. Kettőnél több adatcsoport összehasonlításához egyirányú ANOVA-t alkalmaztunk (Geisser-Greenhouse korrelációval) Tukey post-teszttel. A non-parametrikus eloszlású adatokat Kruskal-Wallis teszttel és Dunns poszt-teszttel értékeltük. Az eredményeket az átlagok standard hibájával ábrázoltuk (SEM).

3.2. Rendszeres fizikai aktivitás befolyása az időskorral asszociált, Alzheimer-típusú demencia kognitív és neuropatológiai eltéréseire, „aging” patkánymodellben

3.2.1. Kísérleti állatok és kísérleti elrendezés

18 hónapos (300-350 g) hím és nőtény Wistar patkányokat, valamint fiatal kontroll (3 hónapos) társaikat vizsgáltunk. 6 csoportba osztottuk az állatokat (n=8): I. idős, inaktív életmódot folytató nőtények (ASF); II. idős, inaktív életmódot folytató hímek (ASM); III. idős, futó nőtények (ARF); IV. idős futó hímek (ARM); V. fiatal (3 hónapos) kontroll nőtények (YCF) és VI. fiatal (3 hónapos) kontroll hímek (YCM). Az idős futó nőtényeket és hímeket standardizált futókerékkel ellátott ketrecekbe helyeztük, melyben rekreációs mozgást végezhetek. Az idős és fiatal kontroll csoport tagjai futókerék nélküli ketrecbe kerültek. A kísérlet időtartama 3 hónap volt.

3.2.2. Morris water maze teszt

Az állatok térbeli memóriáját és kognitív képességeit Morris Water Maze (MWM) teszt segítségével mértünk fel. A vizsgálat során egy 150 cm átmérőjű és 50 cm magas medencét egy kisméretű és csendes szobában helyeztünk el, és 30 cm magasságig feltöltöttünk ételfestékkel átlátszatlaná tett, szobahőmérsékletű vízzel. A medencét négy kvadránsra osztottuk, és a négy égtájnak megfelelően geometriai alakzatokat ragasztottunk a falára, tájékozódási pontok gyanánt. Az egyik kvadráns közepére 10 cm átmérőjű, fém talppal rögzíthető, kör alakú pallót helyeztünk, a víz felszíne alá süllyesztve 1 cm-rel, így az az állatok számára láthatatlan volt. A fellépő helyzetét a tanulási időszak és a kísérlet alatt változatlanul hagytuk, így a patkányok memorizálhatták a helyzetét. A MWM tesztet kétszer végeztük el, a 3 hónapos rekreációs mozgás végrehajtása előtt és után, a hatás felmérése érdekében. Mindkét alkalommal három egymást követő napon, napi két próbálkozás erejéig történt a mérés. Az első nap, első próbálkozása volt az ún. betanítás, amikor az állatok megismerkedtek a vízzel, az úszással, a pallóval. Ezt követően éles próbákat hajtottunk végre, amelyek során az óvatos vízbe helyezés után a patkányoknak önállóan kellett megtalálniuk a pallót, ezáltal mentesülhettek az úszás alól. 60 másodperc állt rendelkezésükre, és amennyiben ennyi idő alatt nem találták meg a fellépőt, óvatosan odairányítottuk őket. A palló megtalálásához szükséges időt minden esetben stopperrel mértük, illetve elektronikusan regisztráltuk. A napi 2 egymás utáni próbálkozás átlagát kiszámoltuk, és a 3 nap eredményeit egymáshoz viszonyítva állapítottuk meg, hogy képesek-e az állatok a tanulásra. A medencében való tartózkodásuk alatt videó „tracking” rendszerrel regisztráltuk az úszási mintázatot.

3.2.3. Kisállat pozitron emissziós tomográfia (PET)

Az időskorral asszociált neurodegeneratív eltérések és a specifikus amyloid pathologia analizálásához in vivo PET vizsgálatot végeztünk. A kísérleti állatok laterális farokvénáján keresztül $10 \pm 0,2$ MBq C^{11} - Pittsburgh compound B-t (PIB), mely az A β depozitumokhoz szelektíven kötődő radiofarmakon. 30 perccel a farmakon beadása után általános anesztéziában részesítettük az állatokat (3 %-os izoflurán). A következő 15 percben egy kisállat PET szkennert alkalmazásával (MiniPET –II.) statikus single-frame PET vizsgálatot végeztünk. A PIB A β -hoz történő szelektív kötődésének köszönhetően a mért jelintenzitás korrelál a kóros fehérje depozitumok mennyiségével, amit a SUV érték fejez ki.

