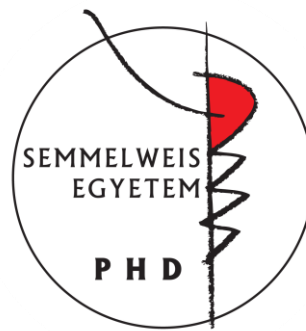


**Dipiron metabolitok koncentrációjának vizsgálata
kommunális szennyvíztisztítási technológiák
alkalmazásánál**

Doktori tézisek

Gyenge Zsuzsa

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Záray Gyula, DSc

Konzulens: Dr. Szoboszlai Norbert, PhD

Hivatalos bírálók: Dr. Takács Erzsébet, DSc

Dr. Gergely András, PhD

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Zelkó Romána, DSc

Szigorlati bizottság tagjai: Takácsné Dr. Novák Krisztina, DSc

Dr. Török Ilona, DSc

Budapest, 2014

I. Bevezetés

Napjaink egyik legnagyobb környezetvédelmi problémáját a szennyvizekbe, természetes vizekbe és akár az ivóvízbe kerülő gyógyszermaradványok jelentik. Nemcsak az elfogyasztott gyógyszerek mennyisége nő fokozatosan, hanem sok esetben a biológiai lebontást végző szennyvíztisztító telepeken nem áll a rendelkezésére megfelelő mikrobiális biokémiai mechanizmus ezen, a baktérium populációk számára idegen anyagok lebontására. Ma már világszerte széleskörű vizsgálatok folynak a szervezetből kikerülő xenobiotikumok sorsának követéséről, hiszen különös veszélyt jelentenek azok az anyagok, melyek nem csak nagy mennyiségben fordulnak elő a környezetben, de a biotranszformációjuk során olyan anyagok keletkeznek, melyek a környezetben perzisztens módon, folyamatosan jelen vannak, ezzel veszélyeztetve többek között ivóvíz bázisaink tisztaságát. Az eddig kevés figyelmet kapott gyógyszermaradványok, háztartási vegyszerek - de ide sorolhatók az orvostudományban használatos diagnosztikai anyagok – ma már a figyelem középpontjába kerültek. Ezek a vegyületek, és biológiailag aktív/inaktív metabolitjaik a felszíni vizekbe elsősorban kezeletlen vagy kezelt

szennyvízzel jutnak be. A természetes vizek kémiai szennyezése a vízi ökológiai rendszer egyensúlyának megőrzése miatt is lényeges szempont, mivel a szennyezők hatására a vízben levő mikroorganizmusok, szervezetek életciklusukat nem tudják zavartalanul folytatni, védtelen állapotba kerülnek. A kimutathatatlan, vagy észrevétlen hatások e mikroorganizmusok számára különösen aggasztóak, mert a hatások akkumulálódhatnak, így lassan a legfőbb változások észrevehetetlenek lesznek, amíg a hatások kumulatív szintjei végül egy kaszkádot alkotnak és visszafordíthatatlan változást idéznek elő, természetes alkalmazkodásban, kiválogatódásban.

II. Célkitűzések

1. Metamizol metabolitjainak meghatározása két budapesti és egy külvárosi szennyvíztisztító telep szennyvizében HPLC-MS-technikával

Hazánkban a metamizol-nátrium az egyik legnagyobb dobozszámmal értékesített fájdalomcsillapító. Ezen gyógyszer metabolitjainak koncentrációját nyers és tisztított kommunális szennyvizekben még nem vizsgálták Magyarországon, ezért célul tűztük ki egy HPLC-MS-módszer kidolgozását, mely alkalmas a kérdéses metabolitok koncentrációjának kvantitatív analitikai kémiai meghatározására és lehetővé teszi

a metabolitok nyomkövetését a szennyvizektől a felszíni vizekig. E gyógyszerhatóanyag szervezetből ürülő fő metabolitjai a 4-amino-antipirin (4-AA), 4-acetil-amino-antipirin (4-AAA), 4-formil-amino-antipirin (4-FAA) és 4-metil-amino-antipirin. Ezeknek a vegyületeknek a környezetre gyakorolt hatásáról keveset tudunk, de mindegyik metabolit esetén akut toxicitást mutattak ki vízi élőlényeken, ezért vizsgálatuk a vízi környezetben kifejezetten fontos.

