

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A NUKLEOZID TRANSZPORT GÁTLÁS HATÁSA
AZ INTERSTITIALIS ADENOZIN KONCENTRÁCIÓRA AZ
A₁ ADENOZIN RECEPTOROK KÖRNYEZETÉBEN EU-
ILLETVE HYPERTHYREOID TENGERIMALAC PITVARON**

Karsai Dénes

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
GYÓGYSZERÉSZTUDOMÁNYI KAR
GYÓGYSZERHATÁSTANI TANSZÉK

Debrecen, 2007

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A NUKLEOZID TRANSZPORT GÁTLÁS HATÁSA
AZ INTERSTITIALIS ADENOZIN KONCENTRÁCIÓRA AZ
A₁ ADENOZIN RECEPTOROK KÖRNYEZETÉBEN EU-
ILLETVE HYPERTHYREOID TENGERIMALAC PITVARON**

Karsai Dénes

Témavezető: Dr. Tószaki Árpád

Konzulens: Dr. Gesztelyi Rudolf

Programvezető: Dr. Gergely Lajos

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
GYÓGYSZERÉSZTUDOMÁNYI KAR
GYÓGYSZERHATÁSTANI TANSZÉK

Debrecen, 2007

RÖVIDÍTÉSEK

AC = adenilcikláz

A₁ receptor = A₁ adenzin receptor

ADA = adenzin dezamináz

Ado = adenzin

[Ado]_{ISF} = az interstitialis folyadék Ado koncentrációja

ATP = adenzin-5'-trifoszfát

cAMP = 3',5'-ciklikus adenzin monofoszfát

CPA = N⁶-cyclopentyladenosine

DP = dipiridamol (dipyridamole)

E/[A] = koncentráció-hatás

ENT1 = ekvibratív és nitrobenzylthioinosine érzékeny nukleozid transzporter

M = mól/l

NBTI = S-(2-hydroxy-5-nitrobenzyl)-6-thioinosine

NT = szarkolemmális nukleozid transzport

RRM = receptorial responsiveness method

T₃ = L-3,5,3'-trijód-tironin

T₄ = L-tiroxin (L-3,5,3',5'-tetrajód-tironin)

S = a T₄ oldószere („szolvens”)

BEVEZETÉS

A fejlett országokban a daganatos betegségek mellett a szív- és érrendszeri betegségek jelentik a legnagyobb kihívást a várható élettartam és az életminőség szempontjából. A szív ischaemiával szembeni védekezőképességének fokozása világszerte a kutatás élvonalában van. Ide tartozik a szívben az adenosin mediálta protektív folyamatok befolyásolása is.

Az adenosin (Ado) adeninből és ribózból álló prekursora és egyben bomlásterméke az élő szervezet legfontosabb primer energiatároló molekulájának, az ATP-nek. Az Ado jelentőségét ezen túlmenően az adja, hogy az egész szervezetre kiterjedő szabályozó funkcióval rendelkezik a sejt- és szöveti szintű növekedésben, differenciálódásban és metabolizmusban. Akut excesszív keletkezése az ATP szintézis zavarát jelenti, tehát az adott szövet sérülésének illetve kimerülésének jelzője. Ezzel összhangban az Ado részt vesz protektív és reparatív funkciók mediálásában is.

Az Ado hatásai döntően specifikus sejtfelszíni receptorok közvetítésével jönnek létre, melyek az A_1 , A_{2A} , A_{2B} és az A_3 receptor. A szívben mind a négy előfordul, protektív funkciója a jelenleg legelfogadottabb álláspont szerint a myocardialis A_1 és A_3 , valamint a vascularis A_{2A} receptornak van. Ezek kötőhelye az extracelluláris tér felé néz, ezért kitüntetett jelentősége van az interstitialis folyadék Ado koncentrációjának ($[Ado]_{ISF}$) és az ebben beálló változásoknak. Az $[Ado]_{ISF}$ meghatározói az extra- és intracelluláris Ado termelés és elimináció, valamint a transzmembranális nukleozid transzport (NT). Mivel a szív tömegének nagy részét a myocardium teszi ki, a fenti tényezők meghatározása a cardiomyocyták esetében bír a legnagyobb jelentőséggel.

A sejtek membránjában két típusú, ekvilibratív (diffúziót facilitáló; ENT) és koncentratív (aktív transzportra képes; CNT) nukleozid transzporter fordulhat elő. A szívben döntően, a cardiomyocytákon (az általánosan elfogadott álláspont

szerint) kizárólag ENT található, azon belül is ENT1, ami ekvibratív és nitrobenzylthioinosine (NBTI) szenzitív. Következésképp, a cardiomyocyta-
a NT irányát és intenzitását elsődlegesen a membrán két oldala közötti Ado
koncentráció-gradiens szabja meg. Az erőteljes sejten belüli Ado
újrahasznosításnak köszönhetően ugyanakkor a szívizomra nettó intracelluláris
Ado elimináció és nettó interstitialis Ado termelés a jellemző. A fentiekkel
összhangban, fiziológiás körülmények között a cardiomyocyta-
a NT a sejtek belseje felé irányul, a NT gátlása ezért növeli az $[Ado]_{ISF}$ -et. Utóbbi mértékének
meghatározása szorosan kapcsolódik az $[Ado]_{ISF}$ jelenleg megnyugtatóan még
nem megoldott méréséhez.