3.2.4. Histológiai vizsgálat

A neurodegeneratív eltéréseket, amyloid pathológiát, valamint ezek esetleges javulását hagyományos H&E, Kongó vörös festéssel, valamint speciális, amyloid fehérjéhez kötődő antitest segítségével kívántuk igazolni. A kísérlet végén az állatokat általános anesztézia alatt 10 ml 4 °C-os PBS-sel, majd 30 ml 4 °C-os formaldehiddel perfundáltuk (4%-os, foszfát pufferben), ezután az agyukat eltávolítottuk, a jobb hippocampust, frontális és temporalis lebenyeket izoláltuk. A mintákat 4 %-os formaldehidben fixáltuk, paraffinba ágyasztuk, majd a 7 μ m vastag metszeteket H&E, valamint Kongó vörös festéssel festettük meg, és fénymikroszkóppal vizsgáltuk, polarizált fényt alkalmazva a Kongó vörössel festett metszetek analizálásához. A szemi-kvantitatív elemzéshez az esetleges amiloid plakkokat, valamint a Kongó vörössel festődő ereket megszámláltuk. A festődő erek mennyiségét az összes ér számához viszonyítottuk. Ilyen módon egy becsült értéket kaptunk, a 10X-es objektívet használva 10 látótérben megszámlálható erek alapján kalkulálva (100X-os nagyítás). Az így kapott érték (Kongó vörössel festődő erek/összes ér x 100) alapján 4 kategóriába soroltuk a metszeteket: (i) nem látható kóros ér (0%) (-); (ii) alacsony számú kóros ér (1-29%-) (+); (iii) közepesen mennyiségű kóros ér (30-69%-) (++); (iv) számos kóros ér (>70%) (+++). Az immunhisztokémiai vizsgálatok kivitelezéséhez a metszeteket anti-amyloid β 1-42 antitesttel (Abcam, 1:200) festettük a gyári protokollnak megfelelően, majd fénymikroszkóppal elemeztük. A szemi-kvantitatív A β analízis a fent leírt Kongó vörös festéshez hasonló módon zajlott. Az A β 1-42 pozitív ereket számláltuk meg, és a 10 látómezőn található összes ér mennyiségéhez viszonyítottuk, 10X objektívet alkalmazva. Az eredmények alapján ez esetben is 4 kategóriát határoztunk meg a Kongó vörös festésnél leírtakkal azonos módon.

3.2.5. Hemoxigenáz-1 aktivitásmérés

Az állatok agyi hemoxigenáz-1 enzim aktivitását a biliverdin-bilirubin átalakulás mérésével határoztuk meg. Az állatokat mély általános anesztéziában részesítettük, majd az eltávolított agyak bal féltekéjéből izoláltuk a frontális és a temporalis kérget, valamint a hippocampust. Ezeket a területeket homogenizáltuk (Ultraturrax T25; 13,500/s; 2×20 s) a következő pufferben: 10mM N - [2-hidroxietyl]

piperazin - *N'* - [2-etánszulfonsav] (HEPES), 32 mM szukróz, 1 mM ditiotreitol (DTT), 0.1 mM EDTA, 10 µg/ml szójabab tripszin inhibitor, 10 µg/ml leupeptin, és 2µg/ml aprotinin; pH 7.4. Ezt az elegyet 30 percig centrifugáltuk, 4 °C-on, 20.000 g-n, majd összegyűjtöttük a keletkező felülúszót. Minden reakciós elegynek 1,5 ml volt a végső ürtartalma: 2 mM glükóz-6-foszfát, 0.14 U/ml glükóz-6-foszfát dehidrogenáz, 15µM hem és 150 µM β-nikotinamid-adenin-foszfát (NADPH). 120 µg/ml patkány máj citoszolt használtunk biliverdin-reduktáz forrásként, és hozzáadtunk 2 mM MgCl₂-ot, 100 mM kálium-foszfát puffert és 150 µl-t a felülúszóból, majd 60 percig, 37 °C-on, sötétben inkubáltuk. A 60 perc elteltével a minták jégre helyezésével állítottuk meg a reakciót. A keletkezett bilirubin mennyiségét a 460 nm és 530 nm-en mért optikai sűrűségek alapján kalkuláltuk. Az 1 egységnyi HO-1 aktivitást az 1 mg fehérjéből óránként keletkező bilirubin mennyisége (nmol) alapján határoztuk meg.

3.2.6. Statisztikai analízis

Két adat egyeztetését párosítatlan (Student-féle) t-próbával végeztük. Egyebekben a statisztikai analízist a 3.1.7. pontak megfelelő módon végeztük.

4. EREDMÉNYEK

4.1. SCSE-kezelés glükózsztintre és retinafunkcióra gyakorolt hatása ZDF patkánymodellben

4.1.1. Éhomi glükózsztint analízis és orális glükóz tolerancia teszt eredmények

Az éhomi és OGTT során mért plazma glükózsztintek az egészséges csoportban (5,137 mmol/L és 7,571 mmol/L) nem különböztek jelentősen egymástól, csakúgy, mint a másik két kísérleti csoportban sem. A beteg kontroll (ZDF) állatok éhomi plazma glükózsztintje (9,626 mmol/L) viszont szignifikánsan magasabb volt, mint az egészséges csoport tagjainak értékei, és eltért a kezelt patkányok éhomi értékétől is, azonban nem szignifikánsan. A kezelt csoport éhomi glükózsztintje (7,510 mmol/L) nem különbözött jelentősen az egészséges állatok értékétől (5,137 mmol/L). Az OGTT során szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk: a kontroll csoport átlagértéke 17,41 mmol/L volt, míg a kezelt patkányok átlagértéke 14,330 mmol/L volt. A kezelt és kezeletlen csoport közötti különbség szintén szignifikáns volt ($p < 0,05$).