2. Különböző szennyvíztisztítási technológiák összehasonlítása

A fenti módszer birtokában választ kerestünk arra, hogy két különböző elven működő szennyvíztisztító telep hatékonysága hogyan alakul ezekre a molekulákra nézve. Erre a célra az eleveniszapos technológiát alkalmazó Észak-pesti és a Dél-pesti szennyvíztisztító telepeket, illetve az Organica Környezettechnológiák Zrt. által Telkiben működtetett, ún. fixfilmes szennyvízkezelő rendszert választottuk, mely utóbbinál vízi növények gyökerein és/vagy műszálas hordozókon kialakult biofilmekben levő mikroorganizmusok végzik a tisztítási műveletsort.

3. Szennyvíztisztító telepek monitorozása

Továbbá célul tűztük ki a metamizol metabolitok monitorozását az általunk kiválasztott szennyvíztisztító

telepeken. Mind a szennyvíz előülepítését követően nyert nyersvíz, mind a biológiailag tisztított szennyvíz vonatkozásában fel kívántuk tární, hogy az évszakok váltakozásának van-e hatása az általunk kiválasztott gyógyszer metabolitok koncentrációjának változására, vizsgálva ezzel az a metamizol metabolitok eltávolítási hatásfokának esetleges szezonális jelenségeit. További feladatként jelentkezett a metamizol metabolitok napszakonkénti koncentráció változásának követése. Ugyancsak választ kerestünk arra, hogy a biológiai úton tisztított szennyvíz fertőtlenítési célú klórozása befolyásolja-e a ráckevei üdülőövezeti Duna ágba jutó metamizol metabolitok koncentrációját.

III. Anyagok és módszerek

1. Mintavételi időpontok és helyek

A mérések első részének elvégzéséhez a választott kommunális szennyvíztisztító telepek előülepített (befolyó), és biológiai úton tisztított (elfolyó) vizeiből vettünk mintákat 2011 februárjában, illetve 2010 decemberében a Budapest környékén található Telki település szennyvizéből is, mind a nyers, mind a tisztított vízből. A mérések második felében 2011 júliusa és 2012 márciusa között havi rendszerességgel

gyűjtöttünk mintát ugyanezen szennyvíztisztító befolyó és kifolyó vizéből, folytatva a korábban megkezdett vizsgálatainkat. Ezen felül a Dél-pesti szennyvíztisztító telep esetén 2011. július és 2011. szeptember között a tisztított szennyvízből klórozás előtt és után is kaptunk mintákat. A dipiron metabolitok napi koncentráció ingadozásának meghatározásához a Dél-pesti szennyvíztisztító telep esetén egyszeri, 6 óránkénti mintavételezéssel 24 órán keresztül kaptunk vízmintákat 2011 májusában.

2. Minta-előkészítéshez és tároláshoz felhasznált anyagok és módszerek

A kapott szennyvízmintákat először 125 mm átmérőjű GF/A mikroszálás üvegszűrőn szűrtük, majd az egyenként 500 ml-es vízmintákból a meghatározandó alkotókat szilárd fázisú extrakció (SPE) a mátrixtól elválasztva dúsítottuk Phenomenex Strata X 33 μ 200mg/3 ml fordított fázisú oszlopon. Az SPE-oszlopokat kétszer 3 ml metanollal kondicionáltuk, majd 3 ml pH=8 ammónium-acetát-oldattal mostuk. Ezután 500 ml vízmintát az SPE-oszlopra vittük fel, majd 3 ml 5 v/v % metanolt tartalmazó pH=8 ammónium-acetát oldattal mostuk kétszer. A leoldáshoz kétszer 3 ml 0,1 v/v % hangyasavat tartalmazó metanolt használtunk. Mindegyik esetben az SPE-oszlopról metanolban leoldott

mintákat 4 °C-on, hűtőszekrényben tároltuk a mérések elvégzéséig, de legfeljebb 2 hétig. A mérések első felében szükség volt a minták további töményítésére, ezért 1-1 ml-t a leoldott mintákból rotációs vákuumbepárló készüléken 50 µl-re bepároltunk, majd desztillált vízzel 100 µl-re kiegészítettük. Ezt követően 0,22 µm pórusátmérőjű Nalgene szűrőn szűrtük. Az így kapott oldatokat injektáltuk a HPLC-MS-rendszerbe.

