

Alkohol okozta inflammaszóma aktiváció a bélben, a májban és az agyban

Doktori tézisek

Dr. Lippai Dóra

Semmelweis Egyetem
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Konzulens: Dr. Szabó Gyöngyi, DSc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Zalatnai Attila, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Demeter Pál, Ph.D., osztályvezető főorvos

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Szalay Ferenc, DSc., az MTA tagja, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Banai János, DSc., az MTA tagja, egyetemi tanár
Dr. Veres Gábor, DSc., az MTA tagja, egyetemi docens
Dr. Székely György, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest
2016

Kedves Családomnak

1. BEVEZETÉS

1.1. Alkohollal összefüggésbe hozható betegségek: A világon az alkoholfogyasztás betegséggel és halálozással kapcsolatos első öt kockázati tényezőben szerepel. A többnyire etanol tartalmú italok alkohol fogyasztásának mennyisége, az ivási mintázat és ritkábban az alkoholos italok minősége a káros ki-menetel legfontosabb meghatározói. 2010-ben készült tanulmány alapján Magyarországon magas az éves egy főre jutó alkohol fogyasztás (≥ 12.5 liter). 2010-ben Magyarországon az alkoholnak tulajdonítható halálozás 13.3% volt.

A kezelés első lépcsője a megelőzés, az alkohol absztinencia és a megfelelő táplálkozás. Az alkohol könnyű hozzáférhetősége, a hozzászokási hajlam és a káros következmények miatt az erőfeszítéseket az alkohol okozta vagy azzal összefüggésbe hozható betegségek biztonságos, hatékony, és gazdaságilag is előnyös kezelésének kifejlesztésére volna tanácsos összpontosítani. A megfelelő kezelés kialakítása érdekében az alkohol fogyasztás okozta sejtszintű és molekuláris változások mechanizmusának megismerése elengedhetetlen.

1.2. Az alkohol hatásai: Az alkohol hosszú távú fogyasztása általánosságban károsan hat a főbb szervrendszerekre. A káros hatások egy része gyulladási válasz, melyek hosszútávon a tumorok kialakulását is elősegíthetik.

Alkohol ivásakor az előbél és a vékonybél kezdeti szakasza nagy koncentrációjú alkohollal érintkezik, mely egyértelmű direkt károsító hatást eredményez a többi szervhez képest. Ennek a károsító hatásnak egyenes következménye a bakteriális túlnövekedés, a bél barrier

sérülése, a PAMP véráramba kerülése, gyulladás és hosszú távon tumor képződés.

Az alkohol és az alkohol okozta P/DAMP a portális áramláson keresztül könnyedén eljut a májba. Az alkohol legfőbb átalakítási helye a máj, tehát a lebontási termékek, így az acetaldehid elsődleges sejtkárosító hatásával is itt kell leginkább számolni. Következésképpen a hosszú távú alkohol fogyasztás zsíros degenerációt és gyulladást okozó hatása miatt gyulladósos zsír-máj, később cirrózis és esetenként májrák kialakulásához vezethet.

Az alkohol kis méreténél és lipofil karakterénél fogva könnyen átjut a vér-agy gáton (az endotél, és astrocyta rendszeren). Továbbá az alkohol okozta megnövekedett P/DAMP direkt és indirekt hatásai szintén hozzájárulhatnak az alkohol károsító hatásához az agyban. Az alkohol először a viselkedést befolyásolja a megváltozott neurotranszmitter rendszeren keresztül majd demenciához, ataxiához vezet vélhetően neurodegeneratív és gyulladósos válaszok eredményeképpen.

1.3. Inflammaszóma: Az alkohol okozta idegi gyulladás és zsíros májgyulladás létrejöttét gyulladósos citokinek segítik elő, mint pl. az IL-1 β . Az IL-1 β képzéséhez az inflammaszóma multiprotein-komplex általi kaspáz-1 aktivációra van szükség. Az inflammaszóma összeszerelése vészjelekre P/DAMP-okra adott válasz.

1.4. Az IL-1 jelátviteli útvonal és inflammaszóma aktiváció jelentőségét alkohol okozta bél-, máj- és agykárosodásban még nem vizsgálták.

