

dc_360_11

TÉZISFÜZET

AKADÉMIAI DOKTORI ÉRTEKEZÉSHEZ

***OXIDATÍV- ÉS KARBONIL STRESSZ DIABETES
MELLITUSBAN ÉS VESEBETEGSÉGBEN***

Wittmann István

Pécsi Tudományegyetem

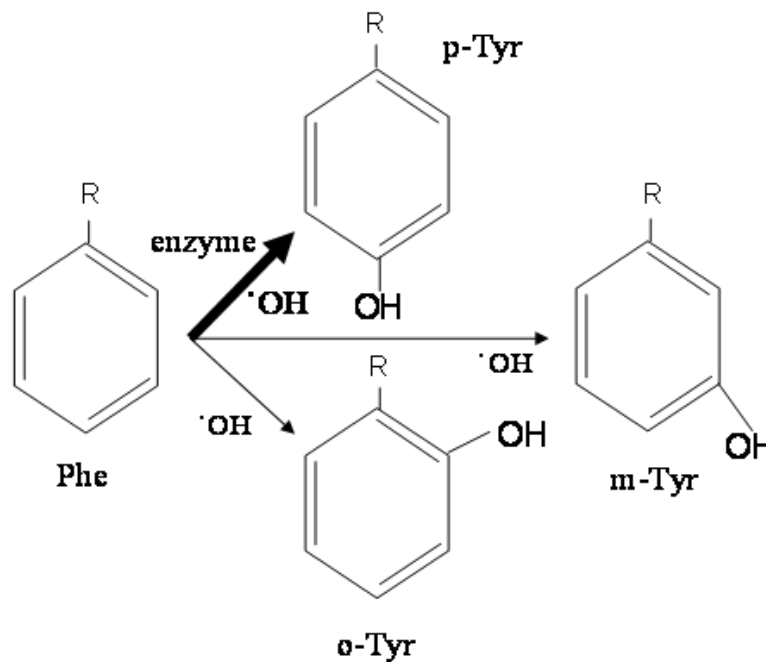
Általános Orvostudományi Kar

II. sz. Belgyógyászati Klinika és Nephrologiai Centrum

Pécs, 2013.

1. BEVEZETÉS

Vizsgálataink során az oxidatív- és a karbonil stressz szerepével foglalkoztunk cukor- és vesebetegségben. Különös figyelmet szenteltünk a hidroxil szabad gyök stabil termékének, az orto- és a meta-tirozin jelentőségének (1. ábra)

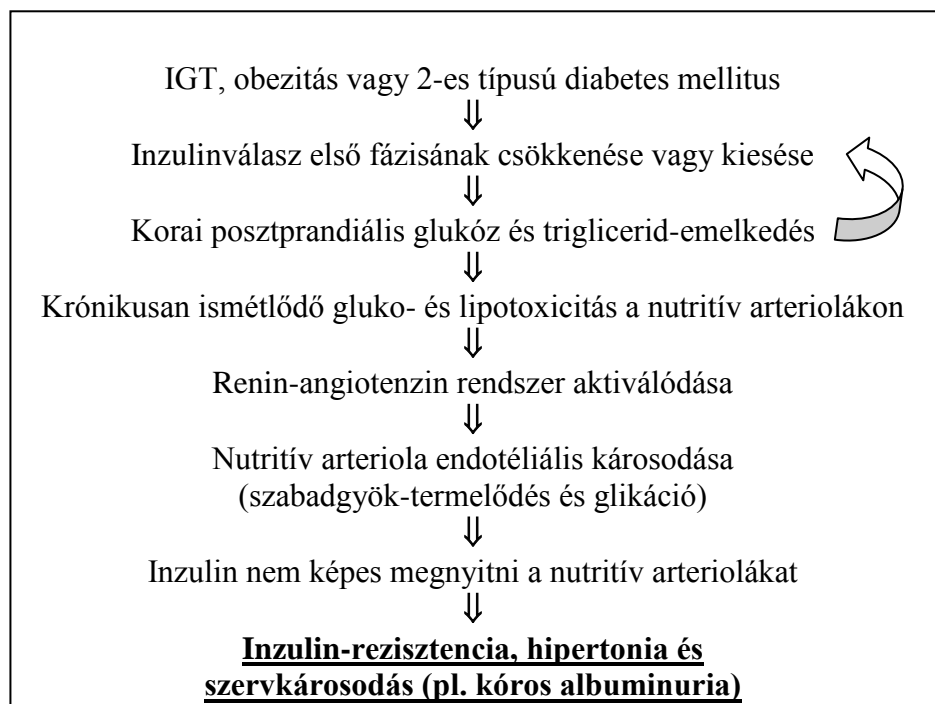


1. ábra A fenilalanin (Phe) konverziója orto-, meta- és para-tirozinná (o-, m-, p-Tyr). A vastag nyíl (**—————>**) jelöli a fiziológias, enzimatikus reakcióirányt, a vékony nyilak pedig (**————>**) azokat az irányokat, amerre a reakció hidroxil szabad gyök hatására mehet. ·OH = hidroxil szabad gyök.

A 2-es típusú diabetes mellitus (DM) kialakulását, számos egyéb folyamat mellett, a perifériás szövetek (izom, zsír és máj) inzulinrezisztenciája és a β -sejtek inzulinszekrúciós defektusa együttesen okozza. Ismert, hogy a 2-es típusú DM-et csökkent glukóztolerancia (impaired glucose tolerance, IGT) és/vagy emelkedett éhomi vércukorérték (impaired fasting glucose, IFG) előzi meg (1.).

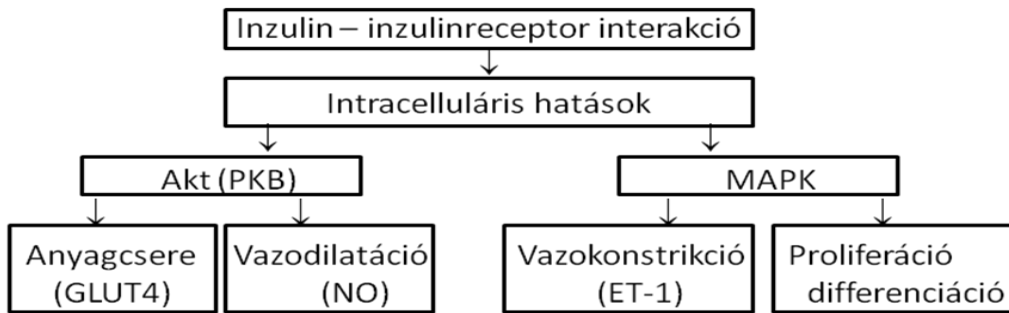
Az inzulin az intracelluláris protein foszforilációs kaszkád rendszeren keresztül foszforilálja az 1177-es pozíciójú szerinen az endotéliális nitrogén-monoxid szintáz (eNOS) enzimet és ezzel aktiválja azt (2.). Az így termelődött nitrogén-monoxid (NO) hatására a vázizomzatban megnyílnak a prekapilláris nutritív arteriolák (ún. kapilláris „recruitment” zajlik), az inzulin eljut a nutritív kapillárisokba, amelyek endotéljén keresztülvándorolva a parenchymás sejtekben fejt ki anyagserehatását (3.).

Ha csökken, vagy kiesik az inzulinszekréció első fázisa, a korai posztprandiális időszakban hyperglykaemia alakul ki, ami további gátló hatást fejt ki az inzulinszekréció első fázisára (2. ábra).



2. ábra A pancreas β -sejt betegsége miatt az inzulinválasz első fázisa kiesik, ami a vázizomzatban inzulin-rezisztenciához, a szisztémás keringésben hipertoniához és szervkárosodáshoz vezet.

A diabetes mellitus és szövődményeinek kialakulásában és progressziójában több tényező is szerepet játszik, ezek közül az egyik legfontosabb a glukotoxicitás. Brownlee és



4. ábra Sematikus ábra az inzulin intracelluláris jelátviteléről. Az ún. inzulinrezisztencia esetén csak az Akt (PKB) útvonal károsodik, a MAPK útvonal intakt marad.

A glikációs végtermék-fragmentumok egyedüli, valódi eliminációs szerve a vese. A vese proximális tubulus sejtjei nagy számban expresszálnak AGE receptort (RAGE). Állatkísérletes adatok szerint a glikációs fehérjefragmentumok, a kismolekulasúlyú fehérjékhez (pl. inzulin) hasonló módon, szabadon filtrálódnak át a glomerulusokon, a proximális tubulusok felszínén lévő RAGE-khoz kötődnek, a tubuláris sejtekbe reabszorbeálódnak, és tovább degradálódnak (5, 6). A vérben keringő glikációs termékek a glomerulus bazális membránon (GBM) való átjutás során kapcsolódhatnak a membrán fehérjéihez. Az ott in situ termelődő dialdehidek a GBM fehérjéi között kereszthidakat létesíthetnek. Ezek a folyamatok a GBM normális negatív töltését csökkenthetik az által, hogy egyrészt a membránhoz kötött heparinoidok mennyiségét csökkentik, másrészt a termelődő szabad gyökök a negatív töltésű szialsav maradékok lehasadását okozzák. A keresztkötések létrejötte a pórusátmérő növekedéséhez vezethet. A vérben keringő fehérjéknek a GBM-hez való kötődése a membrán megvastagodását okozza. A glomeruláris endotélsejtek fokozottan áteresztővé válnak, ami szerepet játszhat a proteinuria kialakulásában és progressziójában. A termelődött szuperoxid szabad gyök, a vese haemodinamikájának regulációjában fontos NO-t hatástalanítja, illetve peroxinitritet képez, ami sejttoxikus. A mezangiumsejtek a glikációs

termékek hatására fokozzák az extracelluláris mátrix fehérje termelését, ami mezangiális expansióhoz vezet (7). A mezangiumsejtek emellett, hasonlóan a simaizomsejtekhez, citokineket és növekedési faktorokat is termelnek, amik szerepet játszhatnak a korai stádiumban a glomeruláris hipertrófia, hiperfiltráció és a proteinuria kialakulásában (8). A mezangiumsejt normális viszonyok között az intraglomeruláris nyomás szabályozásának egyik fontos szereplője, mert simaizom szerűen viselkedve kontrakcióra és relaxációra képes. Ha a glikációs termékek lerakódása miatt megnő a sejtekben a szabad gyökök koncentrációja, akkor elveszíthetik relaxációs képességüket.

Vesebetegségekben már az urémia kialakulása előtt oxidatív stressz-jelenségek figyelhetők meg a vérben és a vizeletben. Feltételezhető, hogy ennek háttérében a karbonil stressz vezető szerepet játszik. Úgy tűnik, hogy kifejezetten érintett a glutation redox-rendszer (9,10), amire indirekt módon az is utal, hogy a keringésben viszonylag korán megjelennek a szérumalbumin különböző oxidált formái (11). Az oxidatív stressz hatására, az NF- κ B aktiválódása révén, citokinek termelődnek. Ez a gyulladáshoz vezető jelenség különösen aktívnak tűnik veseelégtelenségben, akkor is, ha nem gyulladáshoz vezető eredetű a vese-alapbetegség. A citokinek hatására a sejtekben növekszik a szabadgyök-termelés. Feltételezhető, hogy veseelégtelenségben ennek az egész folyamatnak a megindítója és fenntartója a karbonil stressz termékek retenciója, melynek legeredményesebb kezelése a vesetranszplantáció (12).

A dohányzás nem csak a cardiovascularis-, hanem a vesebetegségek kockázati tényezőjeként is ismert. Mitöbb, nem csak az aktív, hanem a passzív dohányzás is szerepet játszik a krónikus vesebetegségek (CKD) iniciációjában és progressziójában, sőt a dohányzás inzulin-rezisztenciához és a diabeteses nephropathia kialakulásához és progressziójához is vezethet. Mivel a CKD a fokozott cardiovascularis morbiditás és mortalitás kockázati tényezője, ezeknek a betegeknek csökken az életkilátása és romlik az életminősége. A

dohányzás mindkét nemben független prediktora a végállapotú veseelégtelenségnek és növeli az albuminuria, proteinuria kockázatát is. Az adatok azt támasztják alá, hogy a dohányzás által megnövelt atherogén kockázat emeli az arteria renalis sztenózisának valószínűségét és így az ischaemiás vese rizikóját is. IgA- és lupus nephropathiában a dohányzás egyértelműen gyorsította a progressziót. A vesepótló kezelésben részesülő dohányosok mortalitása magasabb, mint a nem dohányos társaiké. A pathomechanismusban számos tényező játszik szerepet, azonban minden esetben kiemelhető az oxidatív stressz jelentősége (13, 1. táblázat).

1. táblázat A dohányzás indukálta vesekárosodás pathomechanismusa (13)

Hyperfiltratio

- ismétlődő akut hiperperfúziók + krónikus endotéliális károsodás → hyperfiltratio

Oxidatív stressz

- A CKD kifejlődésével parallel: nő a malondialdehyd + hidrogén-peroxid
- Csökken a glutation-peroxidáz + kataláz + szuperoxid-dizmutáz aktivitása
- A dohányfüst vízdékony komponensei
→ vazóaktív reaktív oxigén- és nitrogén-termékek
→ gyulladáshoz vezető géneexpresszió → endotéliális diszfunkció
- Dohányosokban csökken az NO biológiai hozzáférhetősége + CKD-betegekben: alacsonyabb NO-termelés → renális vazokonstriktio + mezangiális sejtproliferáció

Reverzibilitás

- Ismeretlen az ún. „point of no return” a dohányzás okozta vesekárosodás során
- A dohányzás abbahagyása általában csak a nem súlyos dohányosokban okoz albuminuria-normalizálódást

CKD = krónikus vesebetegség, NO = nitrogén-monoxid.

2.MÓDSZEREK

Klinikai és laboratóriumi módszereket használtunk.

Cukor-, vese- és hypertoniás betegeket tanulmányoztunk, sőt a dohányzás hatását egészséges önkénteseken is vizsgáltuk. Rutin klinikai értékeiket vetettük össze a vér és vizelet oxidatív stressz- és glikációs végtermékszintjével ill. ürítésével, génpolimorfizmusukkal, a szövettanban látott O-glikozilációval és egyéb fénymikroszkópos jellegzetességeikkel, vizeletalbumin-sajátságaiikkal, szemlencsefehérje-módosulásaikkal és endogén ouabain szintjükkel, keresztmetszeti és prospektív követéses vizsgálatokban, sőt intervenciós analízis során is.

Végeztünk állatkísérleteket patkányon, *in vitro* sejttenyészeteket tanulmányoztunk, modelleztük a glomeruláris haematuriát, a dohányfüst, az oxidált fenilalanin-származékok és a pszeudohipoxia hatását. Tanulmányoztuk az erek relaxációját *ex vivo* modellben.