3. Referencia anyagok előállításához és tisztításához használt anyagok és módszerek

Három metabolitot a Pécsi Tudományegyetem Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet munkatársai állítottak elő, míg a kereskedelmi forgalomban beszerezhető 4-AA metabolitot toluolból történő átkristályosítással tisztítottuk. A tisztított 4-AA-t olvadáspontméréssel azonosítottuk. A 4-AAA-t ecetsavanhidrides acetilációval, a 4-FAA-t a 4-AA toluolban végzett formilezésével, míg a 4-MAA-t a dipiron KOH-dal katalizált bomlásával állítottuk elő. A vegyületek azonosságát és tisztaságát több módszerrel is alátámasztottuk, úgymint vékonyréteg kromatográfia (VRK), mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR), Fourier transzformációs infravörös spektroszkópia (FT-IR), illetve olvadáspontmérésekkel. A

VRK-vizsgálatokat 60 F254 típusú szilikagél üveglapokon végeztük. Az olvadáspontot Boetius készülékkel mértük. A ^1H - és ^{13}C -NMR spektrumokat CDCl_3 illetve DMSO-d_6 oldatokban szobahőmérsékleten vettük fel 399,9 MHz-en (^1H), illetve 100,5 MHz-en (^{13}C), belső standardként az oldószer csúcsot alkalmazva, az oldószer deutérium jelére vonatkoztatva. A kémiai eltolódás értékeket (δ) ppm-ben adtuk meg. A FT-IR-spektrumokat Nicolet Impact 400 spektrofotométer segítségével vettük fel KBr pasztillában. Minden esetben az egyes anyagokra kapott adatok megegyeztek az irodalomban találhatóakkal.

4. Műszerek

4.1. SPE-HPLC-ESI-Q-MS

A 2011 februárjában gyűjtött szennyvízminták metabolit tartalmának méréshez a Pécsi Tudományegyetem Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézetében üzemeltetett, egy Dionex UV diódasoros detektoros HPLC-ből és egy Finnigan AQA tömegspektrométerből álló HPLC-MS rendszeren dolgoztunk ki módszert, mely a HPLC-s elválasztáshoz Synergy-Hydro-RP 80A C18 ($150 \times 2,0 \text{ mm} \times 4,0 \mu\text{m}$) oszlopot és AQ C18 Security Guard ($40 \times 2,0 \text{ mm}$) típusú előtét oszlopot tartalmazott. A vizsgálatokat szobahőmérsékleten végeztük. A metabolitokat a következő többlépcsős gradiens módszer

segítségével választottuk el: „A” eluensként 2,5 v/v % metanolt tartalmazó, 10 mmol/l-es ammónium-acetát puffert (pH=5,6) alkalmaztunk (a pH beállítását ecetsavval végeztük), míg „B” eluensként 70 v/v % metanolt tartalmazó 10 mmol/l-es ammónium-acetát puffert (pH=5,6) használtunk. A kezdeti 100 % „A” oldószer koncentrációról indulva 1 perc alatt a „B” oldat koncentrációját 30 %-ra növeltük, majd a következő 15 percben a „B” eluens koncentrációját 80 %-ig emeltük, amit 1 percig ezen a szinten tartottunk, majd a „B” eluens koncentrációját 100 %-ra növelve 6 percig ezen az értéken tartottuk. A gradiens befejező lépéseként az „A” eluens koncentrációját 10 perc alatt 100 %-ra növeltük, és további 1 percig ezen az állandó értéken tartottuk. Az áramlási sebesség 0,3 ml/min volt. A tömegspektrometriás méréseket elektropray ionizációs (ESI) üzemmódban végeztük. A spektrumokat 100 és 300 m/z értékek között vettük fel 2 scan/s pásztázási sebességgel. Az analízis során a metabolitok pozitív töltésű molekulaionjait monitoroztuk.