4.1.2. Electoretinographia

A nem-I/R adatok alapján elmondható, hogy a SCSE-kezelés szignifikánsan növelte az a- és b-hullámok amplitúdóját a kontroll csoporthoz viszonyítva (a-hullám: 88,11 μ V vs. 68,61 μ V és b-hullám: 233,9 μ V vs. 178,7 μ V; $p < 0,001$ mindkét esetben); sőt, a kezelt csoport átlagos b-hullám amplitúdója nem különbözött jelentősen az egészséges állatok ezen értékétől (233,9 μ V vs. 236,2 μ V). Az a-hullámokkal kapcsolatban pedig azt figyeltük meg, hogy a kezelt csoport értéke magasabb (88,11 μ V vs. 69,85 μ V) volt, mint az egészséges csoporté.

Az I/R értékek tekintetében a kontroll csoport b-hullám amplitúdói szignifikánsabban alacsonyabbak voltak, mint az egészséges csoport között (96,83 μ V vs. 149,9 μ V; $p < 0,001$), azonban az SCSE-kezelés jelentősen emelte ezt az értéket (176,2 μ V; $p < 0,001$ vs. kontroll). Kiemelendő, hogy a kezelt csoport I/R b-hullám amplitúdója jelentősen nagyobb volt, mint az egészséges állatok ezen értéke (kezelt vs. egészséges; $p < 0,001$). A meggyomag-kivonat hatására a kezelt csoportban jobb a-hullám eredményeket mértünk az I/R után, mint akár a kontroll, akár az egészséges csoportban (76,28 μ V (kezelt) vs. 47,15 μ V (egészséges) vagy 45,98 μ V (kontroll); $p < 0,001$ mindkét összehasonlításban).

4.1.3. Retina szövettani eredmények

A kontroll csoport nem-I/R állapotú retinái jelentősen vastagabbak, mint az egészséges állatok retinái (121,3 μ m vs. 102,4 μ m, $p < 0,001$) - ami odemaképződésre utalhat -, míg a kezelt patkányok retináinak vastagsága (108,7 μ m) nem különbözött jelentősen az egészséges patkányokétól, azonban szignifikánsan eltért a kontroll csoport nem-I/R értékétől ($p < 0,01$). Hasonló összefüggés állapítható meg az I/R után mért értékek alapján (172,3 μ m vs. 185,0 μ m vs. 165,0 μ m). Az egységnyi távolságon belül (100 μ m) található átlagos ganglion sejtszámot tekintve nem mutatkozott szignifikáns különbség

az egyes csoportok között, sem iszkémia előtt (15,50 vs. 17,00 vs. 16,33, megfelelően), sem az I/R után (12,83 vs. 13,67 vs. 11,35).

4.1.4. Hemoxigenáz-1 koncentráció

Az enzim szöveti koncentrációja statisztikailag megegyezett az egészséges és a kontroll csoportban, mind ischaemia előtt, mind pedig ischaemia után (1,170 vs. 1,115 a nem- I/R állapotban és 1,717 vs. 1,469 I/R állapotban). A nem-I/R állapotú szerek esetében jelentős expresszió fokozódás figyelhető meg a SCSE-kezelt csoportban, akár az egészséges, akár a kontroll állatokhoz hasonlítjuk őket (2,963; $p < 0,05$ vs. kontroll és $p < 0,001$ vs. egészséges). Az ischaemiás állapotban megfigyelhető protein koncentráció emelkedés az oka annak, hogy az egészséges és kezelt csoport eredményei között csökkent a különbség, mindazonáltal a kezelt patkányok átlagos koncentráció értékei még mindig jelentősen magasabbak voltak, mint az egészséges állatok értékei (2,934; $p < 0,05$ vs. egészséges/kontroll).

4.2. Rendszeres fizikai aktivitás befolyása az időskorral asszociált, Alzheimer-típusú demencia kognitív és neuropathológiai eltéréseire, „aging” patkánymodellben

4.2.1. Kognitív funkciók eredmények

Az idős, inaktív életmódot folytató csoport tagjainak (nemtől függetlenül) szignifikánsan több időbe telt a fellépő megtalálása, mint a fiatal kontroll, valamint az idős, rendszeresen mozgó csoport tagjainak, és teljesítményükben nem mutatkozott javulás a teszt 3 napja alatt sem ($p < 0,001$). Ezzel szemben a rendszeresen mozgó idős, valamint a fiatal állatok is napról-napra jobban teljesítettek. A teljesítmény-különbséget az idős hím, illetve nőstény csoportok teljesítményének átlagai közötti különbség szemlélteti: 1. nap: 10.15 mp, $p = 0.038$ (idős inaktív hímek vs. idős futó hímek); 14.60, $p < 0.01$ (idős inaktív nőstények vs. idős futó nőstények); 2. nap: 28.45, $p < 0.001$ (idős inaktív hímek vs. idős futó hímek); 25.45, $p < 0.001$ (idős inaktív nőstények vs. idős futó nőstények); 3. nap: 30.25, $p < 0.001$ (idős inaktív hímek vs. idős futó hímek), 33.55, $p < 0.001$ (idős inaktív nőstények vs. idős futó nőstények).