3.EREDETI TUDOMÁNYOS FELISMERÉS (csatlakozó közlemény római száma)

Legfontosabbnak azt a felismerésemet tartom, amely szerint nem elég az oxidatív és karbonil stressz akut hatásait kivédeni, hanem a szubakut károsodások megelőzése is szükséges ahhoz, hogy a kezelés valóban eredményes legyen. Az ehhez a gondolathoz vezető tudományos eredmények a következők:

1. A glikáció és az oxidáció együttes jelenlétében termelődő glikoxidációs termékek, mint pl. az ún. AGE-fluoreszcencia és a karboximetil-lizin szérumszintje, jó szénhidrátháztartással rendelkező 2-es típusú cukorbetegekben csak beszűkült vesefunkció esetében magasabb. (I)

2. Az ischaemiás szívbeteg, 2-es típusú cukorbetegnek GFR-je alacsonyabb, szérum-AGE-szintje és vizeletalbumin-ürítése magasabb, mint a szívbetegségben nem szenvedőké. **(I)**
3. A nem enzimátikus glikáció reverzibilitásáért felelős FN3K enzimnek a G900C polimorfizmusa, CC variánsa esetén a 2-es típusú cukorbetegség későbbi életkorban kezdődik. **(II)**
4. A metilglioxál ventromedialis hypothalamusba történő injektálásával, patkányban metabolikus szindróma kelthető, melynek hatására a vese tubulointersticiumában akkumulálódik az AGE-imidazon és a renin, amelyek felelőssé tehetőek a vese papillafibrózisáért. **(III)**
5. A jelenleg ajánlott összes preventív eljárást alkalmazva diabeteses nephropathiában, a kezelés ellenére is glomeruláris és tubuláris O-glikozilációs eltérések mutathatók ki a vese hisztológiai vizsgálata során, ami arra utal, hogy a hexózamin anyagcsereút aktivációja nem volt kivédhető. **(IV,V)**
6. Szigorú vérnyomáskontrollt alkalmazva IgA nephropathiában a glikoxidációs termékek szintje csak akkor emelkedik meg az egészségesekhez képest, ha a vesefunkció beszűkül. **(VI,VII)**
7. HPLC-alapú eljárást dolgoztunk ki, amelynek segítségével egyszerre lehet mérni az albumin vizeletürítését és a vizeletalbumin glikoxidációját. **(VIII)**
8. A vizeletalbumin glikoxidációja – 2-es típusú cukorbetegben – a vesefunkcióval és nem a glykaemiával mutat kapcsolatot, és nem befolyásolja az immunológiai vizeletalbumin-meghatározást. **(VIII)**
9. A vizelet több éves, -80°C-os tárolása a vizeletalbumin-mennyiség csökkenéséhez vezet, melyben szerepe lehet a vizelet pH-jának és szulfhidril-csoport tartalmának. **(IX)**

10. In vitro modellünk szerint metilglixál hatására a glomeruláris vérzésre jellemző vörösvértest alakok jönnek létre.(X)
11. A metilglioxálos vörösvértest modellünkben, a metilglioxál okozta karbonil stressz oxidatív stresszhez vezetett, amely intracelluláris kalcium-akkumulációt okozott.(XI)
12. Elektronspinrezonancia és egyéb vizsgálataink alapján a metilglioxál komplexálja és redukálja a ferri vasat, amely folyamat a metilglioxál károsító hatásának fontos lépése.(XI)
13. Végállapotú veseelégtelenségben a magasabb szérumszintű AGE-szint (a karboximetil-lizin, CML szérumszintje) magasabb kardiovaszkuláris és ösztörtalítással jár együtt.(XII)
14. Végállapotú veseelégtelenségben a teljes halálozás független kockázati tényezőjének a kor, a kiindulási kardiovaszkuláris betegség, a dohányzás, a magas szérumszintű CRP- és AGE-szint bizonyult.(XII)
15. Az AGE-k és az AGE-k által okozott proteinuria - nephronvesztésen keresztül - olyan circulus vitiosus indít meg, amely atherosclerosisra és a beteg halálához vezet.(V,XII)
16. In vitro kísérleteinkben igazoltuk, hogy a dohányfüst vizes oldata csökkenti az endotélsejtek cGMP termelését és a bradikinin kiváltotta kalcium-akkumulációját.(XIII, XIV)
17. A dohányfüst vizes oldata növeli az eNOS aktiváló (Ser(1177)) és gátló (Thr(495)) foszforilációját is, de jobban emeli a gátló foszforiláció mértékét.(XV)
18. A dohányfüst vizes oldata hatására a normálisan homodimer eNOS monomerekre történő szétválása volt megfigyelhető.(XV)

19. A dohányfüst vizes oldata hatására az Akt (protein kináz B) aktiváló foszforilációja (Ser(473)) csökkent, aminek hatása lehet számos jelátviteli folyamatra (pl. eNOS aktiváció csökken, inzulin-jelátvitele csökken, stb.). (XV)
20. Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy a dohányfüst vizes oldata a protein kináz C- β -n keresztül fejt ki eNOS-hatását. (XV)
21. A dohányfüstnek ezek a hatásai részben, vagy teljesen kivédhetők glutationnal, mint nem specifikus aldehid- és szabadgyök-elfogóval.(XIII-XV)
22. Akut humán vizsgálatban a cigaretta szívása a vese rezisztencia indexének csökkenésével jár, ami feltehetően hyperfiltrációt okoz a vesében.(XVI, XVII)
23. In vitro, myograph-os vizsgálatok alapján a dohányfüst vizes oldatának hidrogénperoxid tartalma az arteria renalis első oszlásán vazodilatációt vált ki, ami endotéliótól független, direkt simaizomhatásként valósul meg, az L-típusú kalciumcsatornák, vagy a Na⁺-Ca²⁺-cseretranszporter befolyásolásán keresztül.(XVI)
24. Humán, retrospektív, hisztológiai vizsgálatunk szerint valószínűsíthető, hogy a dohányzásnak szerepe van a Kimmelstiel-Wilson-lézió kialakulásában.(XVIII)
25. Diabetes mellitusban és diabeteses illetve nem-diabeteses vesebetegekben a vizelet orto-tirozin ürítése magasabb, mint egészségesek esetében, ami fokozott hidroxil szabadgyök-képződésre utal.(XIX)
26. A diabeteses betegcsoportok orto-tirozin frakcionált exkréciója meghaladta a 100%-ot és a vizelet orto-tirozin koncentrációja nem korrelált a szérum orto-tirozin szintjével, amik arra utalhatnak, hogy a hidroxil szabad gyök vesében történő, *in loco* képződésével kell számolnunk.(XIX)

27. Az orto-tirozin frakcionált exkréciója tízszer magasabbnak bizonyult, mint a para-tiroziné, ami lehetővé teszi az afiziológiás orto-tirozin hatékony eliminálását.(XIX)
28. Szemlencsefehérjék analízisével kimutattuk, hogy a diabeteses és a nem-diabeteses kataraktás lencsék vízdékony fehérjéinek relatív fenilalanin tartalma alacsonyabb, mint az egészségeseké.(XX)
29. Mind az egészséges, mind pedig a kataraktás szemlencse homogenizátum fenilalanin tartalma magasabb, mint a szemlencsék vízdékony frakciójáé.(XX)
30. A szemlencse homogenizátum DOPA, meta-tirozin és orto-tirozin tartalma magasabb, mint a szemlencsék vízdékony frakciójáé, ami a nem vízdékony frakcióban található fehérjék hidroxil szabadgyök-általi károsítására utal.(XX)
31. A diabeteses és a nem-diabeteses kataraktás szemlencsék homogenizátumában magasabb a meta-tirozin és az orto-tirozin koncentrációja, mint az egészségesekében.(XX)
32. Az orto- és meta-tirozinon növesztett zsírsejtek – a 25 mmol/l glukózon neveltekhez hasonlóan – inzulin-rezisztensekké váltak. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
33. Az inzulin jelátvitelében kulcsszerepet játszó Akt aktiváló foszforilációja orto- és meta-tirozin hatására ugyanúgy csökkent, mint a 25 mmol/l-es glukóztartalmú médiumban. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
34. Az orto- és meta-tirozinon nevelt zsírsejtek a kóros aminosavakat a tápoldat glukóz- és inzulin-tartalmától függetlenül felvették és az intracelluláris fehérjékbe beépítették. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**

35. Az oxidatív stressz mértéke a perifériás erek felé csökken, ami befolyásolja az erek vazodilatációs készségét inzulinra. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
36. Az oxidatív stressz növekedésével az ERK1/2 útvonal aktiválódik, ami az inzulinhatás csökkenésével jár együtt. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
37. A femorális artériában, ahol az aortához képest sokkal kisebb az oxidatív stressz az inzulin hidrogén-peroxidon keresztül vazorelaxációt okoz. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
38. Az oxidatív stresszt akutan növelve (hidrogén-peroxid+aminotriazollal) vagy csökkentve (szuperoxid dizmutáz+katalázzal, SOD+CAT) az erek vazoaktivitását mérsékelten tudjuk csak befolyásolni. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
39. A hidroxil szabad gyök okozta oxidatív stressz végterméke, az orto-tirozin önmagában is befolyásolhatja az erek vazorelaxációját, csökkentve azt, ugyanis oxidatív stressz nélkül, orto-tirozin etetése révén is ki tudtuk váltani a hatást. **(nem közölt adatok, szabadalmi közzététel: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
40. Az inzulin-rezisztencia és az atherosclerosis is az oxidatív stressz következménye lehet. **(XXI)**
41. A pszeudóhipoxia- okozta oxidatív stressz gátolhatja a máj glukóz-6-foszfátáz enzimét. **(XXII)**
42. Pszeudóhipoxia modellünkben a glukóz-6-foszfátáz enzimgátlást mind a lipid-peroxidáció, mind a hidroxil szabadgyök-képződés okozhatja. **(XXII)**

43. Pszeudóhipoxia modellünkben a vas-ATP komplex a lipid-peroxidációt a vas-EDTA komplex a hidroxil szabad gyök képződését segíti elő. (XXII)
44. Humán, 2-es típusú, inzulinrezisztens cukorbetegén végzett vizsgálatunkban elsőként igazoltuk, hogy a rezveratrol – valószínűleg az orto-tirozin mennyiségének csökkentésén keresztül – mérsékli az inzulin-resztenciát és csökkenti az intersticiális cukor szintjét. (XXIII)
45. Az endogén ouabain szérumszintje a társbetegségekkel rendelkező hypertoniás betegekben magasabb és összefügg az éjszakai vérnyomással, illetve a szubklinikus célszervkárosodásokkal. (XXIV)
46. Az endogén ouabain nem mutat összefüggést az orto-tirozin szintjével, de az orto-tirozin szintjét a vesefunkció nagymértékben determinálja hypertoniás betegekben. (XXIV)
47. A kettős renin-angiotenzin-aldoszterin-rendszer gátlás (ACEI+ARB) nem befolyásolta az endogén ouabain szintjét hypertoniás betegekben, azonban megszüntette az ouabain szintje és a szubklinikus célszervkárosodások közötti összefüggést. (XXV)

4.ÖSSZEFOGLALÁS

Az akut oxidatív-, vagy karbonil stresszhatások azok, amelyeket egy akut antioxidáns kezeléssel, vagy glikációs végtermék eltávolítással (pl. egy inzulin injekció révén a szénhidrátanyagcsere rendezésével, vagy aktuális haemodialízissel) órák alatt mérsékelni lehet. Az akut hatások tartós, vagy ismétlődő fennállása azonban szubakut hatásba fordul át, ami több, mint az akut hatások összessége, és ezek a

szubakut hatások már csak hetek, hónapok alatt védhetők ki (pl. cukorbetegségben hetekig tartó intenzív inzulinkezeléssel, az ún. áttöréssel, vagy veseelégtelenségben vesetranszplantációval). Természetesen ismertek az oxidatív- és a karbonil stresszre krónikusan ható tényezők is, ezek például genetikai polimorfizmusok, vagy gyakran epigenetikai módosulásokat jelentenek, amelyek a DNS, vagy a hozzá kapcsolódó hiszton változásaiban manifesztálódnak (ezek visszafordítása a jelenlegi módszerekkel nem mindig lehetséges).

A glikáció, karboniláció és oxidatív stressz tartós és ismétlődő fennállása, annak szubakut és krónikus hatásai miatt, a hagyományos antioxidáns vitaminkezelés nem lehet eredményes önmagában (lásd nagy klinikai tanulmányokban a vitaminkezelések hatástalanságát), mert ez csak az akut hatásokat célozza meg, ezért további, a szubakut és lehetőség szerint a krónikus elváltozásokra is célzott kezelésekkel kell ezt kiegészíteni. További gondot jelent az antioxidáns E-vitaminkezeléssel kapcsolatban, hogy ez direkt módon a lipid-peroxidációt gátolja, és saját megfigyeléseink szerint a szubakut hatásokat jelentő elváltozások (kóros aminosavak, glikációs végtermékek képződése) inkább a vízfázisban zajlanak. Másrészt a vízzoldékony antioxidáns kezelés gátolhatja az agonista, pl. az inzulin kiváltotta rövid tartamú, kis koncentrációjú hidrogén-peroxid-termelést, ami pedig a hormon intracelluláris jelátviteléhez szükséges.

Vizsgálataink szerint a diabetes mellitus, a hypertonia, a krónikus vesebetegségek, a cardiovascularis betegségek és a dohányzás növeli a szabadgyök-képződést, a glikációt, a karbonilációt, és csökkenti a nitrogén-monoxid biológiai hozzáférhetőségét (5. ábra).

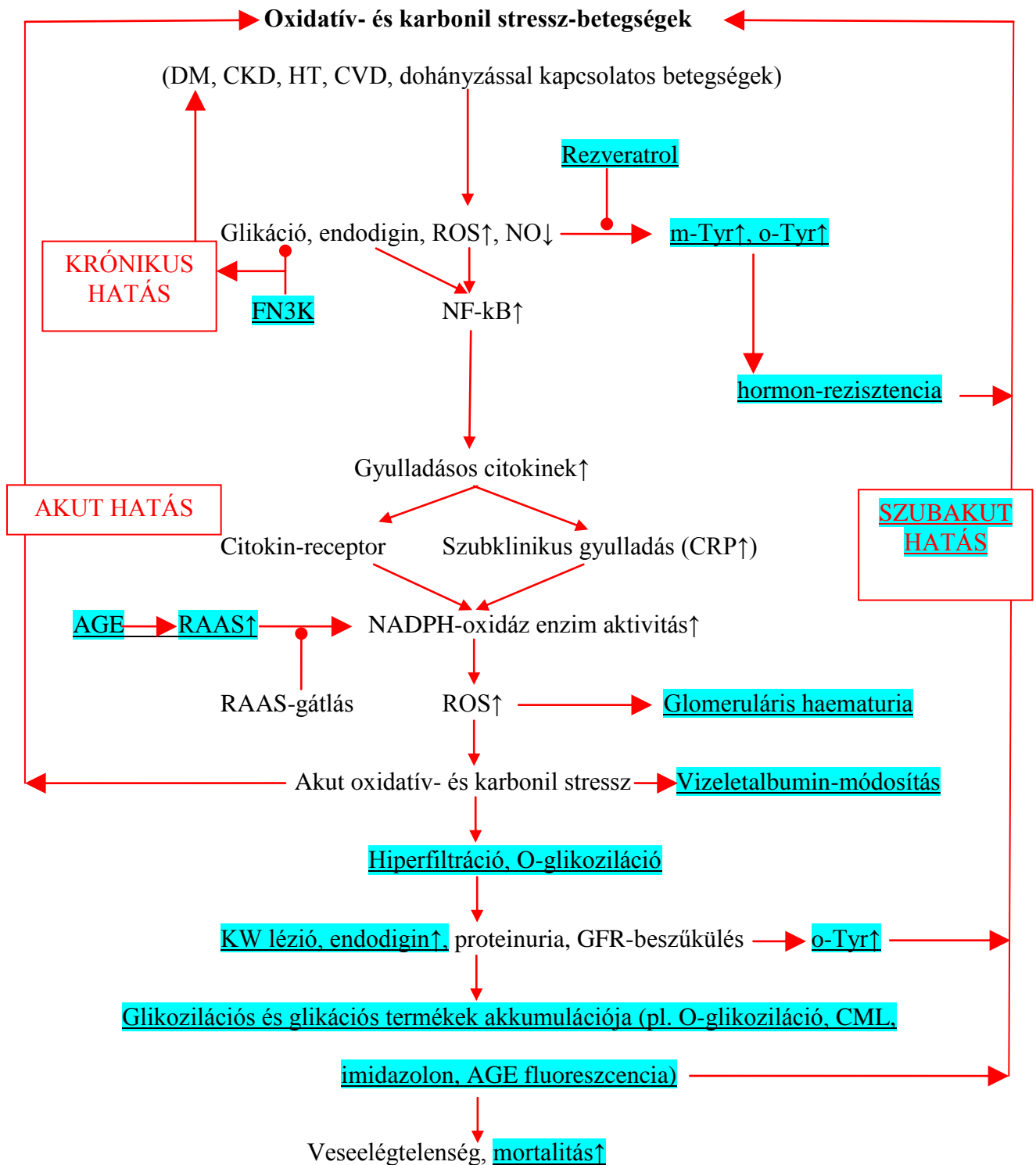
A fehérjék glikációját csökkentheti a fruktózamin-3-kináz enzim, melynek polimorfizmusai KRÓNIKUS HATÁST fejthetnek ki és eredményeink alapján késleltethetik a diabetes mellitus manifesztálódását.