4.2. SPE-HPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS

A folyadékkromatográfiás elválasztást ennél a technikánál is az előzőekben alkalmazott HPLC oszlopon és a hozzá tartozó előtétlen végeztük. Az eddigiektől eltérően lehetőségünk volt azonban a kromatográfiás oszlop termosztálására is, így a

méréseket 40 °C-on végeztük. A HPLC-elválasztáshoz egy Waters Acquity HPLC-rendszert alkalmaztunk. Többlépcsős gradiens módszer segítségével végeztük a metabolitok elválasztását. „A” eluensként 5 v/v % acetonitrilt és 0,05 v/v % hangyasavat tartalmazó ioncserélt vizes eluenst, „B” eluensként metanolt használtunk. Az áramlási sebesség 0,4 ml/min volt. A mozgó fázis kiindulási összetétele 95 % „A” és 5 % „B” eluens volt. A „B” eluens koncentrációját 1,5 perc alatt 90 %-ra növeltük, és ezen az értéken tartottuk további 1,5 percig. Ezután a gradiens program végén az „A” eluens koncentrációját a kiindulási 95 %-ra vittük vissza 0,1 perc alatt. Az injektált minta mennyisége 2,0 µl volt. A metabolitok tömegspektrometriás detektálását Waters Micromass Q-TOF-Premier tömegspektrométeren végeztük ESI-üzem módban. A metabolitokat és a belőlük keletkező fragmenseket pozitív ionizációs módban detektáltuk. A kromatogramokat 150 és 400 m/z értékek között vettük fel. A molekulatömegek pontos meghatározását a tömegspektrométer szoftvere segítségével határoztuk meg.

IV. Eredmények

1. A szennyvíztisztítási technológiák összevetése

Ahogy az várható volt, a befolyó szennyvízben nagyobb volt a mért koncentráció az összes metabolit tekintetében, mint a már tisztított, kifolyó vízben. Általánosan mindegyik vizsgálni kívánt vegyület detektálható volt $\mu\text{g/l}$ -es tartományban az összes szennyvíztisztító telepen, néhány esetben azonban a 4-MAA koncentrációja mind a befolyó, mind a kifolyó vízben a kimutatási határ alatt volt. A tisztítási technológiák hatékonyságának jellemzésére a bontási hatásfokot használhatjuk mutatóként, a kifolyó vízben a befolyó vízhez képest mért adott metabolit mennyiségének százalékos arányában kifejezve. Az eleveniszapos technológiát alkalmazó Észak-pesti szennyvíztisztító telepen a bontási hatásfok nyáron 65 %-nak, ősszel 77 %-nak adódott a 4-AAA metabolit esetén, míg télen és kora tavasszal ez az érték elérte a 95 %-ot. A metabolitok lebontását az adott szennyvíztisztítót jellemző baktériumpopuláción túlmenően alapvetően befolyásolja a víz hőmérséklet és az oldott oxigén koncentrációja. Télen az alacsony hőmérséklet és az eleveniszapos technológia során nyitott medencékben végzett levegőztetés következtében az oldott oxigén koncentrációja

nagyobb, ami kedvez pl. a pszichrofil baktériumok szaporodásának. A Telkiben működő fixfilmes reaktor rendszerből vett minták esetén - függetlenül a mintavétel időpontjától - azt tapasztaltuk, hogy a bontási hatások 80-94 % között voltak a 4-AAA-metabolit esetén. Mivel ezekben az üvegházakban recirkulációs víz- és levegőztető rendszer működik, a fixfilmes reaktorokban a minimális és a maximális levegőhőmérséklet +8 °C és 30 °C között, míg a víz hőmérséklet +16 °C és +31 °C között változott a mintavételi időpontokban. Az Észak- és Dél-pesti szennyvíztisztító telepekről kapott vízmintákban az előzőekben leírtak alapján, ahogy az várható volt, a 4-FAA bontási hatása 5 % alatt volt a nyári és őszi hónapokban. Szerény növekedés (20-30 %) volt tapasztalható a 4-FAA tekintetében a téli, kora tavaszi hónapokban. Telkiben a 4-FAA-metabolit esetén más tendencia volt megfigyelhető a bontási hatások vonatkozásában. Míg a nyári és téli hónapokban 2-3 % volt az eltávolítás hatékonysága, addig 30-40 % az őszi és tavaszi hónapokban. Az eredményeink tükrében kijelenthetjük, hogy ez a metabolit a legperzisztensebb, a legkevésbé eltávolítható a vizsgált technológiák esetén.