Többféle módszert is használnak a működő szívben közvetlenül nem
mérhető $[Ado]_{ISF}$ becslésére: mikrodialízis; peri- vagy epicardialis transzudátum,
infuzátum, illetve „well” technika; „axially distributed modeling”, ami az
arteriovenózus Ado koncentrációkülönbség, a hematokrit és a coronaria-perfúzió
alapján végzett számítás. A különböző eljárásokkal meghatározott $[Ado]_{ISF}$
értékek skálája három nagyságrendet (!) ölel fel. Ez a változatosság egyrészt az
egyes módszerek által okozott szöveti sérülések eltérő mértékére, másrészt a
mintavétel használt szöveti kompartmentek eltérő voltára vezethető vissza, de
mindenképpen felveti egy új, megbízhatóbb módszer szükségességét.

Bizonyos esetekben a klasszikus Langmuir-Hill egyenlet lehetőséget ad
agy agonista receptorközelbeli koncentrációjának kiszámolására, ugyanis leírja az
agonista koncentrációja és a kiváltott biológiai válasz közötti kapcsolatot három
állandó segítségével (E_{max} , EC_{50} , n):

$$E = E_{max} \cdot \frac{c^n}{c^n + EC_{50}^n}$$

ahol: c az agonista koncentrációja; E a hatás c -nél; E_{max} az adott

agonistával kiváltható maximális hatás (hatékonyság; „efficacy”); EC_{50} a félhatásos koncentráció, ennek reciproka a hatásereőség („potency”); n a Hill koefficiens („slope”).

Ha egy adott farmakon és egy adott receptor esetében ismerünk több koncentráció-hatás párt, vagyis egy koncentráció-hatás ($E/[A]$) görbét, akkor erre a Langmuir-Hill egyenletet illesztve a három állandó értéke nagy pontossággal megbecsülhető (regresszióanalízis). Ugyanakkor viszont a fent említett öt mennyiségből (c , E , $E_{\max}$, EC_{50} , n) bármelyik négy ismeretében az ötödik algebrai úton is kiszámolható a Langmuir-Hill egyenlet alapján. Vagyis, az Ado és valamely sejtfelszíni receptora közötti kapcsolat három jellemzőjéből ($E_{\max}$, EC_{50} , n), továbbá az adott receptor működésének valamely nyugalmi kimeneti változójából az attól való eltérés alapján kiszámolható lenne az $[Ado]_{ISF}$ változása. Az Ado azonban gyorsan bomló és erőteljesen kompartmentalizálódó (másodperces felezési idejű) molekula az élő szövetekben, ezért jelenleg nincs lehetőség receptorközelbeli szintjét pontosan meghatározni, anélkül viszont $E/[A]$ görbéjének $E_{\max}$, EC_{50} és n paraméterei sem alkalmasak a fenti számításhoz.

Az $[Ado]_{ISF}$ változásának becslésére azonban létezik elvi lehetőség egy közelmúltban kidolgozott módszer formájában, amely koncentráció-hatás ($E/[A]$) görbe adatait elemzi görbeillesztés segítségével. A regresszióanalízissel végzett koncentrációváltozás-bebecslés a receptorműködés telíthetőségén alapszik. Ha egy biológiai rendszerben egy agonistával úgy veszünk fel $E/[A]$ görbét, hogy a rendszerben már induláskor jelen van az adott agonista egy $c_x \neq 0$ koncentrációja, a kiértékelés során a c_x -et figyelembe kell venni mind a kiindulási állapot, mind a $E/[A]$ görbe válaszainak létrehozásában. Ha a c_x -et figyelmen kívül hagyjuk, akkor a kapott válaszok el fognak térni a korrekt módon számíthatóktól. A válasz torzulása és a torzulást okozó c_x koncentráció között az alábbi, a Langmuir-Hill egyenletből levezethető összefüggés áll fent:

$$E' = 100 - \frac{100 \cdot \left(100 - E_{\max} \cdot \frac{(c_x + c_{ad})^n}{(c_x + c_{ad})^n + EC_{50}^n} \right)}{100 - E_{\max} \cdot \frac{c_x^n}{c_x^n + EC_{50}^n}}$$

ahol: c_x a $E/[A]$ görbe felvételét megelőzően már a rendszerben lévő agonistakonzentráció; E' a torzult válasz (a c_x ignorálásával számított hatás); c_{ad} a $E/[A]$ görbe felvétele során bemért agonistakonzentráció; $E_{\max}$, EC_{50} és n az intakt ($c_x = 0$) $E/[A]$ görbének a Langmuir-Hill egyenlet illesztésével nyert paraméterei, vagyis az intakt $E/[A]$ kapcsolat leírói.

Ha egy rendszer, amelynek ismerjük az intakt $E/[A]$ kapcsolatot egy adott agonistával, az adott agonistára megváltozott választ ad, akkor ennek egyik lehetséges oka a receptorok (illetve a posztreceptorális jelátvitel) előzetes részleges aktivációja. Ebben az esetben, ha a fenti egyenletbe beírjuk az intakt $E/[A]$ kapcsolat paramétereit ($E_{\max}$, EC_{50} , n), majd az egyenletet a torzult $E/[A]$ görbe pontjaira illesztjük, regressziós paraméterként (c_x) megkapjuk a $E/[A]$ görbe agonistájának azt a koncentrációját, amelyik (előzetesen bemérve) azonos (vagy hasonló) módosulást képes létrehozni a $E/[A]$ görbében, mint amit tapasztaltunk. A c_x akkor adja meg (abszolút módon) a torzító koncentrációt, ha a torzulás oka a $E/[A]$ görbe felvételéhez használt agonista egy már előzetesen is jelen lévő koncentrációja. Ha a torzulást okozó anyag nem azonos a $E/[A]$ görbe agonistájával, a c_x a $E/[A]$ görbe agonistájának azt a koncentrációját adja meg, amelyik a torzító koncentrációval ekvifektív a vizsgált hatás szempontjából. A c_x ebben az esetben is informatív, bár csak relatív mutatója a torzító koncentrációnak. A fenti összefüggést a továbbiakban „koncentráció-meghatározó” egyenletnek nevezzük.