4.2.2. In vivo pozitron emissziós tomográfia vizsgálattal azonosított agyi eltérések

Az idős, inaktív életmódot folytató patkányok agyában szignifikánsan intenzívebb PIB retenciót tapasztaltunk, mint a fiatal kontroll állatokéban. A PIB felhalmozódás, vagyis a SUV átlaga a következőképpen alakult. Idős nőstények: 0.87 ± 0.029 vs. fiatal kontroll nőstények: 0.43 ± 0.02 ; idős hímek: 0.97 ± 0.024 vs. fiatal kontroll hímek: 0.41 ± 0.01 ($p < 0.001$ mindkét nem esetében). Az idős, futó állatok adatainak elemzése azt mutatta, hogy a rendszeres testmozgás hatására a PIB retenció mértéke jelentősen csökkent ($p = 0.0119$ a hímek és $p < 0.001$ a nőstények esetében).

4.2.3. Szövettani eredmények

Az idős, inaktív állatok agyában jelentős neurodegeneratív elváltozásokat azonosítottunk. Ezek az elváltozások magukban foglalták a piramis réteg eltéréseit, neuronvesztést, valamint súlyos pericelluláris oedemát a gyrus dentatus területén. A 3 hónapos rekreációs mozgást végző állatok esetében is megfigyeltünk hasonló patológiás jeleket, azonban lényegesen kisebb mértékben. Kongó festéssel amyloid plakkokat nem tudtunk azonosítani, de fokozott mértékű amyloid angiopathia mutatkozott az idős, inaktív életmódot folytató csoportokban. A Kongó vörössel festődő erek aránya, valamint a festődés intenzitása szignifikánsan magasabb volt a mozgást nem végző állatok esetében ($32.4 \pm 2.237\%$ hímekben és $27 \pm 0.89\%$ nőstényekben), mint a futó csoportokban ($13.60 \pm 0.77\%$ hímekben és $7.8 \pm 0.57\%$ nőstényekben) ($p < 0.001$ mindkét esetben).

Az időskorral asszociált cerebrális amyloid angiopathia immunhisztokémiai jelöléssel is detektálható volt. A Kongó vörös festéshez hasonló csoportok közötti eltéréseket tapasztaltunk. A rekreációs mozgást végző idős állatok agyában lényegesen kisebb volt az anti-A β antitest pozitív erek aránya ($14.70 \pm 0.47\%$ hímekben és $8 \pm 0.55\%$ nőstényekben), mint az idős, inaktív patkányok esetén ($31.6 \pm 1.78\%$ hímekben és $27.1 \pm 0.9\%$ nőstényekben). A különbség nemtől függetlenül szignifikáns volt.

4.2.4. Hemoxigenáz-1 aktivitás

Alacsony enzimaktivitást mértünk az idős, nem futó nőstények (1.3 ± 0.08 és 0.95 ± 0.02 nmol/h/mg fehérje) és hímek (0.8 ± 0.03 és 0.72 ± 0.04 nmol/h/mg protein) frontális és temporalis agykérgi területein, valamint a hippocampusukban. Mindazonáltal a rendszeres fizikai aktivitás szignifikánsan magasabb HO-1 aktivitást eredményezett a futó idős patkányok azonos agyterületein mind a nőstények (2.49 ± 0.08 , $p < 0.001$ és 1.53 ± 0.06 nmol/h/mg protein, $p < 0.001$), mind a hímek (1.35 ± 0.1 , $p < 0.001$ és 0.99 ± 0.04 nmol/h/mg protein $p < 0.001$) vonatkozásában.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. SCSE-kezelés vércukorszintre és retinafunkcióra gyakorolt hatása ZDF patkánymodellben

A 2-es típusú diabetes mellitus egy metabolikus rendellenesség, melyet károsodott szénhidrát anyagcsere, csökkent mértékű inzulin szekréció és az inzulin receptort expresszáló sejtek csökkent inzulin érzékenysége jellemez. Közismert, hogy ezen betegek körében rendkívül gyakoriak a szemészeti rendellenességek. Kísérletünkben, a flavonoidban gazdag *Prunus cerasus* (meggy) kivonat ZDF patkányok (2-es típusú diabetes modell) plazma glükózsztíjére, retinafunkciójára és HO-1 koncentrációjára gyakorolt hatását igyekeztünk felmérni.

Az OGTT méréseink alapján, a meggykivonat egy kismértékű, de szignifikáns glükózsztíj csökkentő hatást produkált: a diabeteses állatok glükózsztíjje magasabb volt, mint az egészséges állatoké, azonban a kezelt csoport orális glükóztíjterhelést követő értékei javultak a beteg kontroll csoporthoz képest.