2. Dipiron metabolitok koncentrációjának évszakos változása az Észak-pesti szennyvíztisztító telep befolyó szennyvizében

A 4-AAA-, 4-AA- és 4-FAA-metabolitok koncentrációja az Észak-pesti szennyvíztisztító telep befolyó szennyvíz mintáiban, a téli időszakban (2011. november-2012. február) nagyobb volt, mint a nyári időszakban (2011. július-augusztus). Az átlag értékek 4-AA esetén 2,7-szer, 4-AAA esetén 1,4-szer, 4-FAA esetén pedig 1,6-szor nagyobb koncentrációt jeleztek. Hasonló tendencia volt megfigyelhető az őszi hónapok (2011. szeptember és október) esetén is. Ezek az adatok egyértelműen jelzik, hogy kapcsolat van a lakosság megnövekedett metamizol-nátrium tartalmú láz-és fájdalomcsillapító, gyulladáscsökkentő gyógyszerek fogyasztása és a téli hónapok között.

Továbbá megállapíthatjuk, hogy a 4-AA-, 4-AAA- és 4-FAA-metabolitok koncentrációja a kora tavaszi időszakban majdnem ugyanazon az értéken marad, mint amekkora a téli időszakban mért érték volt.

3. Dipiron metabolitok napi koncentrációjának ingadozása az eleveniszapos technológiát alkalmazó Dél-pesti szennyvíztisztító esetén

Megállapítottuk, hogy a hat óránként vett mintákban a 4-AA, 4-FAA- és a 4-AAA-metabolitok koncentrációja maximumértéket vett fel a 12 órakor gyűjtött mintákban. A reggel 6 órakor vett minta metabolit koncentráció értékeit tekintettük kiindulási pontnak az adatértékelés során. A 4-AA, a 4-AAA és a 4-FAA esetén rendre 46, 72 és 73 %-os koncentráció-növekedést figyeltünk meg a délben gyűjtött mintákban a hat órával korábban vett mintákhoz képest. A 4-MAA esetén nem tudtunk hasonló következtetést levonni, mivel koncentrációja a meghatározási határ közelében volt, és a kapott értékek szórása túlságosan nagy volt ahhoz, hogy egyértelmű változásra következtethessünk.

4. A klórozás hatása a metabolitok eltávolítására

A klórozás hatását csak a Dél-pesti szennyvíztisztító telep esetén lehetett vizsgálni, hiszen csak itt alkalmaztak klórozást (15 mg/l) a már biológiai úton tisztított víz fertőtlenítése céljából a közelben levő ráckevei üdülőövezet miatt. Figyelembe véve a háromhavi mintavétel során kapott vízminták metabolit koncentráció értékeit a klórozás előtt és után vett szennyvízből, az eltávolítási hatások nagyon

használnak adódott a 4-AAA- és 4-FAA- metabolitok esetén, feltételezve, hogy az adott időszakban a szennyvíztisztító által befogadott víz mennyisége állandó volt. Az eltávolítás hatásfoka 4-AAA esetén átlagosan további 17 %, míg a 4-FAA esetén további 15 % volt. A 4-AA és 4-MAA metabolit esetén nem tudunk hasonló becslést adni, mivel számos esetben e metabolitok koncentrációja a mintákban a meghatározási határ közelében volt.

V. Következtetések, új tudományos megállapítások

1. Magyarországon elsőként sikerült meghatározni a metamizol-nátrium négy fő metabolitját (4-AA, 4-AAA, 4-FAA, 4-MAA) három különböző szennyvíztisztító be- és kifolyó vizében. A vizsgált dipiron metabolitok közül a 4-AAA található a budapesti szennyvizek befolyóiban a legnagyobb (1,38-2,34 µg/l), míg a 4-MAA a legkisebb (0,007-0,089 µg/l) koncentrációban.

2. A vizsgált négy metabolit koncentrációja évszakos változást mutatott a szennyvíztisztítók befolyóiban. Az őszi-téli időszakban mintegy 38-161 % koncentrációnövekedés tapasztalható, ami a gyógyszereszedési szokásokkal magyarázható.

3. A szennyvíztisztítók befolyóiban megjelenő dipironmetabolitok koncentrációjának napi ingadozása jelentős, a délben mért értékek 46-75 %-kal nagyobbak voltak, mint a reggel 6 órakor mérhetőek.