A hidroxil szabad gyök oxidált aminosavak (orto- és meta-tirozin) képződését indíthatja meg, amely folyamatot rezveratrollal meg tudtuk szakítani. Kimutattuk, hogy a glikációs végtermékek (pl. az imidazolon) növelhetik a lokális renin-angiotenzin-aldoszteron-rendszer (RAAS) aktivitását a vesében. Az angiotenzin II és az aldoszteron aktiválja a NAD(P)H-oxidáz enzimet, aminek következtében akut oxidatív- és karbonil stressz alakul ki, amelyet a vizeletben ürített albumin módosulása révén, vagy a glomerulonephritisekre jellemző glomeruláris típusú vesevérzés modellezésével mutattunk ki. Az akut oxidatív- és karbonil stressz rontja a kockázati tényezőket (cukor-, magasvérnyomás-betegség, stb.) de a célszervkárosodások heveny progresszióját is előidézheti (AKUT HATÁS).

Vizsgálataink szerint az ismétlődően jelentkező akut hatásokat tartósan kedvezően befolyásolhatja a RAAS-gátlás, ami „antioxidáns” kezelésnek minősül az által, hogy csökkenti a NAD(P)H-oxidáz enzim aktivitását és adataink szerint kedvező a vesebetegség progressziója szempontjából is. Bizonyítottuk, hogy a rendszeresen ismétlődő akut oxidatív- és karbonil stressz epizódok hyperfiltrációt, O-glikozilációt, a dohányzás esetében a vesében Kimmelstiel-Wilson-léziót, a keringésben endogén ouabainszint-emelkedést, a vizeletben proteinürítést okoznak. Eredményeink arra utalnak, hogy a GFR csökkenése glikációs végtermék-, orto- és meta-tirozin-akkumulációhoz és ez által károsodásokhoz (pl. kóros fehérjeképződéshez) vezethet. Ezek a nem élethosszig tartó, szubakut károsodások

(SZUBAKUT HATÁSOK) speciális kezeléseket igényelhetnek, amelyek még kidolgozásra várnak. Adataink szerint a szubakut hatások kezelése nélkül biztosan veseelégtelenséghez és mortalitásnövekedéshez vezetnek az említett folyamatok.

Olyan új, komplex kezelésre van szüksége betegeinknek, amely az oxidatív- és karbonil stressz akut, szubakut és krónikus hatásainak kivédésére egyaránt alkalmas.



5. ábra A disszertációban leírt saját eredmények (aláhúzott és kékháttérrel kiemelt helyek) és az irodalmi adatok alapján fennálló kapcsolatok összefoglaló (sematikus) ábrázolása. DM=diabetes mellitus, CKD=krónikus vesebetegség, HT=hypertonia, CVD=kardiovaszkuláris betegség, ROS=reaktív oxigénszármazékok, NO=nitrogén-monoxid, m-Tyr=meta-tirozin, o-Tyr=orto-tirozin, FN3K=fruktózamin-3-kináz polimorfizmusa, NF-kB=nukleáris faktor kappa-B, CRP=C-reaktív protein, RAAS=renin-angiotenzin-aldoszteron-rendszer, AGE=glikációs végtermék, KW=Kimmelstiel-Wilson, CML=karboximetil-lizin.

5. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Az angol nyelvű közlemények a disszertációban való megjelenés sorrendjében:

- I. Wagner Z., **Wittmann I.**, Mazák., Schinzel R., Heidland A., Kientsch-Engel R., Nagy J.: Nε-(Carboxymethyl)lysine levels in patients with type 2 diabetes: Role of renal function. *Am J Kidney Dis* 2001;38(4):785-791. **IF: 3,614**
- II. Mohás M, Kisfali P, Baricza E, Mérei A, Maász A, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Melegh B, **Wittmann I.** A polymorphism within the fructosamine-3-kinase gene is associated with HbA1c Levels and the onset of type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2010;118(3):209-12. **IF: 1,826**
- III. Wagner Z, Degrell P, Lukáts B, Niwa T, Molnár GA, Markó L, Karádi Z, **Wittmann I.** Accumulation of renin and imidazolone in peritubular capillary endothelial cells in insulin-resistant hypertensive rats. *J Nephrol*. 2011;24(5):656-64. **IF: 1,654**
- IV. Degrell P, Cseh J, Mohás M, Molnár GA, Pajor L, Chatham JC, Fülöp N, **Wittmann I.** Evidence of O-linked N-acetylglucosamine in diabetic nephropathy. *Life Sci*. 2009;27:84(13-14):389-93. **IF: 2,560**
- V. **Wittmann I.**, Molnár G. A., Degrell P., Wagner Z., Tamaskó M., Laczy B., Brasnyó P., Wagner L., Nagy J.: Prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Diab Res Clin Pract* 2005;68S1:S36-S42.
- VI. Nagy J., Kovács T., **Wittmann I.:** Renal protection in IgA nephropathy requires strict blood pressure control. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:1533-39. (Editorial) **IF: 2,976**
- VII. Vas T., Wagner Z., Jenei V., Varga Zs., Kovács T., **Wittmann I.**, Schinzel R., Balla Gy., Balla J., Heidland A., Nagy J.: Oxidative stress and non-enzymatic glycation in IgA nephropathy. *Clin Nephrol* 2005;64(5):343-351. **IF: 1,543**
- VIII. Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Böddi K, Koszegi T, Szabó Z, Matus Z, Szijártó I, Mérei A, Nagy G, **Wittmann I.** Measurement of the modification and interference rate of urinary albumin detected by size-exclusion HPLC. *Physiol Meas*. 2009;30(10):1137-50. **IF: 1,430**
- IX. Markó L, Cseh J, Kőszegi T, Szabó Z, Molnár GA, Mohás M, Szigeti N, **Wittmann I.** Storage at -80 degrees C decreases the concentration of HPLC-detected urinary albumin: possible mechanisms and implications. *J Nephrol*. 2009;22(3):397-402. **IF: 1,252**
- X. Degrell P, Wagner Z, Szijarto IA, Wagner L, Marko L, Mohas M, Cseh J, **Wittmann I.** Morphology of glomerular haematuria is reproduced in vitro by carbonyl stress. *Nephron Exp Nephrol*. 2008;110(1):e25-30. **IF: 1,596**
- XI. **Wittmann I.**, Mazák I, Póto L, Wagner Z, Wagner L, Vas T, Kovács T, Belágyi J, Nagy J. Role of iron in the interaction of red blood cells with methylglyoxal. Modification of L-arginine by methylglyoxal is catalyzed by iron redox cycling. *Chem Biol Interact*. 2001;138(2):171-87. **IF: 1,706**
- XII. Wagner Z, Molnár M, Molnár G. A, Tamaskó M, Laczy B, Wagner L, Csiky B, Heidland A, Nagy J, **Wittmann I.:** Serum carboxymethyllysine predicts mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2006;47:294-300 **IF: 4,072**
- XIII. Nagy J, Demaster EG, **Wittmann I.**, Shultz P, Raj L. Induction of endothelial cell injury by cigarette smoke. *Endothelium*. 1997;5(4):251-63.
- XIV. Mazák I, **Wittmann I.**, Wagner L, Wagner Z, Degrell P, Vas T, Molnár GA, Nagy J. Cigarette smoke and its formaldehyde component inhibit bradykinin-induced calcium increase in pig aortic endothelial cells. *Endothelium*. 2002;9(2):103-8. **IF: 1,512**

- XV.** Wagner L, Laczy B, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Mohás M, Cseh J, Fekete A, **Wittmann I.** Cigarette smoke-induced alterations in endothelial nitric oxide synthase phosphorylation: role of protein kinase C. *Endothelium*. 2007;14(4-5):245-55. **IF: 1,740**
- XVI.** Halmai R, Szijártó IA, Fehér E, Fésüs G, Molnár GA, Brasnyó P, Fülöp F, Gollasch M, Koller A, **Wittmann I.** Cigarette smoke elicits relaxation of renal arteries. *Eur J Clin Invest*. 2011;41(2):195-202. **IF: 3,018**
- XVII.** Halmai R, **Wittmann I.** Potential role of cigarette smoking in two emerging endemic diseases: chronic kidney disease and diabetes mellitus. Chapter 9. 123-154. In: *Cigarette consumption and health effects*. Ed: G. G. Chen; Nova Publishers, Hauppauge, NY, USA. 2013.
- XVIII.** **KÖZLÉSRE ELFOGADOTT, DE MÉG MEG NEM JELENT CIKK ELFOGADÓLEVELE:**
--- On Fri, 11/16/12, submission@dustri.com <submission@dustri.com> wrote:
From: submission@dustri.com <submission@dustri.com>
Subject: Manuscript accepted for publication (Manuscript_ID 107812 - 4)
To: halmaid@yahoo.com
Cc: veronika.luger@dustri.de
Date: Friday, November 16, 2012, 4:55 PM
Dear Richard Halmai,
I am pleased to accept your interesting manuscript "Smoking as the potential link between Kimmelstiel-Wilson lesion and non-diabetic nodular glomerulosclerosis in male patients – a single center retrospective study" for publication in *Clinical Nephrology*.
It has been sent to the publishers and you should receive the galley proofs shortly thereafter.
Thank you for giving us the opportunity for publishing your work.
Yours sincerely,
Dr. Hartmut H. Malluche, MD, Professor and Chief
(Editor-in-Chief)
Peter Sawaya, MD, Professor of Medicine
(Deputy Editor)
- Division of Nephrology, Bone and Mineral Metabolism**
Department of Internal Medicine
University of Kentucky Medical Center
800 Rose St., Room MN 572
Lexington, KY 40536-0084
U S A
Email: Kristina.stasko@uky.edu
Phone: 859-323-2637
- XIX.** Molnár G. A., Wagner Z., Markó L., Kőszegi T., Mohás M., Kocsis B., Matus Z., Wagner L., Tamaskó M., Mazák I., Laczy B., Nagy J., **Wittmann I.:** Urinary ortho-tyrosine excretion in diabetes mellitus and renal failure: evidence for hydroxyl radical production. *Kidney Int* 2005;68(5):2281-2287. **IF: 4.927**
- XX.** Molnár A. G., Nemes V., Bíró Zs., Ludány A., Wagner Z., **Wittmann I.:** Accumulation of the hydroxyl free radical markers meta-, ortho-tyrosine and DOPA in cataractous

lenses is accompanied by a lower protein and phenylalanine content of the water-soluble phase. *Free Radical Research* 2005;39(12):1359-1366. **IF: 2,323**

- XXI. Wittmann I.,** Nagy J.: Are insulin resistance and atherosclerosis the consequences of oxidative stress? *Diabetologia* 1996;39:1001-1003. (tudományos levél) **IF: 5,376**
- XXII. Wittmann I.,** Mazák I., Wagner L., Nagy J.: Possible role of free radicals generated by pseudohypoxia in the regulation of hepatic glucose output. An in vitro model using rat liver microsomal glucose 6-phosphatase. *Diabetologia* 1997;40:1251-1254. **IF: 5,347**
- XXIII.** Brasnyó P, Molnár GA, Mohás M, Markó L, Laczy B, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Mérei A, Halmai R, Mészáros LG, Sümegi B, **Wittmann I.** Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br J Nutr.* 2011;106(3):383-9. **IF: 3,013**
- XXIV.** Nagy G, Gaszner B, Lányi É, Markó L, Fehér E, Cseh J, Kőszegi T, Betlehem J, Sulyok E, Cziráki A, **Wittmann I.** Selective association of endogenous ouabain with subclinical organ damage in treated hypertensive patients. *J Hum Hypertens.* 2011;25(2):122-9. **IF: 2,802**
- XXV.** Nagy G, Szijártó IA, Gaszner B, Lányi E, Markó L, Mérei A, Molnár GA, Németh K, Betlehem J, **Wittmann I.** Effects of mono- and dual blockade of the renin-angiotensin system on markers of cardiovascular status in hypertensive patients with mild and moderate renal failure. *Kidney Blood Press Res.* 2011;34(3):150-7. **IF: 1,464**

Disszertációban szereplő közlemények összesített impact factor-a: 55,751

A disszertációval kapcsolatos hazai magyar nyelvű folyóiratban megjelent közlemények időrendi sorrendben:

- XXVI. Wittmann I.,** Molnár M., Nagy J., A felnőttkori diabeteses nephropathia kezelése. *Diabetologia Hungarica* 1996;S2:103-104.
- XXVII. Wittmann I.:** A diabetes mellitus veseszövődményeinek fontosabb kérdései. *Hippocrates* 1999;5:315-318.
- XXVIII. Wittmann I.,** Wagner Z., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: A nem-enzimatis glikáció szerepe az öregedés, az atherosclerosis és a diabeteses nephropathia pathophyziológiájában és klinikai képének kialakulásában. (felkért összefoglaló) *Diabetologia Hungarica* 1999;7:9-21.
- XXIX. Wittmann I.,** Wagner Z., Pótó L., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: Glikációs végtermékek kimutatása diabetes mellitusban szenvedő betegek vizeletében. *Orvosi Hetilap* 1999;36:1997-2001.
- XXX. Wittmann I.,** Wagner Z., Pótó L., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: Karbonil stressz-metabolitok kimutatása diabetes mellitusban szenvedő betegek vizeletében. *Orvosi Hetilap* 1999;33:1841-1845.
- XXXI. Wittmann I.,** Nagy J.: Glikációs végtermékek - újonnan felfedezett uraemiás toxinok? Javaslat új paraméter mérésére a dialízis hatékonyságának ellenőrzésére. *Hypertonia és Nephrologia* 1999;3:303-305.
- XXXII.** Nagy J., **Wittmann I.:** Nephropathia nem inzulindependens (2. típusú) diabetes mellitusban. *Orvosi Hetilap* 2000;12:609-614.
- XXXIII. Wittmann I.,** Wagner L., Pótó L., Wagner Z., Mazák I., Nagy J.: Kismolekulású karbonil stressz-termékek kimutatása diabetes mellitusban szenvedő betegek vizeletében. *Magyar Belorvosi Archivum* 2000;1:49-54.
- XXXIV. Wittmann I.,** Wagner Z., Mazák I., Holló Zs., Molnár M., Pótó L., Wagner L., Molnár G. A., Nagy J.: A genetikai predispozíció, a vas, az oxidatív stressz és a nem-