2. CÉLKITŰZÉS

2.1. Alkoholos állatmodellen az inflammaszóma aktiváció vizsgálata a vékonybél kezdeti szakaszán.

2.2. Alkoholos állatmodellen az inflammaszóma aktiváció vizsgálata a kisagyban.

3. MÓDSZEREK

3.1. Vad típusú (WT), TLR4-, NLRP3-, és ASC-KO egerek alkohol tartalmú vagy azonos kalória tartalmú kontroll diétát kaptak 5 héten át, néhány állat rIL-1Ra, anakinra, vagy fiziológiás sóoldatot kapott intraperitonealisan. A rövid idejű alkohol kezelés során az állatok 5g/kg 50% (v/v) vízzel hígított etanolt vagy ana vizet kaptak szondán keresztül szájon át három napon át. Néhány altatott állat 30 μ l rekombináns egér IL-1 β vagy ana Saline oldatot kapott intracranialis injekció formájában.

3.2. Szérum alkohol és endotoxin meghatározás történt alkohol analizátorral és LAL próbával.

3.3. Inflammaszóma és NF- κ B aktiváció, Reg3b, PRR, gyulladásos citokinek, HMGB1 és endotoxin mérés történt egér vékonybél kezdeti szakaszán, kis- és nagyagyban qPCR, ELISA, WB, enzim aktivitás próba, IP és LAL próba segítségével.

3.4. Kruskal-Wallis féle nem parametrikus teszt segítségével történtek a statisztikai számítások.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Vékonybél kezdeti szakasza

4.1.1. A rövid idejű és a hosszantartó alkohol adása egyaránt növeli az egerek szérum alkohol szintjét a kontrollokéhoz képest.

4.1.2. A rövid idejű és a hosszantartó alkohol adása egyaránt növeli az egerek szérum endotoxin szintjét a kontrollokéhoz képest. Tizenkettő órával a rövid idejű alkohol szondán át történt bevitelét követően a szérum endotoxin szint visszaáll a kontrollokéhoz hasonló szintre.

4.1.3. A Reg3b mRNS és fehérje szint egyaránt megemelkedik a vékonybél kezdeti szakaszán rövid ideig tartó alkohol adását követően egérmódelben a kontrollokéhoz képest. Ezzel szemben a hosszantartó alkohol adásában részesült egerek vékonybél kezdeti szakaszának Reg3b mRNS és fehérje is szintje alacsonyabb a kontrollhoz képest.

4.1.4. A rövid idejű és a hosszantartó alkohol adása egyaránt növeli az egerek vékonybelének kezdeti szakaszán az NF- κ B aktivációját és DNS kötődését a kontrollokéhoz képest. A növekedés mértéke nagyobb a hosszantartó, mint a rövid idejű alkohol adásában részesült egerekben.

4.1.5. A rövid idejű és a hosszantartó alkohol adása egyaránt emeli az egerek vékonybelének kezdeti szakaszán a TNF α mRNS szintjét a kontrollokéhoz képest. Habár idült esetben a fehérje szint is megemelkedik, rövid ideig tartó alkohol adása esetén a fehérje szint nem változik a kontrollokéhoz képest.

4.1.6. Sem a hosszantartó, sem a rövid ideig tartó alkohol adása nem változtatja meg az egerek vékonybelének kezdeti szakaszán a IL-1 β mRNS és fehérje szintjét a kontrollokéhoz képest.

4.1.7. Sem az a hosszantartó, sem a rövid ideig tartó alkohol adása nem változtatja meg az egerek vékonybelének kezdeti szakaszán a NLRP3, NLRP6, ASC és pro-kaspáz-1 mRNS szintjét a kontrollokéhoz képest.

4.2. Kisagy

4.2.1. Egerek kisagyában a hosszantartó alkohol adása jelentősebb NF- κ B aktivációval jár a kontrollokéhoz képest.

4.2.2. Egerek kisagyában a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest egyaránt növeli a TNF α mRNS és fehérje szintet.

4.2.3. Egerek kisagyában a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest egyaránt növeli a pro-IL-1 β mRNS és IL-1 β fehérje szintet. Az ELISA és WB eredmények egyaránt magasabb érett IL-1 β szintet igazolnak hosszantartóan alkohol kezelésben részesült egerek kisagyában a kontrollokéhoz képest. Egerek nagyagyféltekéjében is a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest egyaránt növeli a pro-IL-1 β mRNS és IL-1 β fehérje szintet. A IL-1 β fehérje szint emelkedésének mértéke hasonló a kisagyi és nagyagyféltekei régiókban hosszantartó alkohol kezelésben részesült egereknél.