Számos tanulmány igazolta korábban, hogy a gyümölcsökben, zöldségekben, gyógynövényekben található növényi hatóanyagoknak számos jótékony hatása van az egészségre, mint pl.: daganatos, illetve cardiovascularis megbetegedések vagy éppen az elhízás megelőzése. Lauchin és mtsai. nem régiben publikálták eredményeiket, melyek szerint a különböző meggy- és cseresznyefélék (pl.: sárga cseresznye, édes cseresznye, meggy) szignifikánsan képesek csökkenteni a plazma glükóz szintjét, ezáltal jótékonyan befolyásolhatják a diabeteses állapot kimenetelét. Kutatásunk adatai új eredményekkel járulnak hozzá ehhez a feltevéshez, miszerint a meggykivonat antidiabetikus hatású lehet, valamint csökkentheti a diabetes szövődésének valószínűségét vagy súlyosságát.

Az electroretinographiás vizsgálatok adatai betekintést engednek a diabetes mellitus retinafunkciót károsító hatásába, és lehetővé teszi az I/R-s állapotú és a normál állapotú retinák funkciójának összehasonlítását a különböző csoportokban. Jelen tanulmányunknak egyik fontos eredménye, hogy a SCSE-kezelés hatására a diabeteses állatok fotoreceptorainak, illetve a fotoreceptorok mögötti retinális sejteinek (tehát a belső nukleáris sejtréteg sejteinek) elektrofiziológiai funkciója jelentősen javult. A magas glükózsztíj ellenére a kezelt csoport nem-I/R állapotú retinafunkciója közel egyenlő volt az egészséges kontroll csoportéval, ami szintén nagy felfedezés. Ez azt jelenti, hogy a meggykivonat képes volt megelőzni a T2DM által okozott retinális funkciókárosodást, legalább a funkcionális szinten: a kezelésnek köszönhetően a hyperglycaemia nem tudta károsítani sem a fotoreceptorok, sem a postreceptorális útvonal sejteinek működését. Korábbi kutatók igazoltak hasonló retinoprotektív hatást rezveratrol kezelés, illetve GLP-1 analógokkal (pl.: exenatid, liraglutid) történő kezelés során. Az I/R ideje alatt készült electroretinogramokat vizsgálva azt a következtetést vonhatjuk le, hogy bár a beteg kontroll csoport retinafunkciója lényegesen rosszabb, mint az egészséges állatoké, a meggykivonat szignifikáns javulást eredményezett a diabeteses patkányok retinafunkciójában. Ezen kívül, a

meggyماغ-kivonattal kezelt csoport tagjai jelentősen jobb retinális teljesítményt mutattak, mint az egészséges állatok. Ez az új eredmény azt a feltételezést támasztja alá, hogy a meggyماغ-kivonat képes lehet az I/R által okozott retinakárosodás funkcionális szinten történő megelőzésére, még diabeteses állapotban is.

A kezelt állatok nem I/R-s retinája jelentősen vékonyabb volt, mint a kontroll állatok retinája, mi alapján elmondható, hogy a SCSE képes volt ellensúlyozni a T2DM oedema indukáló hatását. Az I/R állapotú retinavastagságok mérése szerint a SCSE-kezelés képes volt kompenzálni az I/R sérülés által okozott oedemát is. Korábban hasonló protektív hatásokról számoltak be a *Lycium barbarum*, a ginzénózidok vagy a *Flos puerariae* kezeléseknél is. Eredményeink alapján a ganglion sejtek száma nem változott szignifikánsan. Ennek oka valószínűsíthetően az ischaemia és a mintavétel között eltelt relatíve rövid időintervallum: az I/R folyamata retinális oedemával indul, melyet strukturális degeneratív elváltozások követnek – mint a következményes sejthalál, pl.: a ganglion sejtek számának csökkenése –, amelyek kifejlődéséhez több idő szükséges.

A hemoxigenáz-1 koncentrációmérésekből arra következtethetünk, hogy az enzim fontos szerepet játszhat a SCSE diabetesben megjelenő retinavédő hatásában. Az emelkedett glükózértékek stresszfaktorként jelenhetnek meg a retina számára, mivel ennek a jól ismert stresszfehérjének a mennyisége jól láthatóan megemelkedik a beteg csoportban az egészséges állatokhoz viszonyítva. A meggyماغ-kivonattal történő kezelés tovább emelte ennek a védő enzimnek a szintjét – nem-I/R, és I/R körülmények között egyaránt –, ami hozzájárulhat a kivonat plazma glükózszint-csökkentő és retinoprotektív hatásához. Korábban már dokumentálták, hogy a meggyماغ-kezelés a nem diabeteses patkányok retinájában, illetve más szöveteiben is emelkedett enzimszintet eredményezett. Ennek a kutatásnak az új felfedezése, hogy a meggyماغ-kivonat HO-1 enzimszint emelő hatása diabeteses körülmények között is érvényesül. A gyógynövények körében jelenlévő hasonló hatásmechanizmusról már hallhattunk korábban: a kékáfonya antocianinjainak retinoprotektív hatásai szintén az Nrf2/hemoxigenáz-1 útvonalon keresztül alakulnak ki.