- enzimatis glikáció szerepe a diabeteses albuminuria kialakulásában. Magyar Belorvosi Archívum 2001;54:204-209.
- XXXV. Wittmann I.,** Wagner Z., Mazák I., Pótó L., Wagner L., Kovács T., Vas T., Molnár G. A., Nagy J.: A vesefunkció határozza meg az öregedést? Hypertonia és Nephrologia 2002;6: 222-227.
- XXXVI.** Wagner Z., Mazák I., Schinzel R., Heidland A., Kientsch-Engel R., Wagner L., Nagy J., **Wittmann I.:** Az előrehaladott glikációs végtermékek szérumszintjének összefüggése a vesefunkcióval 2-es típusú diabetes mellitusban. Hypertonia és Nephrologia 2002;6:262-268.
- XXXVII. Wittmann I.:** Új adatok a renin-angiotensin rendszer jelentőségéről a diabeteses nephropathia kialakulásában és kezelésében. Magyar Orvos 2002;12:36-38.
- XXXVIII.** Vas T., Wagner Z., Kovács T., **Wittmann I.,** Schinzel R., Heidland A., Kientsch-Engel R., Nagy J.: Nem enzimatis glikáció és oxidatív stressz IgA-nephropathiában. Hypertonia és Nephrologia 2002;6:273-277.
- XXXIX. Wittmann I.,** Degrell P., Komáromy A., Molnár G. A., Wagner W., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: A renin-angiotensin rendszer jelentősége a diabeteses nephropathia patogenezisében, klinikai képeinek kialakulásában és kezelésében. Orvosi Hetilap 2003;13:613-619
- XL. Wittmann I.** Wagner Z., Wagner L., Mazák I., Komáromy A., Molnár G. A., Gáti I., Melegh B., Nagy J.: Összefüggések az esszenciális hypertonia és a szénhidrát-anyagcsere zavara között. Hipotézis az angiotenzin II – vasanyagcsere – inzulin interakciónak a metabolikus szindróma kialakulásában játszott szerepéről. Diabetologia Hungarica 2003;11(1):15-21.
- XLI.** Bíró Zs., Nemes V., **Wittmann I.,** Molnár G. A., Kocsis B., Ludány A.: Szemlencsefehérjék elektroforetikus és nagy teljesítményű folyadékkromatográfias vizsgálata időskori cataractában. Szemészet 2003;140:67-72.
- XLII.** Wagner Z., Molnár G., A., Mazák I., Vas T., Wagner L., Tamaskó M., Laczy B., Nagy J., **Wittmann I.:** A nem-enzimatis glikáció aterogén hatásának mechanizmusa diabetes mellitusban és veseelégtelenségben. Metabolizmus 2004;3:130-134.
- XLIII.** Wagner Z., Molnár G., Mazák I., Vas T., Wagner L., Tamaskó M., Laczy B., Nagy J., **Wittmann I.:** Az előrehaladott glikációs végtermékek akkumulációja - a vesefunkcióromlás, mint az ateroszklerózis rizikófaktora. Metabolizmus 2004;4:166-169.
- XLIV. Wittmann I.,** Soltész Gy., Jermendy Gy., Nagy J.: Az inzulinválasz első fázisának csökkenése szerepet játszhat az inzulin-rezisztencia kialakulásában. Orvosi Hetilap 2004;145(45):2267-2272.
- XLV. Wittmann I.,** Markó L., Degrell P., Molnár G.A., Tamaskó M., Laczy B., Mohás M., Wagner Z., Wagner L., Nagy J.: A proteinuria nefronpusztuláshoz és ezáltal atherosclerosishoz vezet diabetes mellitusban. Focus Medicinæ 2005;1:19-22.
- XLVI. Wittmann I.,** Wagner L., Wagner Z., Molnár G. A., Tamaskó M., Laczy B., Markó L., Mohás M., Nagy J.: Cukorbeteg kóros albuminuriája mint cardiovascularis kockázati tényező. Lege Artis Medicinæ 2005;15(12):891-894. (összefoglaló közlemény)
- XLVII. Wittmann I.:** Az albuminuria és az előrehaladott glikációs végtermék-receptor (RAGE) szerepe az atherosclerosis kialakulásában. MOTESZ Magazin 2006;2:32-36.
- XLVIII. Wittmann I,** Molnár G A, Tamaskó M, Laczy B, Markó L, Mohás M, Cseh J, Wagner Z, Wagner L: A protein kináz C-β szelektív gátlásának jelentősége a diabeteses microvascularis szövődmények kezelésében. Diabetologia Hungarica 2006;14:(4)13-18.
- XLIX.** Kovács T, Mikolás E, Szijártó I, Boros A G, **Wittmann I.:** Vérnyomáscsökkentő gyógyszerek metabolikus hatásai és mellékhatásai: Granum 2007;10:(3)21-24.

- L.** Fülöp N, Degrell P, Pajor L, Chatham JC, **Wittmann I:** Nephropathia diabetica és o-glikoziláció. *Hypertonia és Nephrologia* 2007;11:(6)320-325.
- LI.** **Wittmann I,** Wagner L, Markó L, Tamaskó M, Laczy B, Mohás M, Cseh J, Melegh B: A hereditær haemochromatosis jelentősége a diabeteszes betegek gondozásában. *Orvosi Hetilap* 2007;148:(3)111-115.
- LII.** **Wittmann I,** Laczy B, Mikolás E, Markó L, Mohás M, Cseh J, Wagner L: A dohányzás inzulinrezisztenciát okoz és növeli a 2-es típusú diabetes mellitus, illetve a metabolikus syndroma kialakulásának kockázatát. *Diabetologia Hungarica* 2007;15:(4)305-311.
- LIII.** Wagner Z, Wagner L, Tamaskó M, Markó L, Mohás M, Cseh J, **Wittmann I:** A renin-angiotenzin-rendszer patogenetikai szerepe az érkárosodás kialakulásában. *Háziorvosi Továbbképző Szemle* 2007;12:(1)47-51.
- LIV.** Wagner L, Bekő V, Wagner Z, Markó L, Mohás M, Nagy J, **Wittmann I:** Az anaemia korrekciójának jelentősége a diabeteszes nephropathia komplex kezelésében. *Háziorvosi Továbbképző Szemle* 2007;13:(3)73-78.
- LV.** Markó L, Molnár G A, Wagner Z, Kőszegi T, Matus Z, Mohás M, Kuzma M, Szijártó I A, **Wittmann I:** Immunefelometria és nagy teljesítményű folyadékromatográfia a microalbuminuria vizsgálatában. Újonnan javasolt határértékek vizsgálata. *Orvosi Hetilap* 2008;149:(2)59-67.
- LVI.** Wagner Z, Molnár G A, Tamaskó M, Laczy B, Wagner L, Nagy J, **Wittmann I,** Molnár M, Csiky B: Hemodializált betegekben a szérum karboximetil-lizin-szint a mortalitás független prediktora. *Magyar Orvos* 2008;16:(4)36-40.
- LVII.** Vas T, Markó L, Mohás M, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I, **Wittmann I:** Cardiovascularis rizikócsökkenés vesebetegekben. *Granum* 2008;11:(4)17-22.
- LVIII.** Nagy J, Kovács T, Vas T, Balázs E, Késői I, Pintér I, Sági B, **Wittmann I:** Metabolikus szindróma és a vesék. *Hypertonia és Nephrologia* 2008;12:(5)173-177.
- LIX.** Markó L, Szijártó I A, Cseh J, Kőszegi T, Szabó Z, Molnár G A, Matus Z, Mérei Á, **Wittmann I:** A HPLC-vel mérhető vizeletalbumin koncentrációja -80 °C-os tárolás során jelentősen csökken. Lehetséges mechanizmusok és következmények. *Hypertonia és Nephrologia* 2009;13:(2)88-93.
- LX.** Markó L, Mikolás E, Molnár G A, Wagner Z, Kőszegi T, Szijártó I A, Mohás M, Matus Z, Szabó Z, Böddi K, Mérei Á, **Wittmann I:** Normo- és microalbuminuriás cukorbetegben a HPLC-vel mért vizeletalbumin-fluoreszcencia a vesefunkciós paraméterekkel függ össze, nem a glikémiás értékekkel. *Diabetologia Hungarica* 2009;17:(3)229-238.
- LXI.** **Wittmann I:** A vesebetegségek kezelésének új megítélése. *Magyar Belorvosi Archivum* 2009;62:426-430.
- LXII.** Jermendy Gy, Ádány R, Balogh S, Karádi I, Paragh Gy, Tulassay Zs, **Wittmann I:** Glikémiás kontroll 2-es típusú diabetesben. *Metabolizmus* 2010;8:(4)226-231.
- LXIII.** Nagy G, Gaszner B, Lányi É, Markó L, Fehér Er, Cseh J, Kőszegi T, Betlehem J, Sulyok E, Cziráki A, **Wittmann I:** Az endogén ouabain összefügg a hypertoniás betegek kardiovaszkuláris állapotával. *Magyar Belorvosi Archivum* 2010;6:(63. évf.)435-442.
- LXIV.** Wagner L, Laczy B, Cseh J, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, Molnár G A, Wagner Z, Mohás M, Fekete A, **Wittmann I:** Cigarettafüst okozta elváltozások az endothelsejtekben. *Hypertonia és Nephrologia* 2010;14:(3)153-158.
- LXV.** Késői I, Sági B, Vas T, Pintér T, Kovács T, **Wittmann I,** Nagy J: Cardiorenális szindrómák. *Orvosi Hetilap* 2011;152:1520-1527.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁSOK

Megköszönöm családom támogató türelmét, amivel fogadták és fogadják azt, hogy több mint 25 éve a tudományos tevékenységre olyan sok időt fordítok.

Köszönet tanárainknak és azoknak, akikkel együtt dolgozhattam és dolgozhatok, időrendi sorrendben:

Köszönöm **Dr. Pupp András** tanár úrnak, hogy bevezetett a tudományos munkába, megmutatta a sejtek redox-regulációjának szépségeit és megtanított az alapkutató elveire.

Köszönöm **Dr. Jávor Tibor** (†) professzor úrnak, hogy bevezetett a beteggyógyítás és a klinikai kutatás rejtelmeibe és megmutatta a szabadgyökök jelentőségét a betegségek kifejlődésében.

Köszönöm **Dr. Horváth Tündének**, hogy önzetlenül tanított a kliniko-farmakologia és a hepatologia szabadgyökös ismereteire.

Köszönöm **Dr. Past Tibornak**, hogy megtanított a precíz laboratóriumi munkára új szabadgyökös modellek kidolgozásának módszerére.

Köszönöm **Dr. Arthur Cederbaum** professzor úrnak, hogy az alkoholos májkárosodás és a vas-anyagcsere szabadgyökös, biokémiai vonatkozásainak alapjaira megtanított.

Köszönöm **Dr. Joseph Hoet** (†) professzor úrnak, hogy a diabetologia szabadgyökös folyamataira felhívta a figyelmemet.

Köszönöm **Dr. Belágyi József** (†) professzor úrnak, hogy az ESR vizsgálatokon keresztül a szabadgyökök biofizikai tulajdonságaira oktatott és ebben éveken keresztül együtt dolgozhattunk.

Köszönöm **Dr. Pótv László** tanár úrnak, hogy segített az ESR vizsgálatok elvégzésében és megoldotta a biomatematikai problémáinkat, illetve ezekre a megoldási módokra megtanított.

Köszönöm **Dr. Nagy Judit** professzornőnek, hogy megtanított a klinikai nephrologiára, a szabadgyökök nephrologia szerepére, a didaktikus tudományos prezentációra, támogatott egy tudományos klinikai labor felépítésében, irányította tudományos és oktató tevékenységemet.

Köszönöm **Dr. Kőszegi Tamás** tanár úrnak a klinikai kémiai vizsgálatokat.

Köszönöm **Dr. Kocsis Béla** tanár úrnak, hogy tanácsaival segítette a HPLC-metodika beállítását és gyakorlati tanácsokkal támogatja ilyen irányú tevékenységünket.

Köszönöm **Dr. Matus Zoltán** tanár úr folyamatos támogatását a HPLC-vizsgálatok kivitelezése során.

Köszönöm **Dr. Ludány Andrea** professzornőnek a vizelet- és a szemlencsefehérjék analizisében nyújtott segítségét és együttműködését.

Köszönöm **Dr. Bíró Zsolt** professzor úrnak a szemlencse-analizisek elvégzése során nyújtott készséges együttműködését.

Köszönöm **Dr. Sümegi Balázs** professzor úrnak a rezveratrolos vizsgálatokhoz nyújtott támogatást.

Köszönöm **Dr. Koller Ákos** és **Dr. Maik Gollasch** professzor uraknak a myographos vizsgálatokkal kapcsolatos segítséget.

Köszönöm **Prof. Dr. August Heidlandnak**, **Prof. Dr. Friedrich C. Luftnak** és **Prof. Dr. C. John Chathamnek** az együttműködés lehetőségét, javaslataikat, támogatásukat.

Köszönetet mondok munkatársaimnak, beosztottjaimnak, akik mellett álltak és állnak a tudományos, gyógyító és oktató munkában:

Dr. Kovács Tibornak, Dr. Wagner Lászlónak, Dr. Wagner Zoltánnak, Dr. Mazák Istvánnak, Dr. Degrell Péternek, Dr. Vas Tibornak, Dr. Halmai Richárdnak, Dr. Molnár Gergő Attilának, Dr. Laczy Boglárkának, Dr. Markó Lajosnak, Dr. Szijártó Istvánnak, Dr. Cseh Juditnak, Dr. Mikolás Esztella Zsókiának, Dr. Brasnyó Pálnak.

Köszönetet mondok tudományos diákköri hallgatóimnak, akiktől sokat kaptam, akik lelkesítettek lelkesedésükkel, és akik tanítása több örömet okozott, mint amennyi fáradtságot jelentett.

Köszönetet mondok a technikai segítségért Dr. Sámikné Varga Ilonának, Bodor Enikőnek, Horváth Klaudiának, Horváth Viktóriának, Riszt Irénnek és Surján Editnek.