4.2.4. Egerek kisagyában a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest növeli az NLRP1, NLRP3, ASC és pro-kaspáz-1 mRNS szinteket. Hasonlóképpen az egerek

nagyagyféltekéjében is a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest növeli az NLRP1, NLRP3, ASC és pro-kaspáz-1 mRNS szinteket.

4.2.5. Egerek kisagyában és nagyagyféltekéjében a hosszantartó alkohol kezelés a kontrollokéhoz képest növeli az kaspáz-1 aktivitást. Egerek kisagyában a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest növeli pro-kaspáz-1 kaspáz-1 p10 szinteket.

4.2.6. Egerek szérumában a hosszantartó alkohol kezelés a kontrollokéhoz képest, a genotípustól függetlenül (WT, TLR4-, NLRP3- és ASC-KO) növeli alkohol koncentrációt. Egerek szérumában a hosszantartó alkohol kezelés a kontrollokéhoz képest (WT vs TLR4-KO; WT vs NLRP3- és ASC-KO) ugyanolyan mértékben emeli az alkohol szintet.

4.2.7. WT egerek kisagyában a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest növeli az IL-1 β fehérje szintet, ugyanakkor hosszantartó alkohol kezelésben részesülő NLRP3-KO és ASC-KO egerek kisagyában nem változik az IL-1 β fehérje szintje. A kisagyi IL-1 β fehérje szintje alacsonyabb hosszantartó alkohol kezelésben részesült NLRP3-KO egerekben a WT-okéhoz képest.

4.2.8. Nincs különbség a kisagyi kaspáz-1 aktivitás tekintetében hosszantartó alkohol kezelésben részesült NLRP3-, ASC-KO és a megfelelő kontrollok között.

4.2.9. Egerek kisagyában a hosszantartó alkohol kezelés a kontrollokéhoz képest növeli a TLR2, TL4, TLR9 és RAGE mRNS szinteket.

4.2.10. Nincs különbség a kisagyi TNF α fehérje szintjében hosszantartó alkohol kezelésben részesült TLR4-KO és kontrollok között. A TNF α kisagyi fehérje szintje alacsonyabb hosszantartó alkohol kezelésben részesült TLR4-KO egerekben a WT-okéhoz képest.

4.2.11. TLR4-KO egerek kisagyában a hosszantartó alkohol adása a kontrollokéhoz képest egyaránt növeli a pro-IL-1 β mRNS és IL-1 β fehérje szintet. A kisagyi pro-IL-1 β mRNS és IL-1 β fehérje szintje alacsonyabb hosszantartó alkohol kezelésben vagy azonos kalória tartalmú diétában részesült TLR4-KO egerekben a WT-okéhoz képest.

4.2.12. Kisagyi TLR4 nem mérhető a TLR4-KO egerekben, ezért alacsonyabb, mint a WT-oké hosszantartó alkohol adását és azonos kalóriatartalmú diétát követően is. Hosszantartó alkohol adásában részesült WT és TLR4-KO egerek kisagyi NLRP1, NLRP3, ASC és pro-kaspáz-1 mRNS szintje magasabb a kontrollokéhoz képest. Hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült TLR4-KO egerek kisagyi NLRP1, NLRP3, ASC és pro-kaspáz-1 mRNS szintje alacsonyabb a WT-okéhoz képest.

4.2.13. Hosszantartó alkohol adásában részesült TLR4-KO egerek kisagyi kaspáz-1 aktivitása magasabb a kontrollokéhoz képest. Nincs különbség hosszantartó alkohol adásában részesült TLR4-KO és WT egerek kisagyi kaspáz-1 aktivitásában.

4.2.14. Nincs különbség hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerek kisagyi endotoxin szintje között.

4.2.15. Hosszantartó alkohol adásában részesült egerek kisagyi HMGB1 mRNS szintje magasabb a kontrollokéhoz képest. Nincs különbség hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerek kisagyi HMGB1 fehérje szintje között. Immunprecipitációval a hosszantartó alkohol adásában részesült egerek kisagyában az acetilált- és foszforilált-HMGB1 szintek magasabbak a kontrollokéhoz képest.

