

# SIGMA-1 RECEPTOR AGONIZMUS: ÚJ TERÁPIÁS LEHETŐSÉG VESEBETEGSÉGEKBEN

Doktori tézisek

**Hosszú Ádám**

Semmelweis Egyetem

Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Fekete Andrea, Ph.D., egyetemi adjunktus

Hivatalos bírálók:

Dr. Sziujártó Attila, D.Sc., egyetemi docens

Dr. Dolgos Szilveszter, Ph.D., egyetemi adjunktus

Szigorlati bizottság elnöke:

Prof. Benyó Zoltán, Ph.D., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Kökény Gábor, Ph.D., egyetemi adjunktus

Dr. Dede Kristóf, Ph.D., egyetemi adjunktus

Budapest, 2016

## Bevezetés

A krónikus vesebetegség (CKD) napjaink egyik legjelentősebb népegészségügyi problémája, mely világszerte komoly egészség-gazdasági terhet jelent a társadalom számára. A népesség több mint 10%-a szenved CKD-ban és a betegek száma egyre nő. A CKD utolsó stádiumában végállapotú veseelégtelenség (ESRD) alakul ki amikor a vesefunkció teljesen megszűnik. Az ESRD emelkedő tendenciájának hátterében főként a civilizációs betegségek, a diabétesz mellitusz (DM) és magas vérnyomás rohamosan növekvő incidenciája áll. Világszerte több mint 400 millió ember szenved DM-ben és ezen betegek mintegy egyharmadában diabéteszes nefropátia (DNP) is kialakul. A globális trend arra enged következtetni, hogy a jövőben a DNP tovább fogja növelni a CKD és az ESRD prevalenciáját.

A CKD kialakulásának az akut vesekárosodás (AKI) is fontos rizikófaktora, mely az ESRD esetek 2-3%-ának kialakulásáért felelős. Emellett hosszútávon az AKI jelentősen megnöveli a CKD és ESRD kialakulásának esélyét még akkor is, ha a vesefunkció kezdetben javul. Ez egy kétirányú kölcsönhatás, mivel a CKD betegek sokkal érzékenyebbek az AKI-ra.

Az ESRD betegek számára a vesepótló kezelés (dialízis vagy vesetranszplantáció) az egyetlen terápiás lehetőség. A vesepótló kezelések közül a transzplantáció (KTx) jóval előnyösebb, mivel jobb túlélési esélyt és életminőség javulást biztosít. A műtéti technikák és az immunszuppresszió fejlődésével a KTx rövidtávú kimenetele jelentősen javult, ezzel szemben a hosszútávú kimenetel nem változott az elmúlt évtizedekben. A hosszútávú kimenetelt befolyásoló tényezők lehetnek alloantigén-függők (pl. HLA egyezés, HLA immunizáció stb), vagy alloantigén-függetlenek (donor típusa, donor és recipiens kora, dialízisen töltött idő stb.). Az alloantigén-független faktorok közül az egyik legfontosabb az iszkémia/reperfúziós károsodás (IRI), amely nagymértékben befolyásolja a KTx hosszútávú kimenetelét. KTx során az IRI

elkerülhetetlen, emellett a hideg iszkémia hossza korrelál a késői graft funkcióval.

Az iszkémiás AKI legfontosabb morfológiai elváltozásai a proximális tubulus kefeszegély vesztese, a sejtek depolarizációja, a nekrotikus szövettörmelék felhalmozódása, valamint a peritubuláris kapillárisok eltömődése, az endotél károsodása és a leukocita akkumuláció. A kapilláris endotélium kiemelkedő szerepet tölt be az IRI patofiziológiájában. A vese magas energiaigényű nefronszegmenseket tartalmazó régióiban még egészséges állapotban is relatív hipoxia alakul ki a csökkent vérátáramlásnak és oxigenizáltságnak köszönhetően. Ez a relatív hipoxia iszkémiát követően még kifejezettebbé válik és sejtkárosodáshoz, sejthalálhoz vezet. Ekkor a vese vérátáramlása felére csökken a külső medullában még a reperfüzió kezdeti szakaszában is. A kis arteriolákban és peritubuláris kapillárisokban vazokonstriktorok (pl. endotelin) szabadulnak föl, míg a vazodilatátorok, mint pl. az endotéliumból származó nitrogén monoxid (NO) mennyisége csökken, így vazokonstriktió alakul ki.