7. IRODALOM

1. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KG. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention. *Diabetic Med.* 2002;19(9):708-723.
2. Salt IP, Morrow VA, Brandie FM, Connell JM, Petrie JR. High glucose inhibits insulin-stimulated nitric oxide production without reducing endothelial nitric-oxide synthase Ser phosphorylation in human aortic endothelial cells. *J Biol Chem.* 2003;278(21):18791-18797.
3. Steinberg HO, Baron AD. Vascular function, insulin resistance and fatty acids. *Diabetologia.* 2002;45(5):623-634.
4. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001;414(6865):813-820.
5. Gugliucci A, Bendayan M. Renal fate of circulating advanced glycated end products (AGE): Evidence for reabsorption and catabolism of AGE-peptides by renal proximal tubular cells. *Diabetologia.* 1996;39(2):149-160.
6. Miyata T, Ueda Y, Horie K, Nangaku M, Tanaka S, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K. Renal catabolism of advanced glycation end products: The fate of pentosidine. *Kidney Int.* 1998;53(2):416-422.
7. Yang C-W, Vlassara H, Peten EP, He C-J, Striker GE, Striker LJ. Advanced glycation end products up-regulate gene expression found in diabetic glomerular disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(20):9436-9440.
8. Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S, Fuh H, Li YM, Steffes M. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(24):11704-11708.
9. Túri S, Németh I, Torkos A, Saghy L, Varga I, Matkovics B, Nagy J. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Rad Biol Med.* 1997;22(1-2):161-168.
10. Prakash M, Upadhy S, Prabhu R. Protein thiol oxidation and lipid peroxidation in patients with uremia. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004;64(6):599-604.
11. Terawaki H, Yoshimura K, Hasegawa T, Matsuyama Y, Negawa T, Yamada K, Matsushima M, Nakayama M, Hosoya T, Era S. Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin. *Kidney Int.* 2004;66(5):1988-1993.
12. Simmons EM, Langone A, Sezer MT, Vella JP, Recupero P, Morrow JD, Ikizler TA, Himmelfarb J. Effect of renal transplantation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in end-stage renal disease patients. *Transplantation.* 2005;79(8):914-919.
13. Halmai R, Wittmann I. Potential role of cigarette smoking in two emerging endemic diseases: chronic kidney disease and diabetes mellitus. Chapter 9. 123-154. In: *Cigarette consumption and health effects.* Ed: G. G. Chen; Nova Publishers, Hauppauge, NY, USA. 2013.

dc_360_11

THESIS BOOKLET

TO THE DOCTORAL THESES OF THE ACADEMY OF
SCIENCES

***OXIDATIVE AND CARBONYL STRESS IN DIABETES
MELLITUS AND IN KIDNEY DISEASE***

István Wittmann

2nd Department of Medicine and Nephrological Center

Faculty of Medicine

University of Pécs

Pécs, 2013.

1.INTRODUCTION

Our studies concerned the role of oxidative and carbonyl stress in diabetes mellitus and kidney disease. We placed a special emphasis on the importance of the stable products of hydroxyl free radical, i.e. ortho- and meta-tyrosine (Figure 1.)

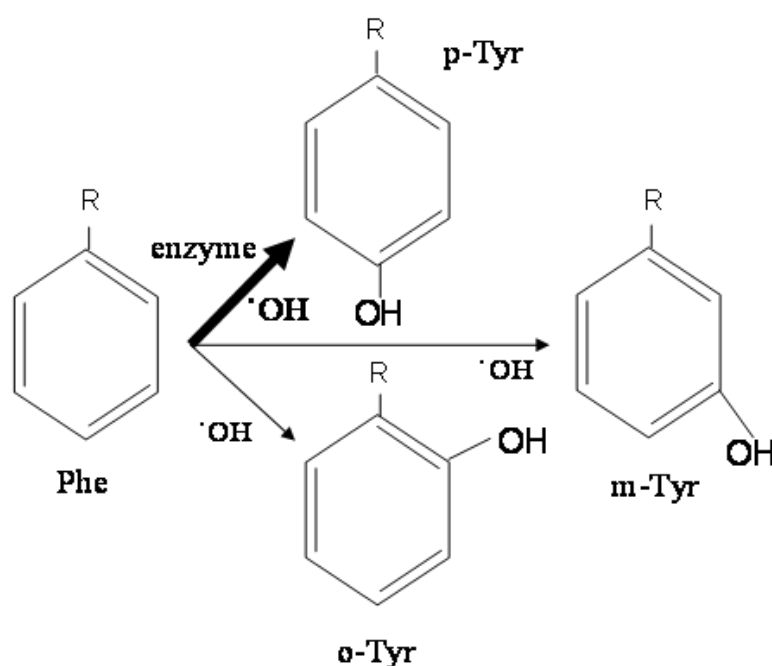


Figure 1. Conversion reactions of phenylalanine (Phe) to ortho-, meta- and para-tyrosine (o-, m- and p-Tyr). The bold arrow (\longrightarrow) marks the physiological, enzymatic reaction pathway, while the thin arrows (\longrightarrow) mark those reaction pathways, where the reaction can be driven by hydroxyl free radical. $\cdot\text{OH}$ = hydroxyl free radical.

The development of type 2 diabetes mellitus (DM) is caused by, among other factors, the combination of insulin resistance of peripheral tissues (muscle, fat and liver) and the insulin secretory defect of the β -cells. It is known that, DM is preceded by impaired glucose tolerance (IGT) and/or impaired fasting glucose (IFG) (1.).

Insulin leads to the phosphorylation of the endothelial nitric oxide synthase (NOS) enzyme in the serine1177 position via the intracellular protein phosphorylation cascade, thereby leading to its activation (2.). NO produced this way is then able to open the nutritive precapillary arterioles in the skeletal muscles (a so-called 'capillary recruitment' takes place), thus insulin is able to get to the nutritive capillaries, and by migrating through their endothelium, exerts its metabolic effect on the parenchymatous cells (3.).

If the first phase of insulin secretion is decreased or missing, hyperglycaemia develops in the early postprandial phase that exerts a further inhibitory effect on the first phase of insulin secretion and on the capillary recruitment leading on the one hand to further loss of insulin secretion, and on the other hand to insulin resistance and elevation of blood pressure and finally to organ damage (Figure 2.).

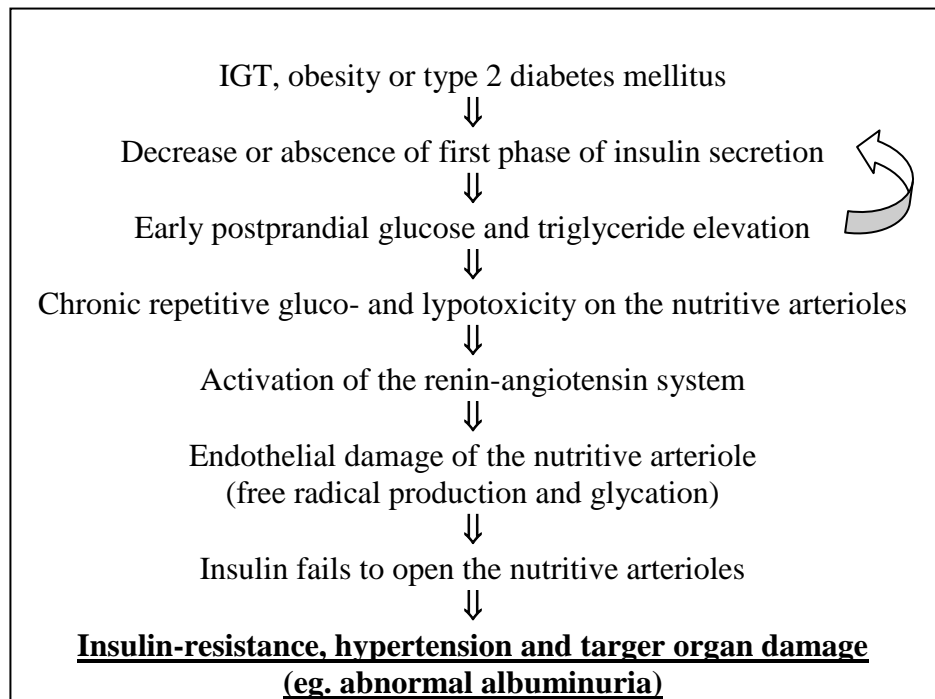


Figure 2. As a consequence of impairment of the pancreatic β -cells, the first phase of insulin response is lost, that leads to insulin resistance in the sceletal muscle and to hypertension and organ damage.

Numerous factors play a role in the development of diabetes mellitus and its complication, one of the most important of which is glucotoxicity. Four distinct mechanisms could be responsible for the development of diabetic glucotoxicity according to Brownlee et al. (4). These are the increased activity of the polyol pathway, the increased production and accumulation of non-enzymatic glycation end products (AGEs), the increased activity of protein kinase C (PKC) and the increased flux through the polyol pathway with the resulting increased O-glycosylation, as demonstrated on the following figure (Figure 3.).

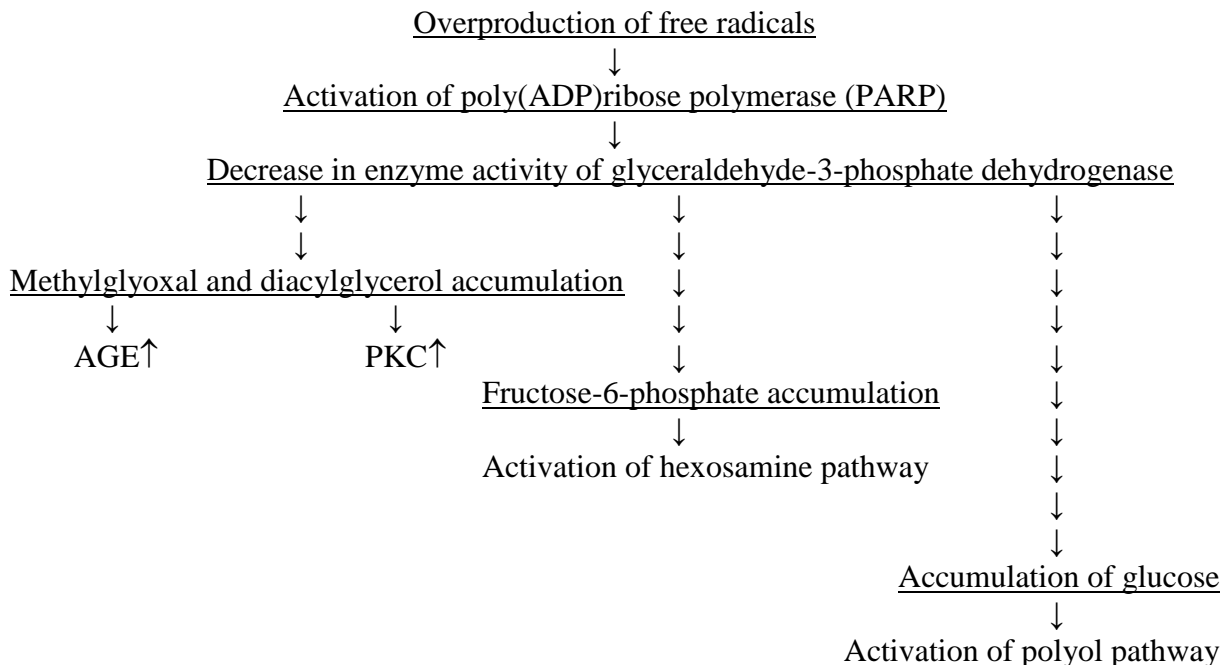


Figure 3. Cell-damaging processes in diabetes mellitus described by Brownlee. AGE=advanced glycation end product, PKC=protein kinase C (4).

Oxidative stress, the non-enzymatic glycation, the hexosamine and polyol pathways inhibit that branch of the intracellular signaling of insulin that is mediated by Akt. This is the essence of insulin resistance that results in metabolic deterioration, high blood pressure on the one side, while on the other side (through the MAPK pathway) – as the signaling of this pathway remains intact – leads to vasoconstriction and cell proliferation (Figure 4.)

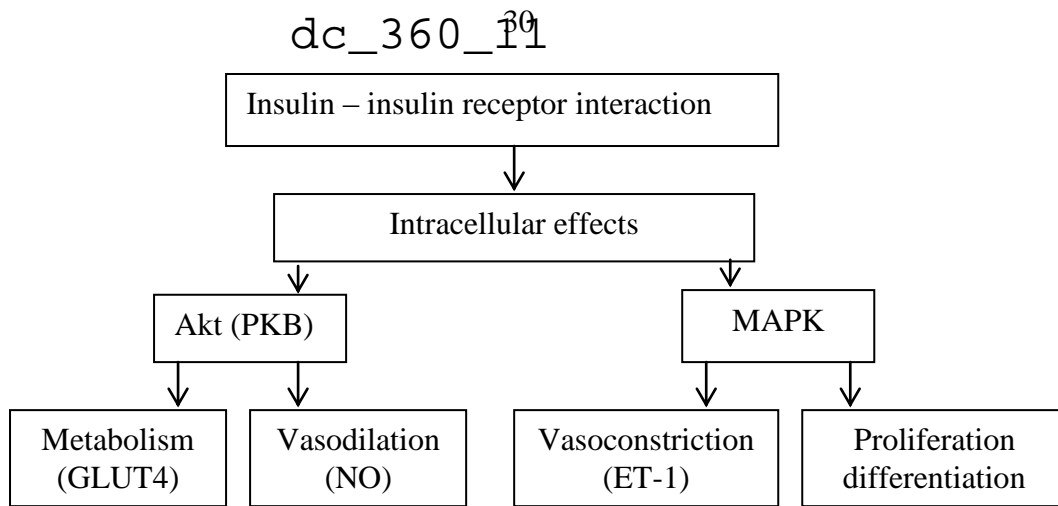


Figure 4. Schematic drawing of the intracellular signaling of insulin. In case of the so-called insulin resistance, only the Akt (PKB) pathway is impaired, while the MAPK pathway remains intact.

The only organ of elimination of glycation end products is the kidney. The proximal tubular cells of the kidney express a large number of receptors of AGE (RAGE). According to animal experiments, the glycation protein fragments, just like small molecular weight proteins (eg. insulin) are freely filtered through the glomeruli, then bind to the RAGEs on the surface of the proximal tubuli, are reabsorbed into the tubular cells and further degraded there (5, 6). The circulating AGEs, while passing through the glomerular basement membrane (GBM) can attach to membrane proteins. There, the in situ formed aldehydes can lead to cross-link formation between proteins of the GBM. These processes may decrease the physiological negative charge of the GBM by decreasing the number of membrane-bound heparinoids, furthermore the produced free radicals are able to lead to the cleavage of negative charged sialic acid residues. The formation of cross-links can lead to an increase in pore diameter. Attachment of the circulating proteins to the GBM will lead to a thickening of the basement membrane. The glomerular endothelial cells will become more permeable that may play a role in the development and progression of proteinuria. The superoxid free radical that is formed, is able to inactivate NO that plays an important role in the regulation of renal hemodynamics, it produces peroxynitrite that is a cytotoxic agent. The mesangial cells increase the production of matrix proteins due to the effect of AGEs, this will lead to mesangial expansion (7).

Besides that, the mesangial cells – just like smooth muscle cells – can produce cytokines and growth factors, that play a role in the early phase of development of glomerular hypertrophy, hyperfiltration and proteinuria (8). Mesangial cells are important in the regulation of intraglomerular pressure under physiological circumstances, as by behaving like smooth muscle cells, they are able to constrict and relax. If the concentration of free radicals increases as a consequence of deposition of AGEs in the cells, they may lose their relaxing ability.

In kidney diseases, oxidative stress processes could be observed in the blood and urine already before the development of uremia. It can be presumed that carbonyl stress plays an important role behind that processes. It seems that the glutathion redox-system is highly affected (9,10), an indirect proof of which is, that diverse oxidated forms of serum albumin appear relative early in the circulation (11). As a consequence of oxidative stress, due to the activation of NF- κ B, cytokines are produced. This inflammatory process seems highly active in renal failure, even if the underlying kidney disease is not of autoimmune or infective inflammatory origin. Due to the cytokines, free radical production increases in the cells. It is supposed that in renal failure, retention of carbonyl stress products is initiating and keeping up this entire process, the most effective treatment of which is the kidney transplantation (12).