Az Ado $E/[A]$ görbe $E_{\max}$, EC_{50} és n paramétereinek fentebb részletezett pontatlansága miatt a koncentráció-meghatározó egyenlet sajnos nem alkalmas az $[Ado]_{ISF}$ módosulásának abszolút mutatóval való meghatározására. Elvi

lehetőséget ad azonban az $[Ado]_{ISF}$ változásának jellemzésére egy relatív mutató segítségével, ha olyan Ado receptor agonista $E/[A]$ görbéjére illesztjük, melynek esetében ismerjük az agonista és a receptor kapcsolatát leíró paramétereket (E_{max} , EC_{50} , n). Ilyen Ado receptor agonista a vértelen myocardiumon elhanyagolható mértékben bomló és kompartmentalizálódó A_1 receptor szelektív N^6 -cyclopentyladenosine (CPA). A NT gátló hiányában illetve jelenlétében felvett CPA $E/[A]$ görbék adatainak feldolgozása a koncentráció-meghatározó egyenlet segítségével alkalmasnak látszik a NT gátlók okozta $[Ado]_{ISF}$ változás jellemzésére.

A szívizom Ado receptorai közül legnagyobb sűrűségben az A_1 típus található, amely tengerimalac pitvarizomzaton gyakorlatilag kizárólagos előfordulása. A pitvari munkaizomsejteken az A_1 receptorok erőteljes direkt (előzetes cAMP-szint növelés nélkül is kialakuló) negatív trop hatásokat mediálnak, melyek közül a legkönnyebben a negatív inotropia mérhető. Kísérleteinket állandó frekvencián ingerelt tengerimalac bal pitvaron végeztük, melynek köszönhetően az A_1 receptorfunkció trop hatásai tisztán a kontrakciós erő változásaiban nyilvánultak meg, így végig ezt a kimeneteli változót regisztráltuk, mint hatást.

Ismert, hogy a pajzsmirigy tri- és tetrajód-tironin (T_3 , T_4) hormonjainak markáns szívhatásai vannak, melyek fölös T_3 és T_4 jelenlétében kedvezőtlenek a szív túlterhelése miatt. Ezzel összhangban azt találták, hogy hyperthyreosisban csökken az A_1 receptor agonisták hatása a szíven. Újabb adatok szerint azonban a többlet T_3 és T_4 rövidtávon kardioprotektív hatású, amely jellegében hasonló az ischaemiás prekondicionálás védő hatásához, mely utóbbiban az A_1 receptorok is fontos szerepet játszanak. Ez árnyalja az eddigi képet és az adenzinerg mechanizmusok vizsgálatára inspirál a hyperthyreoid szíven.

CÉLKITŰZÉSEK

Az Ado protektív és regenerációt elősegítő hatásai a szívben döntően A_1 , kisebb részben A_3 receptorokon keresztül mediálódnak. Mivel ezek kötőhelye az extracelluláris tér felé néz, a kardioprotektív mechanizmusok szempontjából kitüntetett jelentősége van a bazális $[Ado]_{ISF}$ -nak illetve az ebben beálló változásoknak. A becsült bazális $[Ado]_{ISF}$ értékek három nagyságrendre való kiterjedését az alkalmazott mérőmódszertől való nagyfokú függés okozza, amely világosan jelzi új, megbízhatóbb módszer kidolgozásának szükségességét. Ezzel összhangban megvizsgáltuk, felhasználható-e a klasszikus Langmuir-Hill egyenlet és az ebből levezetett „koncentráció-meghatározó” egyenlet az $[Ado]_{ISF}$ változásának mérésére. Mivel a NT gátlása metabolikusan intakt szívizomzaton erőteljesen növeli az $[Ado]_{ISF}$ -t, ennek meghatározását tűztük ki első célunkul.

Ismert, hogy a thyreoid hormonok (T_3 , T_4) több ponton is befolyásolják az A_1 receptor mediálta jelátvitelt, melyek eredőjeként hyperthyreoid szíven az A_1 altípus agonistái csökkent választ váltanak ki. Legjobb tudomásunk szerint azonban nincs adat arra nézve, hogy mi a thyreoid hormonok hatása a myocardialis $[Ado]_{ISF}$ -ra és ennek változására NT gátlás alatt, noha ezek az információk hozzájárulnának a T_3 és T_4 szívre kifejtett hatásainak pontosabb felderítéséhez. Második célunk ezért annak vizsgálata volt, hogyan befolyásolja a hyperthyreosis a NT blokádnak hatását az $[Ado]_{ISF}$ -ra. Ez lehetőséget teremtett arra is, hogy gyakorlati probléma megoldására használjuk fel frissen tesztelt módszerünket, a koncentráció-meghatározó egyenlet illesztésén alapuló RRM-et.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

ANYAGOK

Kísérleteinkhez a következő vegyületeket használtuk: adenzin (Ado); N⁶-cyclopentyladenosine (CPA); dipiridamol (DP); S-(2-hidroxi-5-nitrobenzyl)-6-thioinosine (NBTI); adenzin dezamináz (ADA); L-tiroxin (T₄).

Az Ado-t 36 °C-os módosított Krebs-Henseleit pufferben (Krebs oldat) oldottuk fel, melyet a következő összetétellel készítettünk (mM): NaCl: 118; KCl: 4.7; CaCl₂: 2.5; NaH₂PO₄: 1; MgCl₂: 1.2; NaHCO₃: 24.9; D-glükóz: 11.5; acidum ascorbicum: 0.1 (bidesztillált vízben oldva). A preparátumok tápoldata 36 °C-os Krebs oldat volt.