A krónikus vazokonstriktió a DNP-nek is lényeges patogénikus jellemzője, a hiperglikémia aktiválja a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszert (RAAS), amely iszkémiához vezet. A renális vérátáramlás csökkenése további RAAS aktivációhoz és reaktív oxigénigényök (ROS) termeléshez vezet. Ezen folyamatok következtében a vese jelentős funkcionális és strukturális károsodást szenved.

A gyulladós folyamatok is nagyban hozzájárulnak az akut és krónikus vesekárosodáshoz. Az immunrendszer sejtjei felszaporodnak és az endotéliumhoz tapadva ROS-t, proteázokat és gyulladási citokineket szabadítanak fel, tovább súlyosbítva ezzel a vesekárosodást mind akut modellekben, mind DNP-ben.

A közelmúltban egy új molekula, a Sigma-1 receptor (S1R) került a figyelem középpontjába, mint az agyi iszkémia és a stroke elleni protektív folyamatok kulcsfontosságú mediátora. Az agyban nagy mennyiségben expresszálódó S1R az endoplazmatikus

retikulumban (ER) található, de ligand stimulus hatására transzlokálódik a citoplazmába. Agyi iszkémiás modellekben a S1R kezelés csökkentette az infarktusz terület méretét, feltehetően a sejt túlélés elősegítése és a gyulladási válasz csökkentése által. A S1R stimulációja szív hipertrófiában is jótékony hatásúnak bizonyult, melynek háttérében a protein kináz B (Akt)-endoteliális nitrogén monoxid szintáz (eNOS) jelátviteli útvonal serkentését feltételezték.

Ezek az előzetes agyi és szív iszkémiás eredmények arra utalnak, hogy a S1R protektív és vazodilatatív útvonalakat aktiválhat a vese iszkémiás károsodása esetén is. Mivel vese iszkémiában igen magas a morbiditás és a mortalitás, továbbá a terápiás lehetőségek korlátozottak, a molekuláris mechanizmusok pontos feltérképezése elengedhetetlen új renoprotektív terápiák kidolgozásához.

Preklinikai kísérleteinkben - Ph.D. munkám során - az akut és krónikus vesekárosodás gyógyításában igencsak ígéretes S1R agonista kezelés lehetőségét vizsgáltuk.

## Célkitűzések

Kísérleteink célja az IRI által kiváltott AKI patomechanizmusának vizsgálata, valamint a KTx-ban és DNP-ban is használható új terápiás célpontok felkutatása volt. A kurrens irodalom szerint a S1R agyi és szív iszkémiában protektív, így fő célunk a receptor szerepének vizsgálata volt vesebetegségekben.

Céljaink:

1. A S1R intrarenális és szubcelluláris lokalizációjának vizsgálata egészséges és iszkémiás vesében
2. A S1R által mediált molekuláris folyamatok feltérképezése
3. A S1R agonisták lehetséges protektív hatásának igazolása akut (vese IRI) és krónikus (DNP) modellekben
4. A S1R agonista kezelés védő szerepének tanulmányozása KTx-ban

## Módszerek

### Vese iszkémia/reperfúziós modell és kezelési csoportok

Kísérleteinket  $200 \pm 15$ g súlyú ivarérett hím Wistar patkányokon végeztük. Az iszkémiás inzultus során a bal veseartériát és -vénát atraumatikus klip segítségével 50 percre leszorítottuk. Az iszkémiás idő lejárta előtt az ellenoldali vesét eltávolítottuk, majd a klippet felengedtük. A sham állatok áloperáción estek át. Az előzetesen meghatározott reperfúziós idők elteltével vér- és veseszövet mintavétel történt.

A dehidroepiandrosteron (DHEA) hatásának vizsgálatához a patkányokat 25 és 1 órával a műtéti beavatkozást megelőzően a következőkkel kezeltük:

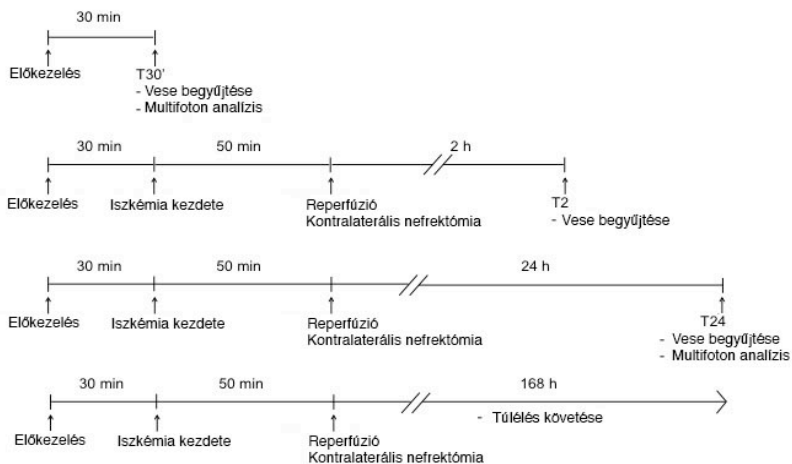
- (i) izotóniás sóoldat, mint vivőanyag
- (ii) DHEA (4 mg/ttkg)

A fluvoxamin (FLU) hatásának vizsgálatához a patkányokat 30 perccel az iszkémiás inzultust megelőzően a következőkkel kezeltük:

- (i) izotóniás sóoldat, mint vivőanyag
- (ii) FLU (20 mg/ttkg)
- (iii) FLU (20 mg/ttkg) + NE100 (1 mg/ttkg, specifikus 5 $\alpha$ R antagonist)

Az NO által mediált folyamatok vizsgálatához a következő kezeléseket alkalmaztuk 30 perccel az iszkémiás inzultus előtt:

- (i) FLU (20 mg/ttkg) + L-NAME (10 mg/ttkg, nem szelektív NOS inhibitor)
- (ii) FLU (20 mg/ttkg) + L-NIO (20 mg/ttkg, szelektív eNOS inhibitor)
- (iii) FLU (20 mg/ttkg) + 7-NI (25 mg/ttkg, szelektív nNOS inhibitor)



1. Ábra. A renális iszkémia modell kísérleti terve

## Renális izograft autotranszplantáció patkány modell

A veséket hideg Custodiol perfúziós oldattal perfundáltuk, majd kivettük az állatból és 2 órára az alábbiak egyikét tartalmazó edénybe helyeztük:

- (i) hideg Custodiol perfúziós oldat
- (ii) 0,003 mg/ml FLU-t tartalmazó hideg Custodiol perfúziós oldat

2 óra elteltével a veséket visszahelyeztük a patkányokba és vég-a-véghez anasztomózt is végeztünk a renális artérián, vénán, valamint az ureteren. Az ellenoldali veséket eltávolítottuk. A meleg iszkémiás idő minden esetben 35 perc volt.



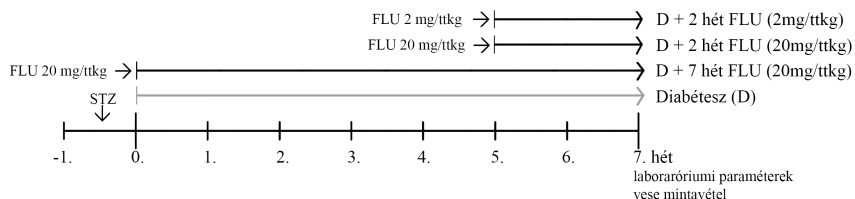
2. Ábra. A renális autotranszplantációs modell kísérleti terve

## 1-es típusú diabétesz mellitusz (DM1) patkánymodell és kezelési csoportok

A DM1-et egyszeri, 0,1 M citrát pufferben oldott 65 mg/ttkg *intraperitoneális* streptozotocin (STZ) injekcióval indukáltuk. A patkányokat véletlenszerűen négy csoportba osztottuk és naponta kezeltük *per os*:

- (i) FLU (20 mg/ttkg) 7 héten keresztül
- (ii) FLU (20 mg/ttkg) 2 héten keresztül a DM1 5 hetes fennállását követően
- (iii) FLU (2 mg/ttkg) 2 héten keresztül a DM1 5 hetes fennállását követően

Kontrollként korban egyeztetett patkányokat használtunk, amelyeket a diabéteszes állatokkal egyidőben naponta kezeltünk izotóniás sóoldattal.