4.2.16. Nincs különbség hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerek kisagyi IL-1R szintje között. Hosszantartó alkohol adásában részesült egerek kisagyi endogén IL-1Ra szintje magasabb a kontrollokéhoz képest.

4.2.17. Nincs különbség rekombináns IL-1Ra-val kezelt, hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerek kisagyi TNF α mRNS szintje között. Ezzel szemben rIL-1Ra-val kezelt, hosszantartó alkohol adásában részesült egerek kisagyi TNF α fehérje szintje magasabb a kontrollokéhoz képest. Mind a kisagyi TNF α mRNS és fehérje szintek alacsonyabbak rIL-1Ra kezelt, hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerekben a Saline kezeltékéhez képest.

4.2.18. Nincs különbség rIL-1Ra-val kezelt, hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerek kisagyi pro-IL-1 β mRNS illetve IL-1 β fehérje szintje között. A Saline kezelt kontrollokéhoz képest a háttér kisagyi IL-1 β fehérje szint magasabb rIL-1Ra kezelt egerekben.

4.2.19. Nincs különbség rIL-1Ra-val kezelt, hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerek

kisagyi receptor (TLR2, TLR4, TLR9), inflammaszóma (NLRP1, NLRP3, ASC, pro-kszpáz-1), IL-1R vagy endogén IL-1Ra mRNS szintjei között.

4.2.20. rIL-1Ra-val kezelt, hosszantartó alkohol adásában részesült egerek kisagyi kaszpáz-1 aktivitása magasabb az azonos kalória tartalmú diétán lévő kontrollokéhoz képest. A kisagyi kaszpáz-1 aktivitás alacsonyabb rIL-1Ra kezelt, hosszantartó alkohol adásában részesült egerekben a Saline kezeltekéhez képest.

4.2.21. Nincs különbség rIL-1Ra-val kezelt, hosszantartó alkohol adásában és azonos kalóriatartalmú diétában részesült egerek kisagyi acetilált-HMGB1 szintjei között.

4.2.22. Az egerek kisagyi TNF α és pro-IL-1 β mRNS, valamint a TNF α fehérje szintjei megemelkednek intracranialis rekombináns IL-1 β injektálását követően a Saline kezelt kontrollokéhoz képest.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

5.1. A heveny és idült alkohol fogyasztás állatmodellen egyaránt károsítja a bél barriert, ugyanakkor a heveny alkohol fogyasztást követő szérum endotoxin emelkedés csupán átmeneti.

5.2. A szérum endotoxin szintjének emelkedése állatmodellen idült alkohol fogyasztás során alacsony, míg heveny alkohol fogyasztás mellett magas Reg3b szinttel jár.

5.3. Az idült alkohol fogyasztás állatmodellen a bél-máj-agy tengelyen gyulladásoos választ okoz, melynek része a megnövekedett NF- κ B aktiválás és fokozott TNF α képződés.

5.4. Az idült alkohol fogyasztás állatmodellen az NLRP3/ASC inflammaszóma fokozott képződéséhez és aktivációjához, ezen keresztül megnövekedett kaszpáz-1 aktivációhoz és IL-1 β képződéshez vezet a májban és a kisagyban, szemben a vékonybél kezdeti szakaszán észleltekkkel.

5.5. Az idült alkohol fogyasztás állatmodellen növeli a foszforilált- és acetilált-HMGB1 szintjét a kisagyban.

5.6. Az IL-1/IL-1R jelátviteli útvonal rIL-1Ra-val történő gátlása megelőzi az alkohol okozta inflammaszóma aktivációt, ideggyulladás és zsíros májgyulladás kialakulását állatmodellen, mivel gátolja az inflammaszóma aktivációját, valamint az IL-1 β és TNF α fokozott képződését.

5.7. Az IL-1 β felerősíti a gyulladásos folyamatokat az idegrendszerben és a májban állatmodellen.

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

6.1. Az értekezéshez kapcsolódó közlemények:

6.1.1. Petrasek J, Bala S, Csak T, Lippai D, Kodys K, Menashy V, Barrieau M, Min SY, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2012) IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice. *J Clin Invest*, 122: 3476-3489.