Smoking is known not only to be a risk factor for cardiovascular, but also for renal diseases. Moreover, not only active but also passive smoking plays a role in the initiation and progression of chronic kidney diseases (CKD). Furthermore, smoking may lead to the development and progression of insulin resistance and diabetic nephropathy. As CKD is a risk factor for an increased cardiovascular morbidity and mortality, these patients have a loss of expected life-span and a decline in quality of life. In both genders, smoking is an independent predictor of end-stage renal disease and also increases the risk of albuminuria and proteinuria. Data support, that the increased atherogenic risk due to smoking increases the probability of

renal artery stenosis and thus the risk of an ischaemic nephropathy. Smoking has been shown to accelerate the rate of progression of IgA and lupus nephropathy. The mortality of smoking patients on renal replacement therapy is higher than that of non-smoking patients. Numerous factors play a role in the pathomechanism, but in all cases, the role of oxidative stress can be highlighted (13) (Table 1.).

Table 1. Pathomechanism of smoking-induced renal damage (13)

Hyperfiltration

- repetitive acute hyperperfusions + chronic endothelial damage → hyperfiltration

Oxidative stress

- Parallel to the development of CKD: increase in malondialdehyde + hydrogen-peroxide
- Decrease in glutathion-peroxidase + catalase + superoxide-dismutase activity
- Water-soluble components of tobacco-smoke
→ vasoactive reactive oxygen and nitrogen species
→ expression of inflammatory genes → endothelial dysfunction
- Decreased bioavailability of NO in smokers and patients with CKD: lower NO-production and effect → renal vasoconstriction + mesangial cell proliferation

Reversibility

- „Point of no return” in the course of smoking-related kidney damage is unknown
 - The cessation of smoking leads to a normalization of albuminuria only in non-severe smokers
-

CKD = chronic kidney disease, NO = nitric oxide

2.METHODS

We used both clinical and laboratory methods.

We studied patients with diabetes mellitus, kidney disease and/or hypertension, furthermore, the effect of smoking was studied on healthy volunteers. Routine clinical parameters were correlated with serum levels or urinary excretion of oxidative stress product or glycation products, gene polymorphisms, extent of O-glycation in the histology or other light microscopic markers, characteristics of urinary albumin, modification of lens proteins,

endogenous oubaïn levels in cross-sectional or prospective follow-up studies, even during interventional analysis.

Animal experiments on rats were carried out, we applied *in vitro* cell cultures, we modeled glomerular hematuria, the effect of tobacco smoke, oxidized phenylalanine-derivatives and pseudohypoxia. We investigated the relaxation of blood vessels in an *ex vivo* model.

3.ORIGINAL SCIENTIFIC OBSERVATIONS (with the roman number of the corresponding publication)

It is not enough to avoid the acute effects of oxidative and carbonyl stress, but prevention of subacute damage is also important to have a really effective therapy.

Scientific results leading to this conclusion are as follows:

48. Serum levels of glycoxidation end products, as e.g. AGE-fluorescence and carboxymethyl-lysine, produced in the concomitant presence of glycation and oxidation are elevated in type 2 diabetic patients with a proper glycemic control and impaired renal function. (I)
49. Patients with ischemic heart disease and type 2 diabetes mellitus have a lower GFR and higher serum AGE level and higher albumin excretion than patients without heart disease. (I)
50. In the presence of the CC variant of the G900C polymorphism of the FN3K enzyme – responsible for the reversibility of non-enzymatic glycation – the onset of type 2 diabetes mellitus is at a higher age. (II)

51. Injection of methylglyoxal into the ventromedial hypothalamus of rats can lead to the development of metabolic syndrome, which manifests in an accumulation of AGE-imidazolone and renin in the tubulointerstitium of the kidney, which may be responsible for the papillary fibrosis of the kidney. **(III)**
52. Despite the use of all currently recommended preventive interventions, abnormal glomerular and tubular O-glycosylation could be detected on histologic evaluation of the kidney of type 2 diabetic patients, suggesting that the activation of the hexoseamine pathway could not be prevented. **(IV,V)**
53. In case of tight blood pressure control in IgA nephropathy, level of glycoxydation products is only elevated as compared to healthy controls, if the renal function is impaired. **(VI,VII)**
54. We elaborated an HPLC-based method which enables the concomitant detection of the excretion rate and the level of glycoxydation of urinary albumin. **(VIII)**
55. The level of glycoxydation of albumin – in patients with type 2 diabetes mellitus – is connected with the renal function and not the glycemic status, and does not influence the immunological detection of urinary albumin. **(VIII)**
56. Storage of the urine sample for a few years at -80°C leads to a decline in the albumin content, in the development of which the urinary pH and the content of sulphhydryl groups of urine may play a role. **(IX)**
57. According to our *in vitro* model, red blood cell shape typical for glomerular bleeding are formed due to the effect of methylglyoxal. **(X)**
58. In our methylglyoxal-red blood cell model, the carbonyl stress induced by methylglyoxal leads to an oxidative stress, which evoked an accumulation of intracellular calcium. **(XI)**

59. Upon our electron spin resonance and other studies, methylglyoxal is able to complex and reduce the ferric form of iron to ferrous, which process may be an important step in the damage due to methylglyoxal. **(XI)**
60. The higher serum AGE-level (i.e. serum concentration of carboxymethyl-lysine, CML) is accompanied by a higher cardiovascular and overall mortality in dialysed patients. **(XII)**
61. In end-stage kidney disease, independent predictors of overall mortality proved to be age, initial cardiovascular disease, smoking, high CRP levels and high level of AGEs. **(XII)**
62. AGEs and the proteinuria induced by AGEs can initiate – through nephron loss – a vicious circle, which can lead to atherosclerosis and the death of the patients. **(V,XII)**
63. Our *in vitro* experiments confirmed, that aqueous solution of tobacco smoke inhibits the cGMP production of endothelial cells, and the bradykinin-induced calcium-accumulation. **(XIII, XIV)**
64. The aqueous solution of tobacco smoke increases the activating (Ser(1177)) as well as the inhibitory (Thr(495)) phosphorylation of eNOS, however the rise in the inhibitory phosphorylation is higher. **(XV)**
65. Due to the effect of the aqueous tobacco smoke solution the split of the normal homodimer forms of eNOS to monomers has been observed. **(XV)**
66. Due to the effect of the aqueous solution of tobacco smoke the activating phosphorylation of Akt (Ser(473)) decreased, which may have an effect on numerous signaling processes (i.e. decrease in eNOS activation, decrease in insulin signaling etc.) **(XV)**

67. Based on our result, one can suppose, that the aqueous solution of tobacco smoke exerts its action on eNOS via protein kinase C- β (PKC- β). (XV)
68. These effects of tobacco smoke can be partially or totally prevented using glutathion, as a non-specific aldehyde and free radical scavenger. (XIII-XV)
69. In an acute human study, cigarette smoking was accompanied by a decrease in the resistive index of the kidney, probably leading to its hyperfiltration. (XVI, XVII)
70. According to our *in vitro*, myographic studies the hydrogen peroxide content of the aqueous tobacco smoke solution induces vasodilation on the first branching of the renal artery, which seems to be an endothelium-independent, direkt smooth muscle effect by influencing L-type potassium-channels or the Na⁺-Ca²⁺-antiporter. (XVI)
71. According to our retrospective, human histological study it can be assumed that smoking plays a role in the development of the Kimmelstiel-Wilson-lesion. (XVIII)
72. In case of diabetes mellitus and in patients with diabetic or non-diabetic kidney disease, the urinary excretion of ortho-tyrosine is higher than that of healthy persons, indicating an increased rate of hydroxyl free radical production. (XIX)
73. In the groups of patients with diabetes, the fractional excretion of ortho-tyrosine was higher than 100%, furthermore, urinary concentration of ortho-tyrosine did not correlate with serum levels of ortho-tyrosine, suggesting that we have to face an *in loco*, renal production of the hydroxyl radical. (XIX)
74. Fractional excretion of ortho-tyrosine proved to be ten times as high as that of para-tyrosine, which enables the effective elimination of the aphysiological ortho-tyrosine. (XIX)

75. Upon the analysis of lens proteins we verified that, the relative phenylalanine content of water-soluble proteins of diabetic and non-diabetic cataract lenses is lower than that of healthy controls. **(XX)**
76. Phenylalanine content of the total lens homogenates is higher in healthy as well as in cataract lenses than that of the water-soluble fraction of lens proteins. **(XX)**
77. DOPA, meta-tyrosine and ortho-tyrosine content of total lens homogenates is higher than that of the proteins of the water-soluble fraction, suggesting hydroxyl free radical damage of proteins in the non-soluble fraction. **(XX)**
78. The meta-tyrosine and ortho-tyrosine concentration of total homogenates of diabetic and non-diabetic cataract lenses is higher than that of healthy controls. **(XX)**
79. Fatty cells grown on ortho- and meta-tyrosine – just like cells grown on 25 mmol/l glucose – became insulin resistant. **(unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
80. Due to ortho- and meta-tyrosine, the activating phosphorylation of Akt, playing a key role in the signaling of insulin, decreased just like in cells grown on medium with 25 mmol/l glucose content. **(unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
81. Fat cells grown on ortho- or meta-tyrosine take up and incorporate the abnormal amino acids into the intracellular proteins, independently of the glucose- and insulin-content of the culture medium. **(unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**
82. The magnitude of oxidative stress increases towards the periphery, influencing the vasodilating ability of the blood vessels due to insulin. **(unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012)**

83. An increase in oxidative stress is accompanied by an activation of the ERK1/2 pathway, which accounts for a diminished insulin-response. (**unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012**)
84. Insulin can lead to vasorelaxation via hydrogen peroxide in the femoral arteries, which showed a lower oxidative stress compared to the thoracic aorta. (**unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012**)
85. We can only have a moderate influence on vasoreactivity of blood vessels by increasing (hydrogen peroxide + aminotriazol) or decreasing (superoxide dismutase + catalase, SOD+CAT) the oxidative stress in an acute manner. (**unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012**)
86. Ortho-tyrosine, an end-product of oxidative stress, is per se able to influence vasorelaxation of blood vessels, decreasing it, and this effect could be mimicked by feeding of ortho-tyrosine in the absence of oxidative stress. (**unpublished data, patent published: Pub.No.: WO/2012/176009, Pub.Date:27/12/2012**)
87. Both insulin resistance and atherosclerosis could be consequences of oxidative stress. (**XXI**)
88. Oxidative stress induced by pseudohypoxia may inhibit the glucose-6-phosphatase enzyme of the liver. (**XXII**)
89. In our model of pseudohypoxia, inhibition of the glucose-6-phosphatase enzyme activity could be caused by lipid peroxydation as well as by hydroxyl free radical formation. (**XXII**)

90. In our model of pseudohypoxia, the iron-ATP complex could promote lipid peroxydation, while iron-EDTA complex could promote hydroxyl free radical formation. **(XXII)**
91. In our study human study in patients with insulin resistant type 2 diabetes mellitus, we proved that resveratrol – probably via decreasing the amount of ortho-tyrosine – is able to decrease insulin resistance and to decrease interstitial glucose levels. **(XXIII)**
92. Serum level of endogenous ouabain is higher in patients with hypertension and concomitant diseases, and shows a connection with night-time blood pressure and subclinical target organ damage. **(XXIV)**
93. The endogenous ouabain does not show any correlation with the level of ortho-tyrosine, but the ortho-tyrosine level is greatly determined by the renal function in patients with hypertension. **(XXIV)**
94. Dual blockade of the renin-angiotensin system (ACEI+ARB) did not influence the level of endogenous ouabain in hypertensive patients, but it diminished the correlation between ouabain levels and subclinical target organ damage. **(XXV)**

4.SUMMARY

Acute oxidative or carbonyl stress effects could be ameliorated using an acute antioxidant treatment or removal of the glycation end-products (eg. via normalisation of carbohydrate metabolism via an insulin injection or via an actual hemodialysis session). However, the persistence or recurrence of the acute effects can turn into a subacute effect, which is more than the sum of the acute effects, and which can only be ameliorated within

weeks or months (eg. in diabetes mellitus using insulin therapy for weeks, the so-called “break through” phenomenon, or in kidney disease using kidney transplantation). Of course, also chronic effects are known, like epigenetic alterations, which are connected to the modification of the DNA or the attached histone (reversion of these effects is not possible with the now available methods).

Because of the persistent and repetitive occurrence of glycation, carbonylation and oxidative stress, and their subacute and chronic effects, the traditional antioxidant vitamin treatment cannot be effective on its own (see the insufficiency of vitamin treatments in large clinical trials), as this targets the acute effects only, therefore it should be accompanied by a targeted therapy to subacute and – if possible – chronic changes. A further problem with antioxidant vitamin E therapy could be, that this directly inhibits the lipid-peroxidation, while according to our observations, the alterations responsible for subacute changes (ie. production of abnormal amino acids and glycation products) takes place in the aqueous phase. On the other hand treatment with water soluble antioxidants may inhibit the agonist, e.g. insulin-induced timed and low level production of hydrogen peroxide, which effect may impair the intracellular hormonal signaling.

According to our studies, diabetes mellitus, hypertension, chronic kidney diseases and smoking increase free radical-production, glycation, carbonylation and decrease the bioavailability of nitric oxide (Figure 5.).

The rate of glycation of proteins can be inhibited by the fructoseamin-3-kinase enzyme, polymorphisms of which can exert a CHRONIC EFFECT and according to our result delay the manifestation of diabetes mellitus.

The hydroxyl free radical may produce oxidized amino acids (ortho- and meta-tyrosine), on the basis of our data this process can be interrupted using resveratrol. We have shown that the glycation end products (eg. imidazolone) can increase the local activity of the renin-angiotensine-aldosterone-system (RAAS) in the kidney. Angiotensine II and aldosterone activate the NAD(P)H-oxidase enzyme, as a consequence acute oxidative and carbonyl stress is induced, which we have proved by detecting of the modification of urinary albumin or by the modeling of glomerular type renal bleeding observed in the glomerulonephritises. The acute oxidative and carbonyl stress can worsen the risk factors (diabetes, hypertension), but is also able to lead to an acute progression in target organ damage (ACUTE EFFECT).

According to our studies, the recurrent acute effects can be beneficially influenced on a longer term by the RAAS-inhibition, that can be regarded as an 'antioxidant' therapy, by decreasing the activity of the NAD(P)H oxidase enzyme and – according to our data – is favourable for the prevention of the progression in renal disease. We proved that, repetitive acute oxidative and carbonyl stress can lead to hyperfiltration, O-glycosylation, in case of smoking to Kimmelstiel-Wilson lesion in the kidney, to an increase of endogenous ouabain levels in the circulation, to proteinuria in the urine. Our data indicate that, the decline in GFR leads to an accumulation of glycation products, and ortho- and meta-tyrosine and this way to further damage (eg. abnormal protein production). These, not life-long, subacute effects (SUBACUTE EFFECTS) might require special treatments, that still await elaboration. According to our data, without the treatment of the subacute effects, these processes lead to renal failure and increase in mortality.

dc_360_11

New, complex therapies are required by our patients, that are able to protect against the acute, subacute and chronic effects of oxidative and carbonyl stress, as well.