3. Ábra. Az 1-es típusú diabétesz mellitusz patkány modell kísérleti terve

### *In vitro* modell

*In vitro* kísérleteinkben humán proximális tubuláris sejtvonalon (HK2) 30 perces, 400  $\mu$ M hidrogén peroxiddal oxidatív stresszt indukáltunk. A sejteket 30 perccel a begyűjtést megelőzően az alábbiakkal kezeltük:

- (i) FLU (10  $\mu$ M)
- (ii) FLU (10  $\mu$ M) + NE100 (3  $\mu$ M)
- (iii) FLU (10  $\mu$ M) + AktVIII inhibitor (10  $\mu$ M)
- (iv) FLU (10  $\mu$ M) + AktIV inhibitor (10  $\mu$ M)



## **Kísérletek**

### **Vesefunkciós és metabolikus paraméterek**

Mértük a szérum kreatinin (SCr), BUN, szérum GOT, szérum glükóz, fruktózamin, elektrolitok (nátrium, kálium, klorid), albumin, össz fehérje, trigliceridek, össz koleszterin és glutamát-piruvát transzamináz paramétereket.

### **Hisztológia**

A tubuláris károsodás mértékét hematoxilin-eozin és perjódsav-Schiff festett vesemetszeteken értékeltük ki. A tubulointersticiális fibrózis megítélésére Masson trikróm festést, a kollagén felhalmozódás vizsgálatára Sirius red festést használtunk. A S1R lokalizációját S1R-specifikus DAB festéssel és fluoreszcens immunohisztokémia segítségével vizsgáltuk.

### **Renális perfúzió és struktúra *in vivo* vizsgálata**

A vesekárosodás mértékének vizsgálatát és a peritubuláris kapilláris átmérők mérését élő patkányokban 2-foton mikroszkóppal végeztük.

### **Fehérjék mennyiségi meghatározása**

Western blot technikával mértük a S1R, foszfo-Akt (Ser473), foszfo-eNOS (Ser1177) és nNOS fehérjék mennyiségi változását.

### **Tubulus károsodás markerek mRNS meghatározása**

A Hif-1 $\alpha$ , Ngal, Kim-1 és Mcp-1 vesekárosodás markerkeket kvantitatív real-time PCR-el vizsgáltuk. A célfehérjék mRNS expresszióját Gapdh háztartási gén hányadosaként határoztuk meg.

## **NO mérés**

A szérumban és HK2 sejthomogenizátumokban az NO stabil oxidációs metabolitjainak ( $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ ) termelődését Griess reagenssel mértük.

## **S1R géncsendesítés**

A HK2 sejteket S1R-specifikus siRNS-el vagy nem kódoló, negatív kontroll siRNS-el transzfektáltuk Lipofectamine 2000 segítségével. A géncsendesítés határfokát Western blotál állapítottuk meg.

## **Statisztikai analízis**

A parametrikus adatokat átlag  $\pm$  SEM, a nem parametrikus adatokat medián  $\pm$  tartomány formában adtuk meg. A statisztikai elemzést GraphPad Prism szoftverrel (5.00 verzió) végeztük. Az állatok túlélését Logrank teszttel értékeltük. A többszörös összehasonlításokhoz és lehetséges interakciók vizsgálatához egyutas ANOVA és Bonferroni post-hoc tesztet használtunk. A nem parametrikus adatoknál Kruskal–Wallis ANOVA on ranks és Fischer tesztet alkalmaztunk. Statisztikailag szignifikánsnak a  $P < 0,05$  értéket tekintettük.

## Eredmények

### A S1R expresszálódik a vesében

Kutatócsoportunk elsőként írta le a S1R régióspecifikus eloszlását a vesében. S1R-specifikus DAB festés és Western blot eredményeink szerint a S1R legnagyobb mennyiségben a renális kortexben expresszálódik, de megtalálható a medullában és a papillában is. PAS és anti-S1R DAB kettős festéssel kimutattuk, hogy a S1R a proximális tubulusokban expresszálódik, a glomerulusokban azonban nem. Ezt S1R-ra és a különböző nefron szegmentumokra specifikus fluoreszcens immunohisztokémiai kettős jelöléssel is alátámasztottuk: a S1R kolokalizációt mutatott a proximális tubulus-specifikus gamma-glutamiltranszferázzal, míg a disztális tubulusra specifikus Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP-ázzal, a glomerulusokat jelölő eNOS-sal, ill. a macula densát jelölő nNOS-sal nem.

### A DHEA javítja a posztisztkémiás vesefunkciót és csökkenti a strukturális károsodást

Miután kimutattuk a S1R jelenlétét a vesében, célunk a S1R agonista kezelés hatásának vizsgálata volt vese IRI-ben.