6.1.2. Lippai D, Bala S, Petrasek J, Csak T, Levin I, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2013) Alcohol-induced IL-1beta in the brain is mediated by NLRP3/ASC inflammasome activation that amplifies neuroinflammation. *J Leukoc Biol*, 94: 171-182.

6.1.3. Lippai D, Bala S, Csak T, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2013) Chronic alcohol-induced microRNA-155 contributes to neuroinflammation in a TLR4-dependent manner in mice. PLoS One, 8: e70945.

6.1.4. Lippai D, Bala S, Catalano D, Kodys K, Szabo G. (2014) Micro-RNA-155 deficiency prevents alcohol-induced serum endotoxin increase and small bowel inflammation in mice. Alcohol Clin Exp Res, 38: 2217-2224.

6.2. Az értekezéshez kapcsolódó absztraktok, kongresszusi összefoglalók:

6.2.1. Előadások:

6.2.1.1. Lippai D, Bala S, Petrasek J, Csak T, Levin I, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2013) Alcohol-induced IL-1 β Production is Mediated by NLRP3/ASC Inflammasome Activation in the Brain. Symposium: Neuroimmune Activation, Microglia and Alcohol Addiction. The 36th annual RSA scientific meeting, Orlando, FL, US.

6.2.1.2. Lippai D, Bala S, Petrasek J, Csak T, Levin I, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2012) Chronic Alcohol-Induced IL-1 β is mediated by the NALP3/ASC Inflammasome Activation in a TLR4-Independent Manner in the Brain and Prevented by IL-1 Receptor Antagonist Treatment. The 45th annual meeting of the Society for Leukocyte Biology, Maui, HI, US.

6.2.2. Poszterek:

6.2.2.1. Lippai D, Bala S, Donna C, Kodys K, Szabo G (2014) Alcohol-induced Small Bowel Inflammation is Prevented by

Micro-RNA-155 Deficiency. 9th Meeting on Alcoholic liver and pancreatic disease symposium, Szeged, HU.

6.2.2.2. Lippai D, Bala S, Petrasek J, Csak T, Levin I, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2012) Chronic Alcohol-Induced IL-1 β is mediated by the NALP3/ASC Inflammasome Activation in a TLR4-Independent Manner in the Brain and Prevented by IL-1 Receptor Antagonist Treatment. Clinical and Translational Science Research Retreat, UMASS, Worcester MA, US.

6.2.2.3. Petrasek J, Bala S, Lippai D, Kodys K, Menashy V, Barrieau M, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2012) Caspase-1-dependent, IL-1 β -mediated alcoholic steatohepatitis is ameliorated by IL-1 receptor antagonist treatment in mice. Clinical and Translational Science Research Retreat, UMASS, Worcester MA, US.

6.2.2.4. Lippai D, Bala S, Petrasek J, Csak T, Levin I, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2012) Chronic Alcohol-Induced IL-1 β is mediated by the NALP3/ASC Inflammasome Activation in a TLR4-Independent Manner in the Brain and Prevented by IL-1 Receptor Antagonist Treatment. The 45th annual meeting of the Society for Leukocyte Biology, Maui, HI, US.

6.2.2.5. Petrasek J, Bala S, Lippai D, Kodys K, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2012) Inflammasome Complex Components, ASC and Caspase-1, Mediate Alcoholic Steatohepatitis via Interleukin-1 in Mice. The 45th annual meeting of the Society for Leukocyte Biology, Maui, HI, US.

6.2.2.6. Lippai D, Bala S, Csak T, Petrasek J, Levin I, Szabo G. (2012) Inflammasome Activation Mediates IL-1 β Increase

in the Brain of Chronic Alcohol-fed Mice. The 35th annual RSA scientific meeting, San Fransisco, CA, US.

6.2.2.7. Petrasek J, Lippai D, Kodys K, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2011) IL-1 Receptor Antagonist Treatment Attenuates Alcoholic Liver Disease Induced by Inflammasome-mediated Activation of IL-1 β . The 62nd annual meeting of AASLD, San Fransisco, CA, US.

6.3. Az értekezés témájától független közlemények:

6.3.1. Bala S, Csak T, Momen-Heravi F, Lippai D, Kodys K, Catalano D, Satishchandran A, Ambros V, Szabo G. (2015) Biodistribution and function of extracellular miRNA-155 in mice. *Sci Rep*, 5: 10721.