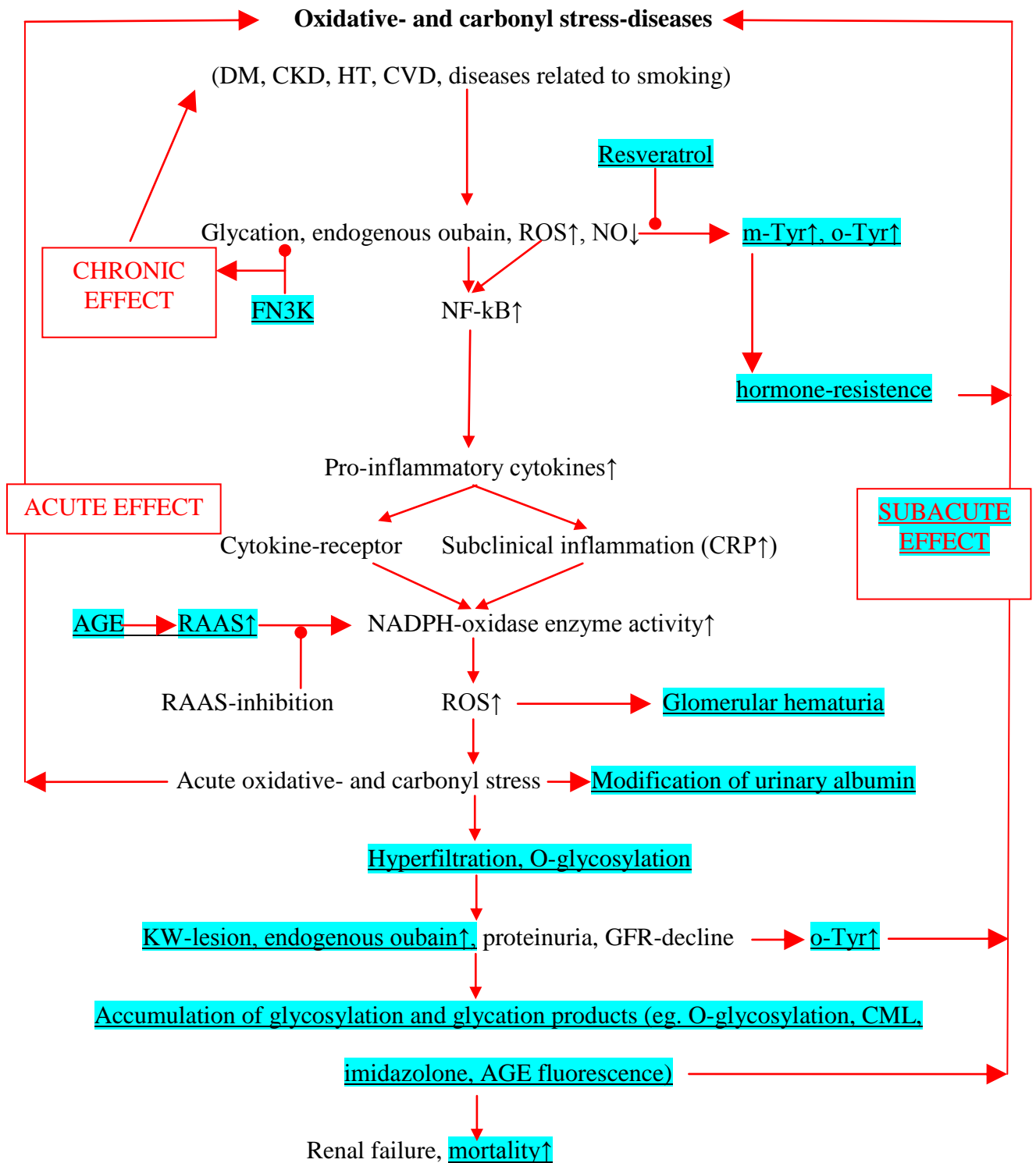


Figure 5. The (schematic) drawing of connections upon our own results described in the theses (underlined and highlighted with blue background) and described in the literature. DM, diabetes mellitus; CKD, chronic kidney disease; HT, hypertension; CVD, cardiovascular disease; ROS, reactive oxygen species; NO, nitric oxide; m-Tyr, meta-tyrosine; o-Tyr, ortho-tyrosine; FN3K, fructosamine-3-kinase polymorphism; NF-kB, nuclear factor kappa-B; CRP, C-reactive protein; RAAS, renin-angiotensin-aldosterone-system; AGE, advanced glycation end products; KW-lesion, Kimmelstiel-Wilson-lesion; CML, carboxymethyl-lysine.

5. PUBLICATIONS ON WHICH THE THESIS IS BASED

English language publication in the order of appearance in the thesis:

- LXVI.** Wagner Z., **Wittmann I.**, Mazák., Schinzel R., Heidland A., Kientsch-Engel R., Nagy J.: Nε-(Carboxymethyl)lysine levels in patients with type 2 diabetes: Role of renal function. *Am J Kidney Dis* 2001;38(4):785-791. **IF: 3,614**
- LXVII.** Mohás M, Kisfali P, Baricza E, Mérei A, Maász A, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Melegh B, **Wittmann I.** A polymorphism within the fructosamine-3-kinase gene is associated with HbA1c Levels and the onset of type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2010;118(3):209-12. **IF: 1,826**
- LXVIII.** Wagner Z, Degrell P, Lukáts B, Niwa T, Molnár GA, Markó L, Karádi Z, **Wittmann I.** Accumulation of renin and imidazolone in peritubular capillary endothelial cells in insulin-resistant hypertensive rats. *J Nephrol*. 2011;24(5):656-64. **IF: 1,654**
- LXIX.** Degrell P, Cseh J, Mohás M, Molnár GA, Pajor L, Chatham JC, Fülöp N, **Wittmann I.** Evidence of O-linked N-acetylglucosamine in diabetic nephropathy. *Life Sci*. 2009;27:84(13-14):389-93. **IF: 2,560**
- LXX.** **Wittmann I.**, Molnár G. A., Degrell P., Wagner Z., Tamaskó M., Laczy B., Brasnyó P., Wagner L., Nagy J.: Prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Diab Res Clin Pract* 2005;68S1:S36-S42.
- LXXI.** Nagy J., Kovács T., **Wittmann I.:** Renal protection in IgA nephropathy requires strict blood pressure control. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:1533-39. (Editorial) **IF: 2,976**
- LXXII.** Vas T., Wagner Z., Jenei V., Varga Zs., Kovács T., **Wittmann I.**, Schinzel R., Balla Gy., Balla J., Heidland A., Nagy J.: Oxidative stress and non-enzymatic glycation in IgA nephropathy. *Clin Nephrol* 2005;64(5):343-351. **IF: 1,543**
- LXXIII.** Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Böddi K, Koszegi T, Szabó Z, Matus Z, Szijártó I, Mérei A, Nagy G, **Wittmann I.** Measurement of the modification and interference rate of urinary albumin detected by size-exclusion HPLC. *Physiol Meas*. 2009;30(10):1137-50. **IF: 1,430**
- LXXIV.** Markó L, Cseh J, Kőszegi T, Szabó Z, Molnár GA, Mohás M, Szigeti N, **Wittmann I.** Storage at -80 degrees C decreases the concentration of HPLC-detected urinary albumin: possible mechanisms and implications. *J Nephrol*. 2009;22(3):397-402. **IF: 1,252**
- LXXV.** Degrell P, Wagner Z, Szijarto IA, Wagner L, Marko L, Mohas M, Cseh J, **Wittmann I.** Morphology of glomerular haematuria is reproduced in vitro by carbonyl stress. *Nephron Exp Nephrol*. 2008;110(1):e25-30. **IF: 1,596**
- LXXVI.** **Wittmann I**, Mazák I, Póto L, Wagner Z, Wagner L, Vas T, Kovács T, Belágyi J, Nagy J. Role of iron in the interaction of red blood cells with methylglyoxal. Modification of L-arginine by methylglyoxal is catalyzed by iron redox cycling. *Chem Biol Interact*. 2001;138(2):171-87. **IF: 1,706**
- LXXVII.** Wagner Z, Molnár M, Molnár G. A, Tamaskó M, Laczy B, Wagner L, Csiky B, Heidland A, Nagy J, **Wittmann I:** Serum carboxymethyllysine predicts mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2006;47:294-300 **IF: 4,072**
- LXXVIII.** Nagy J, Demaster EG, **Wittmann I**, Shultz P, Raji L. Induction of endothelial cell injury by cigarette smoke. *Endothelium*. 1997;5(4):251-63.
- LXXIX.** Mazák I, **Wittmann I**, Wagner L, Wagner Z, Degrell P, Vas T, Molnár GA, Nagy J. Cigarette smoke and its formaldehyde component inhibit bradykinin-induced calcium increase in pig aortic endothelial cells. *Endothelium*. 2002;9(2):103-8. **IF: 1,512**
- LXXX.** Wagner L, Laczy B, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, Molnár GA, Wagner Z, Mohás M, Cseh J, Fekete A, **Wittmann I.** Cigarette smoke-induced alterations in endothelial nitric

oxide synthase phosphorylation: role of protein kinase C. *Endothelium*. 2007;14(4-5):245-55. **IF: 1,740**

LXXXI. Halmai R, Szijártó IA, Fehér E, Fésüs G, Molnár GA, Brasnyó P, Fülöp F, Gollasch M, Koller A, **Wittmann I.** Cigarette smoke elicits relaxation of renal arteries. *Eur J Clin Invest*. 2011;41(2):195-202. **IF: 3,018**

LXXXII. Halmai R, **Wittmann I.** Potential role of cigarette smoking in two emerging endemic diseases: chronic kidney disease and diabetes mellitus. Chapter 9. 123-154. In: *Cigarette consumption and health effects*. Ed: G. G. Chen; Nova Publishers, Hauppauge, NY, USA. 2013.

LXXXIII. KÖZLÉSRE ELFOGADOTT, DE MÉG MEG NEM JELENT CIKK ELFOGADÓLEVELE:

--- On Fri, 11/16/12, submission@dustri.com <submission@dustri.com> wrote:

From: submission@dustri.com <submission@dustri.com>

Subject: Manuscript accepted for publication (Manuscript_ID 107812 - 4)

To: halmair@yahoo.com

Cc: veronika.luger@dustri.de

Date: Friday, November 16, 2012, 4:55 PM

Dear Richard Halmai,

I am pleased to accept your interesting manuscript "Smoking as the potential link between Kimmelstiel-Wilson lesion and non-diabetic nodular glomerulosclerosis in male patients – a single center retrospective study" for publication in *Clinical Nephrology*.

It has been sent to the publishers and you should receive the galley proofs shortly thereafter.

Thank you for giving us the opportunity for publishing your work.

Yours sincerely,

Dr. Hartmut H. Malluche, MD, Professor and Chief

(Editor-in-Chief)

Peter Sawaya, MD, Professor of Medicine

(Deputy Editor)

Division of Nephrology, Bone and Mineral Metabolism

Department of Internal Medicine

University of Kentucky Medical Center

800 Rose St., Room MN 572

Lexington, KY 40536-0084

U S A

Email: Kristina.stasko@uky.edu

Phone: 859-323-2637

LXXXIV. Molnár G. A., Wagner Z., Markó L., Kőszegi T., Mohás M., Kocsis B., Matus Z., Wagner L., Tamaskó M., Mazák I., Laczy B., Nagy J., **Wittmann I.:** Urinary ortho-tyrosine excretion in diabetes mellitus and renal failure: evidence for hydroxyl radical production. *Kidney Int* 2005;68(5):2281-2287. **IF: 4.927**

LXXXV. Molnár A. G., Nemes V., Bíró Zs., Ludány A., Wagner Z., **Wittmann I.:** Accumulation of the hydroxyl free radical markers meta-, ortho-tyrosine and DOPA in cataractous lenses is accompanied by a lower protein and phenylalanine content of the water-soluble phase. *Free Radical Research* 2005;39(12):1359-1366. **IF: 2.323**

- LXXXVI. Wittmann I.,** Nagy J.: Are insulin resistance and atherosclerosis the consequences of oxidative stress? *Diabetologia* 1996;39:1001-1003. (tudományos levél) **IF: 5,376**
- LXXXVII. Wittmann I.,** Mazák I., Wagner L., Nagy J.: Possible role of free radicals generated by pseudohypoxia in the regulation of hepatic glucose output. An in vitro model using rat liver microsomal glucose 6-phosphatase. *Diabetologia* 1997;40:1251-1254. **IF: 5,347**
- LXXXVIII.** Brasnyó P, Molnár GA, Mohás M, Markó L, Laczy B, Cseh J, Mikolás E, Szijártó IA, Mérei A, Halmi R, Mészáros LG, Sümegi B, **Wittmann I.** Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br J Nutr.* 2011;106(3):383-9. **IF: 3,013**
- LXXXIX.** Nagy G, Gaszner B, Lányi É, Markó L, Fehér E, Cseh J, Kőszegi T, Betlehem J, Sulyok E, Cziráki A, **Wittmann I.** Selective association of endogenous ouabain with subclinical organ damage in treated hypertensive patients. *J Hum Hypertens.* 2011;25(2):122-9. **IF: 2,802**
- XC.** Nagy G, Szijártó IA, Gaszner B, Lányi E, Markó L, Mérei A, Molnár GA, Németh K, Betlehem J, **Wittmann I.** Effects of mono- and dual blockade of the renin-angiotensin system on markers of cardiovascular status in hypertensive patients with mild and moderate renal failure. *Kidney Blood Press Res.* 2011;34(3):150-7. **IF: 1,464**

Disszertációban szereplő közlemények összesített impact factor-a: 55,751

Publications related to the thesis in national journals in Hungarian in chronological order:

- XC I.** **Wittmann I.,** Molnár M., Nagy J., A felnőttkori diabeteses nephropathia kezelése. *Diabetologia Hungarica* 1996;S2:103-104.
- XC II.** **Wittmann I.:** A diabetes mellitus veseszövődményeinek fontosabb kérdései. *Hippocrates* 1999;5:315-318.
- XC III.** **Wittmann I.,** Wagner Z., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: A nem-enzimatis glikáció szerepe az öregedés, az atherosclerosis és a diabeteses nephropathia pathophysiológiájában és klinikai képeinek kialakulásában. (felkért összefoglaló) *Diabetologia Hungarica* 1999;7:9-21.
- XC IV.** **Wittmann I.,** Wagner Z., Pótó L., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: Glikációs végtermékek kimutatása diabetes mellitusban szenvedő betegek vizeletében. *Orvosi Hetilap* 1999;36:1997-2001.
- XC V.** **Wittmann I.,** Wagner Z., Pótó L., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: Karbonil stressz-metabolitok kimutatása diabetes mellitusban szenvedő betegek vizeletében. *Orvosi Hetilap* 1999;33:1841-1845.
- XC VI.** **Wittmann I.,** Nagy J.: Glikációs végtermékek - újonnan felfedezett uraemiás toxinok? Javaslat új paraméter mérésére a dialízis effektivitásának ellenőrzésére. *Hypertonia és Nephrologia* 1999;3:303-305.
- XC VII.** Nagy J., **Wittmann I.:** Nephropathia nem inzulindependens (2. típusú) diabetes mellitusban. *Orvosi Hetilap* 2000;12:609-614.
- XC VIII.** **Wittmann I.,** Wagner L., Pótó L., Wagner Z., Mazák I., Nagy J.: Kismolekulásúlyú karbonil stressz-termékek kimutatása diabetes mellitusban szenvedő betegek vizeletében. *Magyar Belorvosi Archívum* 2000;1:49-54.
- XC IX.** **Wittmann I.,** Wagner Z., Mazák I., Holló Zs., Molnár M., Pótó L., Wagner L., Molnár G. A., Nagy J.: A genetikai prediszpozíció, a vas, az oxidatív stressz és a nem-enzimatis glikáció szerepe a diabeteses albuminuria kialakulásában. *Magyar Belorvosi Archívum* 2001;54:204-209.