KÍSÉRLETI ÁLLATOK

Kísérleteinket 500-700 g testtömegű tengerimalacokból eltávolított bal pitvarokon végeztük. Az állatok tartása, előkezelése és feldolgozása összhangban volt a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának Etikai Kódexében megfogalmazottakkal és az ide vonatkozó Európai Unió előírásokkal.

TIROXIN KEZELÉS

Annál a vizsgálatnál, amelynél a cél az eu- és a hyperthyreoid állapot összehasonlítása volt, az állatokat random módon két részre osztottuk: T₄ kezelt és oldószerkezelt (S kezelt) csoportra.

A T₄ kezelt csoport tagjai 330 µg/testtömeg kg T₄-t kaptak naponta egyszer intraperitoneálisan, míg az S kezelt csoport állatai a T₄ oldószerét

kapták, ugyanolyan módon (*in vivo* kezelés). A kezelés 8 napig tartott, az állatok felhasználása a 9. napon történt meg.

SZÖVETI PREPARÁTUMOK

A tengerimalacok kíméletes elpusztítása után a bal pitvart izoláltuk, majd 10 cm³-es, Krebs oldattal feltöltött szervkádban (TSZ-04, Experimetria, Budapest) felfüggesztettük. A Krebs oldatot 95% O₂ és 5% CO₂ elegyével oxigenáltuk, ami által pH-ja 7.4-re állt be. A pitvart egy fonálon keresztül izometriás mechano-elektromos átalakító („transzducer”; SG-01 D, Experimetria, Budapest) érzékelőjéhez rögzítettük, majd a pitvart 10 mN alapfeszítés alá helyeztük, melyet a kísérlet folyamán (közvetlenül a mosások után) rendszeresen utánkorrigáltunk.

A pitvarokat programozható elektrostimulátorral (ST-02, Experimetria, Budapest) ingereltük pontszerűen kiképzett platina elektródokon keresztül. Az ingerlést 3 Hz frekvenciával, 1 ms impulzusszélesség mellett, másfélszeres küszöbfeszültséggel (kb. 1 V) végeztük. A kontrakciókkal arányos elektromos jeleket 6 csatornás poligráfon (BR-61, Medicor, Budapest) rögzítettük.

PROTOKOLLOK

Az ingerlés megkezdése után valamennyi pitvart 50 percen keresztül inkubáltuk Krebs oldatban, ami alatt a kontraktilitási paraméterek stabilizálódtak. Az inkubáció során (itt és más alkalommal is) a szervkádak oldatát 15-20 percenként cseréltük (mosás). A pitvarokat az előinkubáció alatt random módon csoportokba illetve alcsoportokba soroltuk. A kísérletek során a pitvarok izometrikus kontrakcióit regisztráltunk, melyeknek az amplitúdóját értékeltük, mint kontrakciós erőt.

Ado E/[A] görbék

Elsőként valamennyi kísérleti csoportban illetve alcsoportban kumulatív E/[A] görbét vettünk fel Ado-nal. A hatás beálltát az adott dózis beadása után kialakuló legkisebb kontrakciós erő jelezte. Az Ado E/[A] görbe segítségével zártuk ki az adatfeldolgozásba való bevásztási kritériumokat nem teljesítő anomális pitvarokat.

In vitro kezelés

Az Ado E/[A] görbe felvételét követő mosás után 50 perces inkubáció következett (*in vitro* kezelés), ennek jellege határozta meg, milyen csoportba illetve alcsoportba tartozott a továbbiakban az adott preparátum.

Első vizsgálatsorozatunkban *in vivo* kezeletlen állatokat használtunk fel, ebben az *in vitro* kezelés a következő csoportokat alakította ki: (1.) Krebs oldat: **kontroll csoport**; (2.) 10 μ M DP: **DP csoport**; (3.) 10 μ M NBTI: **NBTI csoport**.

Második vizsgálatsorozatunkban az *in vivo* kezelés két csoportot eredményezett (S illetve T₄ kezelt), melyeket az *in vitro* kezelés három-három alcsoportra bontott: (1.) Krebs oldat: **S kontroll alcsoport**; (2.) 10 μ M NBTI: **S & NBTI alcsoport**; (3.) 2 U/ml adenozin dezamináz (ADA) + 10 μ M NBTI: **S & ADA+NBTI alcsoport**; (4.) Krebs oldat: **T₄ kontroll alcsoport**; (5.) 10 μ M NBTI: **T₄ & NBTI alcsoport**; (6.) 2 U/ml ADA + 10 μ M NBTI: **T₄ & ADA+NBTI alcsoport**.

CPA E/[A] görbék

Az *in vitro* kezelés után minden csoportban illetve alcsoportban kumulatív E/[A] görbét vettünk fel CPA-val, amely igen szelektív A₁ receptor agonista. Mivel a CPA nem szubsztátja a myocardiumban található Ado-bontó illetve újrahasznosító enzimeknek, vérmentes pitvarszövetben vizsgálatunk ideje alatt (20-40 perc) alig csökken a koncentrációja. A CPA lassú eliminációja miatt

nehezen távolítható el a pitvar szöveiteiből, ezért vizsgálataink során le kellett mondanunk az önkontrollos kísérletekről (amelyben ugyanazon preparátumon vettünk volna fel „kontroll” és „kezelt” CPA $E/[A]$ görbét). Emiatt külön kontroll csoportot illetve kontroll alcsoportokat hoztunk létre és ezekhez hasonlítottuk a többi csoportot illetve alcsoportot.