Mindent összegezve, az általunk bemutatott adatok alapján a meggyماغ-kivonat képes lehet a magas glükózszint káros hatásának kivédésére, és a retina I/R-s sérülésektől való megóvására diabeteses körülmények között.

5.2. Rendszeres fizikai aktivitás befolyása az időskorral asszociált, Alzheimer-típusú demencia kognitív és neuropathológiai eltéréseire, „aging” patkánymodellben

Az Alzheimer-kór egy krónikus neurodegeneratív betegség, amely a leggyakoribb oka az idős populációban megjelenő demenciának, és melyet a memória, kommunikáció, ítéletalkotás és a gondolkodás fokozatos elvesztése jellemez. Jelen kutatásunkhoz a demencia „aging” patkánymodelljét választottuk, mely külső beavatkozás nélkül, természetesen kialakuló folyamat eredményeképp modellezi a humán időskori demenciát. Az idősödő állatok a demencia típusos jeleit mutatták.

Szignifikánsan gyengébben teljesítettek a kognitív funkciókat felmérő Morris water maze teszt során, mint fiatal kontroll társaik. A PET vizsgálattal jelentősen nagyobb mennyiségű amyloid- β felhalmozódást azonosítottunk az idős állatok agyában, mint a fiatalokéban, illetve az agyszövetek szövettani vizsgálata nagyfokú neurodegeneratív eltéréseket mutatott – a piramis sejtréteg szerkezeti felbomlása, neuronvesztés, a gyrus dentatus területén kialakuló pericelluláris oedema, valamint cerebralis amyloid angiopathiát (CAA) – melyek a fiatal kontroll állatok agyában nem voltak jelen. Munkánk azt is bizonyítja, hogy az időskorral párhuzamosan az egyik legfontosabb stresszre aktiválódó sejtvédő enzim – a hemoxigenáz-1 – aktivitása csökken a frontális, parietalis cortex, valamint a hippocampus területén, mely régiók a legintenzívebben érintettek a neurodegeneratív elváltozások által.

Az önkéntes fizikai aktivitás enyhítette az idős patkányok kognitív hanyatlását. Az idős, futó (AR) állatok szignifikánsan kevesebb időt igényeltek a Morris water maze teszt során a palló megtalálásához, mint idős, inaktív (AS) társaik – nemtől függetlenül –, mivel képesek voltak az egymást követő napok során megjegyezni annak helyzetét, és a geometriai ábrák alapján tájékozódni a medencében. Ezt az eredményt több, nemrég megjelent publikáció is alátámasztja. Például, Yosefi és mtsai. demonstrálták, hogy 4 hétig tartó futókerékben végzett mozgás javította az agykamrába injektált STZ-vel kezelt, ezáltal demenssé vált patkányok tanulási és térbeli memória képességét.

A rekreációs mozgás szignifikánsan csökkentette az idős, futó patkányok agyában felhalmozódó PIB mennyiségét, az idős, inaktív állatokkal összehasonlítva. Ez az adat arra utal, hogy a futó állatok alacsonyabb mennyiségű oldhatatlan amyloid- β fehérjét halmoztak fel az agyukban, mint az ülők.

A napi rendszerességgel önkéntes futás az idős állatok agyában megjelenő neuropathológiai eltérésekre is pozitívan hatott. A piramis sejtek rétegének szerkezeti felbomlása, a neuronvesztés, a gyrus dentatusban megfigyelt súlyos pericelluláris oedema, valamint a Kongó vörös festéssel és immunhisztokémiai vizsgálattal kimutatott cerebralis amyloid angiopathia (CAA) szignifikánsan csökkent a fizikai aktivitásnak köszönhetően. A neurodegeneráció enyhülését korábban más szerzők is összefüggésbe hozták a rendszeres testmozgással. Például Lin és mtsai arról számoltak be, hogy a rendszeres fizikai aktivitás helyreállította a hippocampushoz és amygdalához kapcsolódó memóriát és dendritikus arborizációt, az oedema és neuronvesztés súlyosságának mérséklésével párhuzamosan.

Az agyban kialakuló gyulladásos folyamatokat, valamint oxidatív stresszt számos különböző kutató az AK egyik fő pathogenetikai okozójaként nevezte meg. A közelmúltban megjelent publikációk szerint pedig a HO-1 – mint antioxidáns tulajdonságú enzim – működése az egyik legfontosabb fiziológiás tényező az AK-val asszociált oxidatív stressz elleni védekezésben. Például Bhardwaj és mtsai kimutatták, hogy az enzim hemin általi farmakológiai indukciója csökkentette az oxidatív stresszt, és helyreállította a kognitív funkciókat az agykamrába injektált STZ-vel létrehozott AK modellben. Kutatócsoportunk részben azért végezte ezeket a kísérleteket, hogy rávilágítson a HO-1 enzimen

alapuló stratégiák jövőbeli potenciáljára az AK által támasztott kihívások leküzdésében. Szignifikáns enzimaktivitás emelkedést demonstráltunk az idős futó állatok frontális kortexében és hippocampusában. A kognitív hanyatlás, a képalkotóval detektált elváltozások, valamint a neuropathológiai eltérések enyhítésével együtt ez az eredmény azt sugallja, hogy az időskorral asszociált, Alzheimer-típusú demencia súlyossága csökkenthető a fiziológiásan is jelenlévő HO-1 aktivitás serkentésével, olyan eredményekkel, melyek magukban foglalják az oxidatív stressz és AK tünetek súlyosságának redukálását.