Elsőként S1R endogén agonista DHEA kezelést követően 7 napig követtük a posztisztkémiás túlélést. A DHEA előkezelés javította a patkányok túlélését a vehikulum kezelt csoporthoz képest (medián túlélés: 72 *versus* 36 óra, P<0,001).

Az IRI akut hatásait 24 óra reperfüzió után vizsgáltuk. 2-foton mikroszkópia segítségével élő állatokban mértük a peritubuláris kapilláris átmérők változását. Iszkémiát követően vazokonstriktió alakult ki, amely arra utal, hogy a renális vérátáramlás csökkenése okozhatja a funkcionális és strukturális károsodást. A DHEA kezelés javította a vesefunkciót és meggátolta a peritubuláris vazokonstriktiót.

A funkcionális károsodást szövettani elváltozások is kísérték: a kefeszegélyek eltűntek, a tubulusok nagy részében a sejtek nekrotizáltak és nagyfokú szövettörmelék felhalmozódást figyeltünk meg. A DHEA előkezelés jelentősen csökkentette a tubuláris nekrozist és részben megőrizte a kefeszegélyeket.

### **A nagy affinitású S1R agonista FLU renoprotektív vese IRI-t követően**

A S1R protektív szerepének további bizonyítására a patkányokat FLU-val kezeltük, amely a DHEA-nál jóval nagyobb affinitással kötődik a S1R-hoz.

A FLU-val kezelt patkányok jelentősen jobb túlélést mutattak, mint a vehikulummal vagy FLU + specifikus S1R antagonistá NE100-al kezelték (medián túlélés: 67 *versus* 36 és 49 óra  $P < 0,001$ ).

24 óra reperfüziót követően a vesefunkciós paraméterek (SCr, BUN és szérum GOT) romlása kisebb mértékű volt FLU-val kezelt patkányokban. Az NE100 meggátolta ezt a javulást. Az Ngal és a Kim-1 a tubuláris károsodás korai, specifikus markereinek mRNS expressziója szintén csökkent FLU kezelt állatokban. Eredményeink arra utalnak, hogy a S1R agonisták csökkentik az akut vesekárosodás mértékét.

### **A FLU csökkenti a vese strukturális károsodását**

Az IRI által okozott szövettani károsodást PAS-festett metszeteken és *in vivo* 2-foton mikroszkóppal vizsgáltuk. Az iszkémiás vesékben súlyos strukturális károsodást figyeltünk meg, melyet nagymértékű leukocita infiltráció és hialin akkumuláció jellemezett, sok volt a nekrotikus tubulus és a reabszorpciós kapacitás csökkenésére utaló kefeszegély vesztés. Ezzel szemben a FLU-val kezelt vesékben jóval enyhébb volt a tubuláris sérülés valamint a sejt nekrozis mértéke és helyenként ép kefeszegélyt láttunk.

## **A S1R szerepe proximális tubulussejtekben**

Kutatócsoportunk elsőként írta le, hogy a S1R expresszálódik humán proximális tubulussejtekben. A receptor mennyisége nem változott FLU vagy H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kezelést követően, lokalizációja viszont más volt normál állapotban, mint oxidatív stressz mellett. A receptor perinukleárisan helyezkedett el kontroll sejtekben, FLU és H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kezelés után azonban transzlokálódott a citoszolba és a sejtmagokba.

## **A FLU S1R által mediált NO termelést okoz HK2 sejtekben**

A vazodilatatív NO termelés egy lehetséges útvonala az Akt-eNOS jelátviteli útvonal. A FLU növelte a foszfo-eNOS (peNOS, Ser1177; az eNOS enzim aktív formája) fehérje mennyiségét mind normál körülmények között, mind oxidatív stressz mellett. A FLU kezelés ellenére S1R hiányában (S1R géncsendesítés mellett) a peNOS mennyisége alacsony maradt, mely bizonyítja, hogy a S1R a peNOS termelésben szabályozó szerepet tölt be. Az Akt szerepét a FLU által indukált NOS aktivációban és NO termelésben upstream (AktIV) és downstream (AktVIII) gátlószerekkel bizonyítottuk. FLU-kezelt sejtekben az Akt mindkét irányú gátlása csökkentette peNOS mennyiségét és az NO termelést is.