ADATFELDOLGOZÁS

A koncentráció-hatás görbék feldolgozása

Egy agonista koncentráció hatásának a kiindulási kontrakciós erő százalékos csökkenését tekintettük. A $E/[A]$ görbék pontjaira a Langmuir-Hill egyenletet illesztettük. Az egyes preparátumok válaszkészségét az adott agonistával szemben $E/[A]$ görbéjük $E_{\max}$, EC_{50} és n paramétereivel jellemeztük.

Koncentrációbecslés a Langmuir-Hill egyenlettel (klasszikus módszer)

A Langmuir-Hill egyenletbe hatásként a kontrakciós erő DP illetve NBTI jelenlétében tapasztalt csökkenését írtuk be (a nyugalmi érték százalékában kifejezve). Az $E_{\max}$, EC_{50} és n paraméterek az azonos *in vivo* kezelésű (vagy *in vivo* kezelés nélküli) pitvarok átlagolt Ado $E/[A]$ görbéinek $E_{\max}$, EC_{50} és n értékei voltak. Az így számolt c értékek azokat az Ado koncentrációkat mutatják, amelyek a szervkádba mérve azonos inotrop hatást váltanak ki, mint 10 μM DP illetve NBTI. Az $[\text{Ado}]_{\text{ISF}}$ változás becslésének ezt az eljárását a továbbiakban klasszikus módszernek nevezzük.

Koncentrációbecslés a koncentráció-meghatározó egyenlet illesztésével: a „receptorial responsiveness method” (RRM)

Az $[\text{Ado}]_{\text{ISF}}$ NT blokádnak hatására bekövetkező változását jellemző relatív mutatót (c_x) úgy kaptunk meg, hogy a koncentráció-meghatározó egyenletet illesztettük a CPA $E/[A]$ görbe adatokra a DP illetve NBTI kezelt csoportokban.

Az egyenlet az (azonos *in vivo* kezelésű) átlagolt kontroll CPA $E/[A]$ görbék paramétereit tartalmazta ($E_{\max}$, EC_{50} , n), ezek definiálták a CPA és az A_1 receptorok közötti intakt kapcsolatot. A kapott relatív mutató tehát azt a CPA koncentrációt adja meg, amelyik ugyanakkora inotrop hatást fejt ki, mint $10\ \mu\text{mol/l}$ DP illetve NBTI. Ezt az eljárást a továbbiakban „receptorial responsiveness method”-nak (receptoriális válaszkészség módszer), röviden RRM-nek nevezzük. Az illesztést elvégeztük mind az individuális, mind az átlagolt CPA $E/[A]$ görbe adatokra.

Annak érdekében, hogy a klasszikus módszerrel számított Ado koncentrációkat összehasonlíthassuk az RRM becsléseivel, az RRM által szolgáltatott CPA koncentrációkat a Langmuir-Hill egyenlettel átszámoltuk Ado koncentrációkra. Először a c_x értékekhez tartozó negatív inotrop hatásokat (E_x) számoltuk ki a Langmuir-Hill egyenlettel, amelybe az (azonos *in vivo* kezelésű) átlagolt kontroll CPA $E/[A]$ görbe $E_{\max}$, EC_{50} és n paramétereit írtuk. Ezután az E_x -ekhez tartozó Ado koncentrációkat számoltuk ki a Langmuir-Hill egyenlettel, amely az (azonos *in vivo* kezelésű) átlagolt kontroll Ado $E/[A]$ görbe $E_{\max}$, EC_{50} és n paramétereit tartalmazta. Mivel a számításhoz Ado $E/[A]$ görbék paramétereit használtuk fel, az így kapott Ado koncentrációk - a klasszikus módszerrel számítottakhoz hasonlóan - azokat az Ado koncentrációkat adják meg, amelyek a szervkádba mérve azonos inotrop hatásúak $10\ \mu\text{M}$ DP-lal illetve NBTI-vel.

Statisztikai feldolgozás

Normál eloszlást és homogén varianciákat mutató adathalmazok (csoportok) középértékeinek összehasonlításához két csoport esetén kétoldali kétmintás párosítatlant Student-féle t tesztet végeztünk, kettőnél több csoportra egyutas varianciaanalízist (ANOVA) készítettünk Newman-Keuls poszt-tesztel. Ha két normál eloszlású csoport varianciái különbözőek voltak, Welch-korrigált t tesztet használtunk. Nem normál eloszlást mutató két csoportot Mann-Whitney

U tesztel, többet Kruskal-Wallis tesztel hasonlítottunk össze, utóbbit Dunn poszt-tesztel kiegészítve.

$E/[A]$ görbék esetében az összehasonlítás tárgyai az $E_{\max}$, $\log EC_{50}$ és n értékek voltak. Az EC_{50} logaritmálására azért volt szükség, hogy az adatok normál eloszlásúvá váljanak és (ha megfelelnek minden fent részletezett feltételnek) parametrikus statisztikai próbával vizsgálhatók legyenek.

A számított Ado és CPA koncentrációk esetében kétféle átlagot képeztük: (1.) vettük az individuális koncentrációk számtani közepét; (2.) először vettük az alapadatok számtani közepét és azokból számoltunk koncentrációt. A statisztikai elemzés során az individuális koncentrációk átlagát hasonlítottuk össze, az átlagolt alapadatokból nyert koncentrációkat pedig illusztrációként használtuk, mivel az előzetes átlagolás ellensúlyozza a biológiai variabilitás és a mérési hibák zavaró hatását.