Régóta ismert, hogy a rendszeres fizikai aktivitásnak számos jótékony hatása van az egészségre nézve, például javítja a cardiovascularis funkciót, a kognitív képességeket, az inzulin rezisztenciát és a metabolikus szindróma tüneteit, valamint csökkenti a depresszió súlyosságát. Di Loreto és mtsai. demonstrálták, hogy a rendszeresen végzett önkéntes testmozgás hatékonyan serkentette az időskorral asszociált amyloidogenezissel szembeni neuroprotektív folyamatokat, és segített megőrizni a szinaptikus funkciót. A jelen kutatás a fent említett eredményeket egy vázként alkalmazta HO-1 induktorok kifejlesztéséhez, a krónikus betegségek egyik legfőbb megelőző és terápiás stratégiájaként. Mindezekon túl, a kutatás elvégzésének idejében ez volt az első törekvés a fizikai aktivitás és HO-1 kapcsolatának demencia modellben történő vizsgálatára. Az eredmények azt mutatják, hogy a HO-1 enzim aktivitása szignifikánsan emelkedett a mozgás hatására idős, kognitív hanyatlást mutató patkányokban, ezáltal lehetőséget rejt az AK és kapcsolódó betegségek jövőbeni gyógyításához.

6. FONTOSABB EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK ÖSSZEFOGLALÁSA

1. Kimutattuk, hogy a meggymag-kivonatnak plazma glükózsztint-csökkentő hatása van, mivel szignifikáns mértékben csökkentette a T2DM állatok orális cukorterhelés utáni plazma glükóz szintjét.
2. Bebizonyítottuk, hogy a SCSE retinoprotektív tulajdonságú, illetve a diabetesben gyakran előforduló I/R-s retinakárosodással szemben is védelmet nyújt, mivel a diabeteses állatok fotoreceptorainak, illetve a fotoreceptorok mögötti retinális sejtjeinek (tehát a belső nukleáris sejttréteg sejtjeinek) elektrofiziológiai funkciója jelentősen javult nem-I/R állapotban és I/R sérülés elszívódása után egyaránt.
3. Kimutatásra került, hogy az ismert stresszfehérje, a hemoxigenáz-1 szintje – mely a T2DM állapot következtében emelkedik – a SCSE-tel történő kezelése hatására tovább nőtt, mely alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy az enzimnek szerepe lehet a SCSE retina-védő és glükózsztint-csökkentő hatásának közvetítésében mind az I/R nélküli állapotban, mind pedig I/R-s körülmények között.
4. Kiemelendő eredményünk, hogy a rendszeres fizikai aktivitás jelentősen javította az idős, demenciában szenvedő állatok kognitív funkcióját, melyet Morris water maze teszttel igazoltunk.
5. Szövettani (H&E, Kongó festés, immunhisztokémia) és képalkotó diagnosztikai (PET) módszerekkel is bizonyítottuk, hogy a rekreatív testmozgás csökkenti az Alzheimer-típusú neurodegenerációra jellemző pathológiai eltéréseket – a hippocampalis atrophíát, illetve az amyloid akkumulációt és angiopathiát.
6. Fokozott HO-1 aktivitást mértünk az állatok agyának hippocampusában és frontális cortexében, ami arra enged következtetni, hogy a rendszeres testmozgás, a neurodegenerációt javító hatását az antioxidáns tulajdonságú HO-1 enzim aktivitásának fokozása révén éri el.

Kutatásunk eredményei azt sugallják, hogy a hemoxigenáz-1 enzim természetes módon történő (pl.: növényi hatóanyagok és rendszeres fizikai aktivitás) aktivációjának fontos szerepe lehet az életkorral és életmóddal összefüggő betegségek enyhítésében.