## **A S1R szerepe a vazoregulációban áloperált patkányokban**

Miután *in vitro* körülmények között leírtuk a S1R jelentőségét az NO termelésben, a következő lépés a FLU vese vazoregulációban betöltött szerepének tanulmányozása volt.

A peritubuláris érátmérők változását 2-foton mikroszkóppal mértük áloperált patkányokban a FLU kezelést követően 30 percig. A FLU a megnövekedett peNOS és NO termeléssel párhuzamosan peritubuláris kapilláris dilatációt is okozott.

24 óra reperfüziót követően jelentős peritubuláris vazokonstriktió volt megfigyelhető. A FLU kezelés azonban a megnövekedett NO termeléssel párhuzamosan kapilláris dilatációhoz vezetett, amelyet az NE100 és a különböző NOS inhibitorok meggátoltak. Ez az eredmény alátámasztja hipotézisünket, mely szerint a FLU vazodilatatív hatása a S1R által mediált és NOS függő folyamat.

### **A S1R - Akt - NOS jelátviteli útvonal a vesében**

A FLU megnövelte a pAkt (Ser473) és peNOS (Ser1177) fehérjék mennyiségét már 30 perccel a kezelést követően, míg a S1R és az nNOS mennyisége ekkor nem változott. 24 óra reperfüziót követően azonban minden vizsgált fehérje mennyisége megemelkedett, különösképpen FLU-kezelt patkányokban. Mindezek alapján arra következtethetünk, hogy a FLU azonnal beindítja a S1R jelátvitelt, amit gyors peNOS termelés követ, az nNOS termelés azonban csak később, a reperfüzió alatt indul be. A FLU-kezelt iszkémiás vesében a NOS-ok mellett az NO mennyisége is megnőtt, hozzájárulva a vazodilatációhoz.

### **A FLU kezelés hatása a transzplantált vesében**

Autotranszplantációs modellben is igazoltuk a FLU renoprotektív szerepét. A poszttranszplantációs 24 órás vesefunkció romlása (SCr és a szérum GOT), illetve a korai tubulus károsodás (Ngal, Kim-1 és Mcp-1 mRNS emelkedés) enyhébb volt azokban az állatokban, ahol a graftot a hideg iszkémia alatt FLU tartalmú perfúziós oldatban tároltuk.

A FLU-kezelt vesék PAS festett metszetein enyhébb hisztológiai károsodást figyeltünk meg. A glomerulusok intaktak voltak, a tubuláris plazma és sejtmagok normális festődést mutattak, a kefeszegélyek megtartottak voltak.

Miután igazoltuk a S1R agonizmus védő szerepét az akut vesekárosodás kapcsán, a krónikus vesebetegség vizsgálatára kísérleteinket a diabéteszes nefropátia állatmodelljén folytattuk.

### **A krónikus FLU kezelés protektív DNP-ben**

A DM1 súlyos vesekárosodást okozott, melyet emelkedett SCr, BUN és frakcionált nátrium exkréció, valamint jelentős albuminúria jellemezett. Mind a hosszabb, mind a rövidebb távú FLU kezelés csökkentette a vesefunkció romlását.

Ezzel párhuzamosan a hosszabb és a rövidebb távú FLU kezelés mindkét dózisban mérsékelte a DM1 által okozott mezangiális mátrix expansziót.

A DM1 hatására megnövekedett extracelluláris mátrix és kollagén termelődést csak a hosszú távú FLU kezelés mérsékelte.

Hosszabb és rövidebb távú FLU kezelés után is vizsgáltuk a S1R-Akt-eNOS jelátviteli útvonalat. A S1R és Akt fehérjék növekvő tendenciát mutattak ( $p=0,06$ ). Ezzel szemben a diabéteszben tapasztalt peNOS fehérje csökkenést a FLU meggátolta.

## Következtetések

1. Elsőként írtuk le a S1R expressziós mintázatát különböző nefronszegmensekben. A receptor legnagyobb mennyiségben a kortexben, kisebb mennyiségben a medullában és a papillában is megtalálható.
2. *In vivo* és *in vitro* kísérleteinkben kimutattuk, hogy stimuláció hatására a S1R transzlokálódik a mitokondrium-asszociált ER-ből a citoplazmába és a sejtmagba.
3. Leírtuk, hogy az endogén S1R agonista DHEA renoprotektív az IRI patkány modelljében.
4. Igazoltuk, hogy az exogén, nagy affinitású S1R agonista FLU protektív vese IRI-ban. Nagymértékben javítja a posztisztkémiás túlélést, csökkenti a funkcionális és strukturális károsodást, valamint a gyulladást.
5. Leírtuk a S1R szerepét az Akt-NOS jelátvitel és az NO termelés indukálásában és ezen keresztül a posztisztkémiás vese perfúziójának javításában.
6. Bizonyítottuk, hogy a FLU renoprotektív KTx-ban.
7. Kimutattuk, hogy diabéteszes nefropátiában a krónikus FLU kezelés feltehetően a fibrózis gátlásával és az eNOS termelés növelésével mérsékli a vese funkcionális és strukturális károsodását.