A klasszikus módszerrel és az RRM-mel számolt Ado koncentrációkat kétutas ANOVA-val is összehasonlítottuk.

A véletlen oki szerepét $p < 0.05$ esetén vetettük el.

EREDMÉNYEK

AZ ADENOZINRA ADOTT INOTROP VÁLASZ

A korábbi megfigyeléseknek megfelelően, az Ado koncentrációfüggően csökkentette mind az eu-, mind a hyperthyreoid pitvarok kontrakciós erejét.

Az *in vivo* kezeletlen csoportok illetve az azonos *in vivo* kezelésű alcsoportok Ado-ra adott válasza nem különbözött szignifikánsan egymástól a jelen értekezésben feldolgozott két vizsgálat egyikében sem. Ez a csoportosítás megfelelő randomizációját mutatja.

A T₄ kezelés szignifikánsan csökkentette az Ado-ra adott inotrop választ.

A CPA-RA ADOTT INOTROP VÁLASZ

A korábbi megfigyeléseknek megfelelően, a CPA koncentrációfüggő módon csökkentette mind az S, mind a T₄ kezelt pitvarok kontrakciós erejét.

A T₄ kezelés szignifikánsan csökkentette a CPA-ra adott inotrop választ.

Az *in vivo* kezeletlen pitvarokon a DP és az NBTI szignifikánsan és hasonló mértékben csökkentette a CPA-ra adott választ.

A T₄ kezelt pitvarokon az NBTI erőteljesebben csökkentette a CPA-ra adott választ, mint az S kezeltéken. Az ADA szignifikánsan mérsékelte az NBTI hatását mind az S, mind a T₄ kezelt preparátumokon.

A NUKLEOZID TRANSZPORT GÁTLÁS HATÁSA AZ A₁ RECEPTOROK KÖRNYEZETÉNEK ADENOZIN-SZINTJÉRE

Az [Ado]_{ISF} *in vitro* kezelés hatására bekövetkező változásának jellemzésére két eljárást alkalmaztunk, a klasszikus módszert és az RRM-et. Előbbit csak az *in vivo* kezeletlen pitvarokon kiviteleztük abból a célból, hogy a

kapott eredményeket az RRM eredményeivel összehasonlíthassuk, míg az RRM-et alkalmaztuk az *in vivo* S és T₄ kezelt pitvarokon is.

A klasszikus módszer alapján az *in vitro* kezelés inotrop hatásából számoltuk ki azt az Ado koncentrációt, amely a szervkádba mérve ekvielektív lenne. Az RRM során CPA-val kétféle E/[A] görbét vettünk fel: kontrollt, amihez hasonlítottunk, és azt, aminek a kontrolltól való eltérését egy CPA koncentrációval (c_x) jellemeztük. Ez úgy történt, hogy a kontroll CPA E/[A] görbe paramétereit (E_{max} , EC₅₀ , n) beírtuk a koncentráció-meghatározó egyenletbe, amelyet aztán a torzult CPA E/[A] görbe adataira illesztettünk. A következő illesztéseket végeztük el:

(1.) a kontroll csoport átlagolt CPA E/[A] görbéjének paramétereivel **a)** a DP és az NBTI csoportok átlagolt CPA E/[A] görbe adataira, valamint **b)** a DP és az NBTI csoportok individuális CPA E/[A] görbe adataira (Ø táblázat);

(2.) az S kontroll alcsoport átlagolt CPA E/[A] görbéjének paramétereivel **a)** az S & NBTI és az S & ADA+NBTI alcsoportok átlagolt CPA E/[A] görbe adataira, valamint **b)** az S & NBTI és az S & ADA+NBTI alcsoportok individuális CPA E/[A] görbe adataira (S táblázat);

(3.) a T₄ kontroll alcsoport átlagolt CPA E/[A] görbéjének paramétereivel **a)** a T₄ & NBTI és a T₄ & ADA+NBTI alcsoportok átlagolt CPA E/[A] görbe adataira, valamint **b)** a T₄ & NBTI és a T₄ & ADA+NBTI alcsoportok individuális CPA E/[A] görbe adataira (T₄ táblázat).

Jóllehet az *in vivo* kezeletlen pitvarokon nem volt statisztikailag szignifikáns differencia az eltérő módszerrel kapott eredmények között, a különbség figyelemre méltóan nagyobb volt a DP csoportban (Ø táblázat: Átlag 1 értékek). Szignifikáns különbség mutatkozott viszont az eltérő *in vitro* kezelésű csoportok azon Ado koncentrációi között, amelyeket a klasszikus módszerrel kaptunk (p<0.01) (Ø táblázat: Átlag 1 értékek). Az eltérés oka (source of variation) a kétutas ANOVA szerint a két NT inhibitor közötti különbség (p=0.034) és nem a módszerek különbsége (p=0.88).

Ø	DP		NBTI	
	Átlag 1	Átlag 2	Átlag 1	Átlag 2
RRM [CPA] (nM)	16.2 ± 3.7	16.1	25.3 ± 9.2	20.4
RRM [Ado] (µM)	32.3 ± 12.5	25.5	58 ± 28.6	36.9
K [Ado] (µM)	9.8 ± 3.7	7.5	87.6 ± 31.8 **	40

S	NBTI		ADA+NBTI	
	Átlag 1	Átlag 2	Átlag 1	Átlag 2
RRM [CPA] (nM)	18.8 ± 3	18.5	7.9 ± 1.9	7.8

T₄	NBTI		ADA+NBTI	
	Átlag 1	Átlag 2	Átlag 1	Átlag 2
RRM [CPA] (nM)	46.5 ± 13.7 †	37	7.4 ± 2.3 ≠	6.6

Ø, S és T₄ táblázatok. Az A₁ receptorközel [Ado]_{ISF} változását jellemző, RRM-mel meghatározott CPA koncentrációk (c_x); a c_x-ekből a Langmuir-Hill egyenlettel számított Ado koncentrációk; valamint a klasszikus módszerrel számolt Ado koncentrációk. A vizsgált csoportok és alcsoportok *in vivo* kezelését a táblázatok bal felső sarkában jeleztük (Ø, S, T₄), az *in vitro* kezelést pedig a táblázatok felső sorában tüntettük fel.