4. A 4-FAA-metabolit perzisztensnek tekinthető, eltávolításának hatásfoka az eleveniszapos technológiát alkalmazó Észak-Pesti szennyvíztisztítóban 0,7-37 %, míg a fixfilmes technológián alapuló telki tisztítóban 2-40 % között változott.

5. Mindkét szennyvízkezelési technológia esetén a legnagyobb koncentrációban jelenlévő 4-AAA-metabolit távolítható el a legjobb hatásfokkal, amelynek értéke az eleveniszapos technológiánál 80 %-ot, míg a fixfilmes technológia esetében 96 %-ot ért el.

6. A hagyományos (eleveniszapos) szennyvíztisztító üzem esetén a nyári időszakban a 4-AAA-metabolit eltávolításának hatásfoka 30 %-kal csökkent.

7. A biológiai úton tisztított szennyvizek fertőtlenítését célzó klórozási eljárás (15 mg/l Cl₂) a 4-AAA és a 4-FAA metabolit eltávolításának hatásfokát átlagosan 15 %-kal növelte meg.

VI. Saját publikációk jegyzéke

1. Szabó Z, Szoboszlai N, Jámbor É, Gulyás G, Lóránd T, Ohmacht R, Záray G, Mihucz VG. (2013) Determination of four dipyrone metabolites in Hungarian municipal wastewater by liquid chromatography mass spectrometry. *Microchemical Journal*, 107: 152-157. IF: 2,850

2. Szabó Z, Szoboszlai N, Frigyes D, Záray G, Mihucz VG. (2014) Monitoring of four dipyrone metabolites in communal wastewater by solid phase extraction liquid chromatography electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 90: 58-63. IF: 2,853

3. Szoboszlai N, Réti A, Budai B, Szabó Z, Kralovánszky J, Záray G. (2008) Direct elemental analysis of cancer cell lines by total reflection X-ray fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 63: 1480-1484. IF: 3,047

VII. Köszönetnyilvánítás

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek **Prof. Dr. Záray Gyulának**, hogy munkámat irányította,

annak feltételeit megteremtette és értékes tanácsokkal látott el a doktori disszertációm tartalmi és formai összeállításában.

Köszönöm a Gyógyszertudományok Doktori Iskola elnökének, **Dr. Szőke Évának** a lehetőséget, hogy a Ph.D. tanulmányaimat elvégezhettem.

Köszönöm konzulensemnek **Dr. Szoboszlai Norbert** adjunktusnak, hogy doktori munkám során mindig számíthattam rá a kísérletek megtervezésétől kezdve azok kiértékeléséig és értelmezéséig. **Dr. Mihucz Viktor Gábor** adjunktusnak köszönöm önzetlen segítségét és biztatását doktori munkám során. Köszönöm **Dr. Barkács Katalin ny. adjunktusnak**, hogy a minták rendelkezésemre bocsátását segítette, és munkám során felmerült szakmai kérdéseimre adott részletes válaszait.

Köszönettel tartozom **Dr. Ochmacht Róbertnek**, hogy a Pécsen végzett mérések elvégzésére lehetőséget kaptam, és **Jámbor Éva PhD hallgatónak** a méréseknél nyújtott segítségével, és a baráti légkörért, amiben dolgozhattam. Köszönet illeti **Gulyás Gergelyt**, és **Dr. Lóránd Tamást**, a referencia anyagok előállításában nyújtott segítségükért.

Köszönetemet fejezem ki **Dr. Clementis Györgynek**, az Egis Gyógyszergyár Nyrt. Analitikai Fejlesztési

Főosztályának vezetőjének, hogy a HPLC-ESI-Q-TOF-MS mérések elvégzését engedélyezte, illetve köszönöm **Dr. Kapui Imrének**, a Hatóanyag Analitikai Fejlesztési Laboratórium vezetőjének, hogy ösztönzött, és támogatta Ph.D. tanulmányaimat a munkavégzés mellett. Valamint köszönöm **Dr. Frigyes Dávidnak**, hogy a mérések elvégzéséhez mindig szakított rám időt.

Köszönetmet fejezem ki **Dr. Hankó Balázsnak**, amiért a metamizol-nátrium tartalmú gyógyszerek eladási adatait a rendelkezésemre bocsátotta.

Végül köszönöm Családomnak szeretetüket és támogatásukat, férjemnek, Tamásnak pedig kitartó türelmét és a mindennapi békés háttérét.