## Saját publikációk jegyzéke

1. Hosszu, A, Antal, Z, Lenart, L, Hodrea, J, Koszegi, S, Balogh, DB, Banki, NF, Wagner, L, Denes, A, Hamar, P, Degrell, P, Vannay, A, Szabo, AJ, Fekete, A. (2016) Sigma1-Receptor Agonism Protects against Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *J Am Soc Nephrol* In press. **IF=8,491**
2. Lenart, L, Hodrea, J, Hosszu, A, Koszegi, S, Zelena, D, Balogh, D, Szkibinszkij, E, Veres-Szekely, A, Wagner, L, Vannay, A, Szabo, AJ, Fekete, A. (2016) The role of sigma-1 receptor and brain-derived neurotrophic factor in the development of diabetes and comorbid depression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Psychopharmacol*, 233: 1269-1278. **IF=3,540**
3. Gellai, R, Hodrea, J, Lenart, L, Hosszu, A, Koszegi, S, Balogh, D, Ver, A, Banki, NF, Fulop, N, Molnar, A, Wagner, LJ, Vannay, A, Szabo, AJ, Fekete, A. (2016) The role of O-linked N-Acetylglucosamine modification in diabetic nephropathy. *Am J Physiol Ren Physiol*: ajprenal.00545.02015. **IF=3,390**
4. Denes, J, Katona, M, Hosszu, A, Czuczy, N, Takats, Z. (2009) Analysis of biological fluids by direct combination of solid phase extraction and desorption electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Chem*, 81: 1669-1675. **IF=5,214**

## Köszönetnyilvánítás

Mindenek előtt rendkívüli hálával tartozom témavezetőmnek, Fekete Andreának, amiért példaképként tekinthettem rá és megmutatta a kemény munka értékét. Fáradhatatlan elkötelezettsége és útmutatása nélkülözhetetlen az egész labor számára.

Hálásan köszönöm Szabó Attila és Tulassay Tivadar Professzor uraknak a lehetőséget, hogy Ph.D. munkámat az I.sz. Gyermekgyógyászati Klinika Kutatólaboratóriumában végezhettem.

Köszönettel tartozom mentoraimnak a Georgetown Egyetemen, Prof. Christopher Wilcoxnak és Dr. William Welchnek támogatásukért és irányításukért. Köszönöm a Rosztoczy Alapítványnak az anyagi támogatást, amely az Egyesült Államokbeli tanulmányutamat lehetővé tette.

Különösen hálás vagyok laborunk „szeinor” kutatóinak, Vannay Ádámnak, Wagner Lászlónak és Hodrea Juditnak szakértő tanácsaikért és ötleteikért, melyek segítettek a kísérletek kivitelezését. Kritikai megjegyzéseikből sokat tanultam a cikkek írása közben.

Szeretném megköszönni összes kollégámnak, hogy motiváló és barátságos légkört teremtettek a laborban. Külön köszönettel tartozom Kőszegi Sándornak a szövettani kiértékelések elvégzéséért és Antal Zsuzsannának az állatműtétek során nyújtott rengeteg segítségéért. Köszönöm Prókai Ágnesnek, hogy megtanította a 2-foton mikroszkópos metodikát. Hálás vagyok Bernáth Máriának segítségéért a laboratóriumi munkákban és sejtkultúrás kísérletekben, nem is beszélve a finom születésnap tortákról. Köszönöm a Lendület munkacsoport tagjainak, Balogh Dórának, Szkibinszkij Edgárnak és Gellai Renátának, hogy egymást támogatva, baráti légkörben dolgozhattunk.

Mérhetetlen hálával tartozom Lénárt Lillának és családomnak, az ő szeretetük és támogatásuk nélkül ez a munka nem születhetett volna meg.