- C.** **Wittmann I.**, Wagner Z., Mazák I., Pótó L., Wagner L., Kovács T., Vas T., Molnár G. A., Nagy J.: A vesefunkció határozza meg az öregedést? *Hypertonia és Nephrologia* 2002;6: 222-227.
- CI.** Wagner Z., Mazák I., Schinzel R., Heidland A., Kientsch-Engel R., Wagner L., Nagy J., **Wittmann I.**: Az előrehaladott glikációs végtermékek szérumszintjének összefüggése a vesefunkcióval 2-es típusú diabetes mellitusban. *Hypertonia és Nephrologia* 2002;6:262-268.
- CII.** **Wittmann I.**: Új adatok a renin-angiotensin rendszer jelentőségéről a diabeteses nephropathia kialakulásában és kezelésében. *Magyar Orvos* 2002;12:36-38.
- CIII.** Vas T., Wagner Z., Kovács T., **Wittmann I.**, Schinzel R., Heidland A., Kientsch-Engel R., Nagy J.: Nem enzimatis glikáció és oxidatív stressz IgA-nephropathiában. *Hypertonia és Nephrologia* 2002;6:273-277.
- CIV.** **Wittmann I.**, Degrell P., Komáromy A., Molnár G. A., Wagner W., Wagner L., Mazák I., Nagy J.: A renin-angiotensin rendszer jelentősége a diabeteses nephropathia patogenezisében, klinikai képeének kialakulásában és kezelésében. *Orvosi Hetilap* 2003;13:613-619
- CV.** **Wittmann I.** Wagner Z., Wagner L., Mazák I., Komáromy A., Molnár G. A., Gáti I., Melegh B., Nagy J.: Összefüggések az esszenciális hypertonia és a szénhidrát-anyagcsere zavara között. Hipotézis az angiotenzin II – vasanyagcsere – inzulin interakciónak a metabolikus szindróma kialakulásában játszott szerepéről. *Diabetologia Hungarica* 2003;11(1):15-21.
- CVI.** Bíró Zs., Nemes V., **Wittmann I.**, Molnár G. A., Kocsis B., Ludány A.: Szemlencsefehérjék elektroforetikus és nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás vizsgálata időskori cataractában. *Szemészet* 2003;140:67-72.
- CVII.** Wagner Z., Molnár G., A., Mazák I., Vas T., Wagner L., Tamaskó M., Laczy B., Nagy J., **Wittmann I.**: A nem-enzimatis glikáció aterogén hatásának mechanizmusa diabetes mellitusban és veseelégtelenségben. *Metabolizmus* 2004;3:130-134.
- CVIII.** Wagner Z., Molnár G., Mazák I., Vas T., Wagner L., Tamaskó M., Laczy B., Nagy J., **Wittmann I.**: Az előrehaladott glikációs végtermékek akkumulációja - a vesefunkcióromlás, mint az ateroszklerózis rizikófaktora. *Metabolizmus* 2004;4:166-169.
- CIX.** **Wittmann I.**, Soltész Gy., Jermendy Gy., Nagy J.: Az inzulinválasz első fázisának csökkenése szerepet játszhat az inzulin-rezisztencia kialakulásában. *Orvosi Hetilap* 2004;145(45):2267-2272.
- CX.** **Wittmann I.**, Markó L., Degrell P., Molnár G.A., Tamaskó M., Laczy B., Mohás M., Wagner Z., Wagner L., Nagy J.: A proteinuria nefronpusztuláshoz és ezáltal atherosclerosishoz vezet diabetes mellitusban. *Focus Medicinæ* 2005;1:19-22.
- CXI.** **Wittmann I.**, Wagner L., Wagner Z., Molnár G. A., Tamaskó M., Laczy B., Markó L., Mohás M., Nagy J.: Cukorbeteg kóros albuminuriája mint cardiovascularis kockázati tényező. *Lege Artis Medicinæ* 2005;15(12):891-894. (összefoglaló közlemény)
- CXII.** **Wittmann I.**: Az albuminuria és az előrehaladott glikációs végtermék-receptor (RAGE) szerepe az atherosclerosis kialakulásában. *MOTESZ Magazin* 2006;2:32-36.
- CXIII.** **Wittmann I.**, Molnár G A, Tamaskó M, Laczy B, Markó L, Mohás M, Cseh J, Wagner Z, Wagner L: A protein kináz C-β szelektív gátlásának jelentősége a diabeteses microvascularis szövődmények kezelésében. *Diabetologia Hungarica* 2006;14:(4)13-18.
- CXIV.** Kovács T, Mikolás E, Szijártó I, Boros A G, **Wittmann I.**: Vérnyomáscsökkentő gyógyszerek metabolikus hatásai és mellékhatásai: *Granum* 2007;10:(3)21-24.
- CXV.** Fülöp N, Degrell P, Pajor L, Chatham JC, **Wittmann I.**: Nephropathia diabetica és o-glikoziláció. *Hypertonia és Nephrologia* 2007;11:(6)320-325.

- CXVI.** **Wittmann I,** Wagner L, Markó L, Tamaskó M, Laczy B, Mohás M, Cseh J, Melegh B: A hereditær haemochromatosis jelentősége a diabeteszes betegek gondozásában. Orvosi Hetilap 2007;148:(3)111-115.
- CXVII.** **Wittmann I,** Laczy B, Mikolás E, Markó L, Mohás M, Cseh J, Wagner L: A dohányzás inzulinrezisztenciát okoz és növeli a 2-es típusú diabetes mellitus, illetve a metabolikus szindróma kialakulásának kockázatát. Diabetologia Hungarica 2007;15:(4)305-311.
- CXVIII.** Wagner Z, Wagner L, Tamaskó M, Markó L, Mohás M, Cseh J, **Wittmann I:** A renin-angiotenzin-rendszer patogenetikai szerepe az érkárosodás kialakulásában. Háziorvosi Továbbképző Szemle 2007;12:(1)47-51.
- CXIX.** Wagner L, Bekő V, Wagner Z, Markó L, Mohás M, Nagy J, **Wittmann I:** Az anaemia korrekciójának jelentősége a diabeteszes nephropathia komplex kezelésében. Háziorvosi Továbbképző Szemle 2007;13:(3)73-78.
- CXX.** Markó L, Molnár G A, Wagner Z, Kőszegi T, Matus Z, Mohás M, Kuzma M, Szijártó I A, **Wittmann I:** Immunnefelometria és nagy teljesítményű folyadékromatográfia a microalbuminuria vizsgálatában. Újonnan javasolt határértékek vizsgálata. Orvosi Hetilap 2008;149:(2)59-67.
- CXXI.** Wagner Z, Molnár G A, Tamaskó M, Laczy B, Wagner L, Nagy J, **Wittmann I,** Molnár M, Csiky B: Hemodializált betegekben a szérum karboximetil-lizin-szint a mortalitás független prediktora. Magyar Orvos 2008;16:(4)36-40.
- CXXII.** Vas T, Markó L, Mohás M, Cseh J, Mikolás E, Szijártó I, **Wittmann I:** Cardiovascularis rizikócsökkenés vesebetegekben. Granum 2008;11:(4)17-22.
- CXXIII.** Nagy J, Kovács T, Vas T, Balázs E, Késői I, Pintér I, Sági B, **Wittmann I:** Metabolikus szindróma és a vesék. Hypertonia és Nephrologia 2008;12:(5)173-177.
- CXXIV.** Markó L, Szijártó I A, Cseh J, Kőszegi T, Szabó Z, Molnár G A, Matus Z, Mérei Á, **Wittmann I:** A HPLC-vel mérhető vizeletalbumin koncentrációja -80 °C-os tárolás során jelentősen csökken. Lehetséges mechanizmusok és következmények. Hypertonia és Nephrologia 2009;13:(2)88-93.
- CXXV.** Markó L, Mikolás E, Molnár G A, Wagner Z, Kőszegi T, Szijártó I A, Mohás M, Matus Z, Szabó Z, Böddi K, Mérei Á, **Wittmann I:** Normo- és microalbuminuriás cukorbetegben a HPLC-vel mért vizeletalbumin-fluoreszcencia a vesefunkciós paraméterekkel függ össze, nem a glikémiás értékekkel. Diabetologia Hungarica 2009;17:(3)229-238.
- CXXVI.** **Wittmann I:** A vesebetegségek kezelésének új megítélése. Magyar Belorvosi Archivum 2009;62:426-430.
- CXXVII.** Jermendy Gy, Ádány R, Balogh S, Karádi I, Paragh Gy, Tulassay Zs, **Wittmann I:** Glikémiás kontroll 2-es típusú diabetesben. Metabolizmus 2010;8:(4)226-231.
- CXXVIII.** Nagy G, Gaszner B, Lányi É, Markó L, Fehér Er, Cseh J, Kőszegi T, Betlehem J, Sulyok E, Cziráki A, **Wittmann I:** Az endogén ouabain összefügg a hypertoniás betegek kardiovaszkuláris állapotával. Magyar Belorvosi Archivum 2010;6:(63. évf.)435-442.
- CXXIX.** Wagner L, Laczy B, Cseh J, Tamaskó M, Mazák I, Markó L, Molnár G A, Wagner Z, Mohás M, Fekete A, **Wittmann I:** Cigarettafüst okozta elváltozások az endothelsejteken. Hypertonia és Nephrologia 2010;14:(3)153-158.
- CXXX.** Késői I, Sági B, Vas T, Pintér T, Kovács T, **Wittmann I,** Nagy J: Cardiorenális szindrómák. Orvosi Hetilap 2011;152:1520-1527.

6. ACKNOWLEDGEMENT

I thank my family the supporting patience with which they accepted and still accept that I spend so much time on scientific activities for more than 25 years.

I thank my tutors and those, whom I had and have the chance to work with, in chronological order:

I thank **Dr. András Pappi**, for introducing me into scientific work, for showing the beauty of redox-regulation of the cells and for teaching me the fundamentals of basic research.

I thank **Prof. Dr. Tibor Jávör** (†), for introducing me into patient care and clinical research and for showing me the importance of free radicals in the development of diseases.

I thank **Dr. Tünde Horváth**, for altruistically teaching me the free radical knowledge of clinico-pharmacology and hepatology.

I thank **Dr. Tibor Past**, for teaching me precise laboratory work and to elaborate new free radical models.

I thank **Prof. Dr. Arthur Cederbaum**, for teaching me the basics of the free radical- and biochemical relations of alcoholic liver damage and iron metabolism.

I thank **Prof. Dr. Joseph Hoet** (†), for raising my attention to the free radical processes of diabetology.

I thank **Prof. Dr. József Belágyi** (†), for teaching me on the biophysical properties of free radicals through the ESR studies and that we could work together on this field for years.

I thank **Dr. László Póttó**, for helping me in the ESR studies, for solving our biometemathematical problems and for teaching us these solutions.

I thank **Prof. Dr. Judit Nagy**, for teaching me clinical nephrology, the role of free radicals in nephrology, the skill of didactic scientific presentation, for supporting me in building up a scientific laboratory and directing my scientific and tutorial activities.

I thank **Dr. Tamás Kőszegi** for the clinical chemistry measurements.

I thank **Dr. Béla Kocsis**, for helping the setting-up of the HPLC-methodology with his advices and that he supports this activity of us by practical advices.

I thank **Dr. Zoltán Matus**, for his continuous support in the elaboration of the HPLC studies.

I thank **Prof. Dr. Andrea Ludány**, for her help and collaboration in the analysis of urine and lens proteins.

I thank **Prof. Dr. Zsolt Bíró** for his kind collaboration on the occasion of lens protein analysis.

I thank **Prof. Dr. Balázs Sümeği** for the support in the resveratrol studies.

I thank **Prof. Dr. Ákos Koller** and **Prof. Dr. Maik Gollasch** for the help regarding the myograph studies.

I thank **Prof. Dr. August Heidland**, **Prof. Dr. Friedrich C. Luft** and **Prof. Dr. John C. Chatham** for their collaboration, suggestions and support.

I thank my colleagues, employees, who were and are standing by me in the scientific, patient and teaching activities:

Dr. Tibor Kovács, Dr. László Wagner, Dr. Zoltán Wagner, Dr. István Mazák, Dr. Péter Degrell, Dr. Tibor Vas, Dr. Gergő Attila Molnár, Dr. Richárd Halmai, Dr. Boglárka Laczy, Dr. Lajos Markó, Dr. István Szijártó, Dr. Judit Cseh and Dr. Esztella Zsóka Mikolás, Dr. Pál Brasnyó.

I thank my scientific research students, from whom I received a lot, and who inspired with their enthusiasm, and the teaching of whom provided more joy than it meant trouble.

I thank for the technical assistance to Ilona Varga Dr. Sámikné, Enikő Bodor, Klaudia Horváth, Viktória Horváth, Irén Riszt and Edit Surján.

7. REFERENCES

14. Unwin N, Shaw J, Zimmet P, Alberti KG. Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention. *Diabetic Med.* 2002;19(9):708-723.
15. Salt IP, Morrow VA, Brandie FM, Connell JM, Petrie JR. High glucose inhibits insulin-stimulated nitric oxide production without reducing endothelial nitric-oxide synthase Ser phosphorylation in human aortic endothelial cells. *J Biol Chem.* 2003;278(21):18791-18797.
16. Steinberg HO, Baron AD. Vascular function, insulin resistance and fatty acids. *Diabetologia.* 2002;45(5):623-634.
17. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001;414(6865):813-820.
18. Gugliucci A, Bendayan M. Renal fate of circulating advanced glycated end products (AGE): Evidence for reabsorption and catabolism of AGE-peptides by renal proximal tubular cells. *Diabetologia.* 1996;39(2):149-160.
19. Miyata T, Ueda Y, Horie K, Nangaku M, Tanaka S, van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K. Renal catabolism of advanced glycation end products: The fate of pentosidine. *Kidney Int.* 1998;53(2):416-422.
20. Yang C-W, Vlassara H, Peten EP, He C-J, Striker GE, Striker LJ. Advanced glycation end products up-regulate gene expression found in diabetic glomerular disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(20):9436-9440.
21. Vlassara H, Striker LJ, Teichberg S, Fuh H, Li YM, Steffes M. Advanced glycation end products induce glomerular sclerosis and albuminuria in normal rats. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994;91(24):11704-11708.
22. Túri S, Németh I, Torkos A, Saghy L, Varga I, Matkovics B, Nagy J. Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Rad Biol Med.* 1997;22(1-2):161-168.
23. Prakash M, Upadhyaya S, Prabhu R. Protein thiol oxidation and lipid peroxidation in patients with uremia. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004;64(6):599-604.
24. Terawaki H, Yoshimura K, Hasegawa T, Matsuyama Y, Negawa T, Yamada K, Matsushima M, Nakayama M, Hosoya T, Era S. Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin. *Kidney Int.* 2004;66(5):1988-1993.
25. Simmons EM, Langone A, Sezer MT, Vella JP, Recupero P, Morrow JD, Ikizler TA, Himmelfarb J. Effect of renal transplantation on biomarkers of inflammation and oxidative stress in end-stage renal disease patients. *Transplantation.* 2005;79(8):914-919.
26. Halmai R, Wittmann I. Potential role of cigarette smoking in two emerging endemic diseases: chronic kidney disease and diabetes mellitus. Chapter 9. 123-154. In: *Cigarette consumption and health effects.* Ed: G. G. Chen; Nova Publishers, Hauppauge, NY, USA. 2013.