Nyilvántartási szám: DEENK/329/2018.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kurucz Andrea

Neptun kód: AJC6HD

Doktori Iskola: Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kurucz, A.**, Bombicz, M., Kiss, R., Priksz, D., Varga, B., Hortobágyi, T., Trencsényi, G., Szabó, R., Pósa, A., Gesztelyi, R., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Heme oxygenase-1 activity as a correlate to exercise-mediated amelioration of cognitive decline and neuropathological alterations in an aging rat model of dementia.
Biomed Res. Int. 2018, 1-13, 2018.
IF: 2.583 (2017)
2. Varga, B., Priksz, D., Lampé, N., Bombicz, M., **Kurucz, A.**, Szabó, A. M., Pósa, A., Szabó, R., Kemény-Beke, Á., Gálné Remenyik, J., Gesztelyi, R., Juhász, B.: Protective Effect of Prunus Cerasus (Sour Cherry) Seed Extract on the Recovery of Ischemia/Reperfusion-Induced Retinal Damage in Zucker Diabetic Fatty Rat.
Molecules. 22 (10), [1-12], 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22101782>
IF: 3.098

További közlemények

3. Kiss, R., Szabó, K., Gesztelyi, R., Somodi, S., Kovács, P., Szabó, Z., Németh, J., Priksz, D., **Kurucz, A.**, Juhász, B., Szilvássy, Z.: Insulin-Sensitizer Effects of Fenugreek Seeds in Parallel with Changes in Plasma MCH Levels in Healthy Volunteers.
Int. J. Mol. Sci. 19 (3), 771-, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19030771>
IF: 3.687 (2017)
4. Priksz, D., Bombicz, M., Varga, B., **Kurucz, A.**, Gesztelyi, R., Balla, J., Tóth, A., Papp, Z., Szilvássy, Z., Juhász, B.: Upregulation of Myocardial and Vascular Phosphodiesterase 9A in A Model of Atherosclerotic Cardiovascular Disease.
Int. J. Mol. Sci. 19 (10), 1-18, 2018.
IF: 3.687 (2017)





5. Bombicz, M., Priksz, D., Varga, B., **Kurucz, A.**, Kertész, A. B., Takács, Á., Pósa, A., Kiss, R., Szilvássy, Z., Juhász, B.: A Novel Therapeutic Approach in the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: allium ursinum Liophyllisate Alleviates Symptoms Comparably to Sildenafil.
Int. J. Mol. Sci. 18 (7), 1-19, 2017.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18071436>
IF: 3.687
6. Murnyák, B., Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., Csonka, T., Szepesi, R., **Kurucz, A.**, Dankó, K., Hortobágyi, T.: Inclusion body myositis: pathomechanism and lessons from genetics.
Open Med. 10, 188-193, 2015.
7. Bodoki, L., Nagy-Vincze, M., Griger, Z., Csonka, T., Murnyák, B., **Kurucz, A.**, Dankó, K., Hortobágyi, T.: Inclusion body myositis - a case based clinicopathological update.
Cent. Eur. J. Med. 9 (1), 80-85, 2014.
IF: 0.153
8. Csonka, T., Murnyák, B., Szepesi, R., **Kurucz, A.**, Klekner, Á., Hortobágyi, T.: Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP1) and p53 labelling index correlates with tumour grade in meningiomas.
Folia Neuropathol. 52 (2), 111-120, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5114/fn.2014.43782>
IF: 1.568

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 18,463

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
5,681**

A DEENK a Jelölt által az IDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2018.10.15.



KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Szilvássy Zoltán, rektor és intézetvezető úrnak (DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet), hogy lehetővé tette számomra a kutatás elvégzését az általa vezetett intézetben.

Köszönetemet fejezem ki témavezetőmnek, Dr. Juhász Béla egyetemi docens úrnak (DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet) a sok segítségért, illetve jó szóért, amikor elakadtam akár a munkában, akár az életben.

Köszönöm a munkacsoportom tagjainak, Dr. Kozma Mariannak, Dr. Varga Balázsnak és Dr. Priksz Dánielnek (DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet) a jó tanácsokat, konferenciaélményeket, illetve hiányosságaim baráti hangvételű korrigálását.

Köszönettel tartozom Dr. Gesztelyi Rudolf egyetemi adjunktusnak (DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet) a statisztika útvesztőiben nyújtott iránymutatásáért.

Köszönöm Kiss Henriettának és Nagy Katalinnak (DE KK Neurológiai Klinika) a szövettani eljárásoknál nyújtott segítséget, valamint Oláh Krisztinának (DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet) a közreműködést a kognitív funkciós teszteknel.

Köszönöm Dr. Pósa Anikónak és munkacsoportjának (SZTE TTIK, Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék) a hemoxigenáz aktivitás-mérésnél nyújtott segítségüket.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Lampé Nórának és Szabó Katalinnak, szobatársaimnak és egyben barátaimnak, hogy sosem engedték, hogy túl hosszú időre beletemetkezzek a munkába.

Köszönöm édesanyámnak, Zsarnoszkai Annának és testvéremnek, Dr. Kurucz Ádámnak, hogy az egyetemi és PhD évek alatt szerető támogatást nyújtottak.

Hálával tartozom kedvesemnek, Dr. Rácz Kálmánnak, hogy az örömteli és nehéz helyzetekben egyaránt mellettem állt.

Köszönöm barátaimnak a sok biztatást, valamint a kikapcsolódást, feltöltődést, amit biztosítottak számomra.

A kutatás a GINOP-2.3.2-15-2016-00062; UNKP-UNKP-16-4; illetve a Nemzeti Agykutató Program KTIA_13_NAP-A-II/7 keretein belül valósult meg.