Az „RRM [CPA] (nM)” kezdetű sorok az [Ado]_{ISF} változásával ekvieffektív CPA koncentrációkat (c_x) tartalmazzák (nM-ban), míg az ezekből a Langmuir-Hill egyenlettel átszámított Ado-szinteket az „RRM [Ado] (µM)” kezdetű sorok adják meg (µM-ban). A „K [Ado] (µM)” kezdetű sor a klasszikus módszerrel meghatározott Ado koncentrációkat mutatja (µM-ban). Átlag 1: a meghatározott individuális értékek számtani közepe ± SEM. Átlag 2: az előzetesen átlagolt kiindulási adatokból meghatározott értékek.

A statisztikai szignifikancia-szintek a következő összehasonlításokra vonatkoznak: az NBTI és a DP csoportok azonos koncentrációbecslő módszeren belül (*); az S és a T₄ kezelt alcsoportok azonos *in vitro* kezelésen belül (†); az NBTI és az ADA+NBTI alcsoportok azonos *in vivo* kezelésen belül (≠). Egy szimbólum: p<0.05 ; két szimbólum: p<0.01 .

Az *in vivo* kezelt pitvarok esetében a T_4 & NBTI alcsoport c_x koncentrációinak átlaga 2.5-szerese volt az S & NBTI alcsoportbeli c_x koncentrációk átlagának ($p < 0.05$) (S és T_4 táblázatok: Átlag 1 értékek). Ezzel összhangban alakultak az átlagolt CPA $E/[A]$ görbékből meghatározott c_x koncentrációk is: a T_4 & NBTI alcsoportban meghatározott c_x másfélszerese volt az S & NBTI alcsoport c_x értékének (S és T_4 táblázatok: Átlag 2 értékek). Amennyiben NBTI mellett egyidejűleg ADA is jelen volt, a kapott c_x értékek lényegesen kisebbek voltak (S és T_4 táblázatok: Átlag 1 és Átlag 2 értékek), bár ez csak a T_4 kezelt pitvarok esetében volt statisztikailag szignifikáns ($p < 0.05$) (S és T_4 táblázatok: Átlag 1 értékek).

MEGBESZÉLÉS

A szív Ado receptorai közül legtöbbet kutatott A_1 receptorok jellegzetessége, hogy nagy dózisú teljes agonista jelenlétében is csak lassan deszenzitizálódnak. Ez azt jelenti, hogy az Ado receptorok számára hozzáférhető agonisták koncentrációjának akár tartós megváltoztatása is hosszantartóan képes az Ado receptorok, köztük az A_1 receptorok működésére hatni, ami perspektívát ad az adenozinerg agonisták és érzékenyítők (sensitizerek), illetve az Ado szöveti eloszlását befolyásoló szerek kutatásának.

Az interstitium Ado kínálata nagy jelentőségű a szívizom ischaemiával szembeni védekezőképessége szempontjából. Az interstitialis Ado elsősorban sejtfelszíni Ado receptorok ingerlésével fejtí védő hatását. Az Ado receptorok közül napjainkra a legtöbb bizonyíték az A_1 receptorok kardioprotektív funkcióját támasztja alá, de a pontos mechanizmus a mérési korlátok és az egymásnak részben ellentmondó eredmények miatt részleteiben nem tisztázott. A cardialis $[Ado]_{ISF}$ becslésére jelenleg elfogadott módszerekkel kapott értékek skálája azonban három nagyságrendre terjed ki és erősen függ az alkalmazott mérőmódszertől, ami új eljárás kidolgozásának szükségességét mutatja.

Régóta ismert, hogy jól oxigenált szívizomban a NT gátlása fokozza mind az endogén, mind az exogén Ado hatásait. A direkt $[Ado]_{ISF}$ mérés nagyfokú módszerfüggése miatt a NT gátlók hatása is nehezen ítéltető meg, különösen a myocardialis A_1 receptorok környezetében, ami működő szívben nehezen megközelíthető szöveti kompartment.

Az *in vivo* kezelés nélküli állatokon végzett kísérletek során az $[Ado]_{ISF}$ változását NT gátló DP és NBTI hatására két módszerrel jellemeztük: a klasszikus módszerrel és az RRM-mel, mely utóbbinak ez a vizsgálat volt az első felhasználása. A klasszikus módszerrel való meghatározást azért végeztük el, hogy annak eredménye az RRM számára összehasonlítási alapot jelentsen.

Mind a DP, mind az NBTI szignifikánsan csökkentette a tengerimalac bal pitvarok CPA-ra adott válaszát. A nem nukleozid szerkezetű DP és a nukleozid analóg NBTI közös tulajdonsága, hogy hatékonyan gátolják az ENT1 típusú membránális Ado carriereket. Mivel metabolikusan intakt szívben az Ado eredő áramlása az interstitium felől a sejtek belsejébe történik, a DP és az NBTI hatását a CPA-ra adott válasza a NT gátlás miatti $[Ado]_{ISF}$ emelkedésnek tulajdoníthatjuk. A felszaporodó interstitialis Ado ugyanis a myocardialis A_1 receptorok ingerlésével negatív inotrop hatást fejt ki, ami által „elhasználja” az A_1 receptorok negatív inotrop kapacitásának egy részét, így az ezt követően felvett CPA $E/[A]$ görbe deprimált lesz.