6.3.2. Gellért B, Murányi M, Madácsy L, Lippai D, Tulassay Zs. (2015) Propofolos mély szedációban végzett kolonoszkópos beavatkozások hatékonyságának és szövődményeinek prospektív vizsgálata. *Magyar Belorvosi Archivum*, 68: 177-183.

6.3.3. Csak T, Velayudham A, Hritz I, Petrasek J, Levin I, Lippai D, Catalano D, Mandrekar P, Dolganiuc A, Kurt-Jones E, Szabo G. (2011) Deficiency in myeloid differentiation factor-2 and toll-like receptor 4 expression attenuates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 300: G433-41.

6.3.4. Csak T, Dolganiuc A, Kodys K, Nath B, Petrasek J, Bala S, Lippai D, Szabo G. (2011) Mitochondrial antiviral signaling protein defect links impaired antiviral response and liver injury in steatohepatitis in mice. *Hepatology*, 53: 1917-1931.

6.3.5. Csak T, Pillai A, Ganz M, Lippai D, Petrasek J, Park JK, Kodys K, Dolganiuc A, Kurt-Jones EA, Szabo G. (2014) Both bone marrow-derived and non-bone marrow-derived cells contribute to AIM2 and NLRP3 inflammasome activation in a MyD88-dependent manner in dietary steatohepatitis. *Liver Int*, 34: 1402-1413.

6.3.6. Csak T, Bala S, Lippai D, Satishchandran A, Catalano D, Kodys K, Szabo G. (2015) microRNA-122 regulates hypoxia-inducible factor-1 and vimentin in hepatocytes and correlates with fibrosis in diet-induced steatohepatitis. *Liver Int*, 35: 532-541.

6.3.7. Csak T, Bala S, Lippai D, Kodys K, Catalano D, Iracheta-Vellve A, Szabo G. (2015) MicroRNA-155 Deficiency Attenuates Liver Steatosis and Fibrosis without Reducing Inflammation in a Mouse Model of Steatohepatitis. *PLoS One*, 10: e0129251.

6.3.8. Szappanos A, Toke J, Lippai D, Patocs A, Igaz P, Szucs N, Futo L, Glaz E, Racz K, Toth M. (2010) Bone turnover in patients with endogenous Cushing's syndrome before and after successful treatment. *Osteoporos Int*, 21: 637-645.

6.3.9. Lippai D, Miheller P, Tulassay Zs. (2010) Gombaszepszis Crohn-betegségben. *Magyar Belorvosi Archivum* 63: 48-51.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani PhD témavezetőmnek, a mindig energikus és lelkes **Dr. Szabó Gyöngyi** Professzor asszonynak, hogy az általa vezetett kutatómunkába

bekapcsolódhattam, és résztvevője lehettem munkacsoportjának. Szabó Professzor asszony lehetőséget teremtett, hogy szabadon folytassak kutatást különböző témákban, és éleslátó, igényes bírálataival segítette e tervek előmenetelét. Köszönöm kritikus szakmai irányítását, a tudományos tevékenységem során felmerülő nehézségek megoldása terén nyújtott sokoldalú segítségét, illetve a tudományos közlemények megírása során nyújtott szakmai észrevételeit.

Köszönettel tartozom **Dr. Tulassay Zsolt** Professzor úrnak, mentoromnak, aki felkeltette érdeklődésemet Szabó Professzor asszony által kutatott témák iránt.

Köszönöm Szabó Professzor asszony által irányított laboratórium munkatársainak –**Shashi Bala, Csák Tímea, Arijeet Gattu, Jan Petrsek, Karen Kodys, Donna Catalano, Ivan Levin, Anna Cerny, Terence Bukong, Shuye Zhang, Matthew Barrieu**– a kritikus légkört és a segítséget, amely rendkívül hasznos volt tanulmányaim tökéletesítésében.

Szeretném megköszönni továbbá **Kurt-Jones** Professzor asszony segítségét is.

Az értekezés alapját képező tudományos munkára a **University of Massachusetts Medical School** Kutatóegyetemen került sor. A kísérletek megvalósulásához és a munka elvégzéséhez a **U.S. National Institutes of Health** AA017729 és AA011576 sz. pályázatok nyújtottak támogatást.