Az RRM-mel kapott becslés szerint 10 μM DP illetve NBTI hatására az $[Ado]_{ISF}$ megemelkedett az izolált tengerimalac bal pitvarokban, a többlet Ado koncentráció az A_1 receptorok mikrokörnyezetében 16.1 nM illetve 20.4 nM CPA-val volt ekvieffektív. A kapott c_x értékek egyedülállóak abban a tekintetben, hogy a bomlékony Ado szintjének NT gátlás okozta változását az A_1 receptorok környezetében, vagyis egy olyan szöveti kompartmentben jellemzik, amely nagy jelentőségű a szív hypoxiához való adaptációja szempontjából, ugyanakkor más módszerrel nehezen közelíthető meg.

Mivel az RRM-mel kapott c_x értékeink CPA koncentrációk, közvetlenül nem vethetők össze sem irodalmi adatokkal, sem a klasszikus módszerrel kapott Ado koncentrációkkal. Ez okból Ado $E/[A]$ görbe paraméterek bevonásával a 16.1 nM illetve 20.4 nM CPA-t 25.5 μM illetve 36.9 μM Ado-ra számoltuk át. A bevezetésben részletezett okokból kifolyólag azonban ezek az Ado koncentrációk nem az $[Ado]_{ISF}$ növekedését mutatják, hanem azokat a szervkádbeli exogén Ado-szinteket, amelyek a pitvarszövet A_1 receptorai közelében a kérdéses $[Ado]_{ISF}$ növekedést létre tudják hozni. Mivel a szívizomban az exogén Ado gyorsan eliminálódik, a szervkádbeli és a receptorközei Ado koncentrációk között feltehetően jelentős különbség alakul ki (az A_1 receptorközei $[Ado]_{ISF}$ egy diffúzió, transzport és elimináció által

létrehozott dinamikus egyensúly eredménye). Ebből következően a CPA szintek átszámítása Ado koncentrációkká ugyanazt a hibát viszi be az eredményekbe, mint a klasszikus módszer. Ezáltal az RRM CPA szintjeinek Ado szintekre való átszámítása az irodalmi összehasonlítást ugyan nem teszi lehetővé, viszont megengedi a klasszikus módszerrel kapott Ado koncentrációkkal való összevetést.

Az NT gátlás okozta $[Ado]_{ISF}$ növekedést jellemző Ado koncentrációk elemzése szerint az eredmények variabilitásának hátterében az NT blokkerek különbözősége áll (DP vs. NBTI) és nem a két módszer közötti különbség (klasszikus módszer vs. RRM). Ebből az a következtetés vonható le, hogy a CPA alkalmazása az RRM során nem torzította lényegesen az $[Ado]_{ISF}$ változásának jellemzését, ami alátámasztja kiindulási hipotézisünket. A klasszikus módszer során ugyanis nem használtunk fel mást, csak a NT inhibitorok negatív inotrop hatását, intakt Ado $E/[A]$ görbe paramétereit és a Langmuir-Hill egyenletet.

Az *in vivo* kezeletlen állatokon végzett kísérleteinkből az alábbi következtetéseket vontuk le: (1.) Eltérő agonisták esetén az RRM relatív mutatókat eredményez, de a nagyobb relatív mutató mindig a meghatározandó agonista nagyobb ekvieffektív koncentrációját jelzi. A megbízhatóság érdekében bomlékony (vagy más okból nehezen mérhető) agonista esetében sokszor érdemes lemondani az abszolút koncentrációváltozás meghatározásáról és relatív jellemzőt használni. Továbbá, (2.) az NBTI alkalmasabb az NT inhibíció hatásainak tanulmányozásához, mint a kevésbé szelektív DP.

Az *in vivo* kezelt állatokon az $[Ado]_{ISF}$ NT gátlás hatására létrejövő változását hasonlítottuk össze eu- illetve hyperthyreoid pitvarizomzaton. Előző kísérleteink következtetéseinek megfelelően az $[Ado]_{ISF}$ változását az RRM segítségével jellemeztük a CPA-ra adott inotrop válasz változása alapján, NT inhibitorok pedig a szelektív ENT1 gátló NBTI-t használtuk.

Az NBTI minden pitvaron csökkentette a CPA-ra adott választ. Mivel az NBTI szelektív ENT1 inhibitor, a CPA hatásának csökkenéséért, legalábbis részben, a felszaporodó interstitialis Ado-t tehetjük felelőssé. Ez arra utal, hogy a hyperthyreosis nem változtatja meg a NT euthyreoid állapotban megfigyelt irányát tengerimalac pitvaron. Megerősítve azt a feltételezésünket, hogy az NBTI negatív inotrop hatásáért extracelluláris Ado felhalmozódás a felelős, a beadott ADA csökkentette az NBTI hatását a CPA-ra adott válaszra. A fentiekkel összhangban alakultak az RRM-mel meghatározott c_x értékek is.

A c_x -ek értelmezése előtt végig kell gondolnunk, hogy a hyperthyreosis megváltoztatja az Ado több enzimének és transzporterének aktivitását. Mivel ezúttal nem használtunk fel Ado $E/[A]$ görbe adatokat az RRM-hez, a CPA sorsát pedig nem befolyásolják a vértelen pitvarszövet enzimeit és transzportereit, a CPA $E/[A]$ görbék az A_1 receptorok funkcionális állapotát tükrözték. Hyperthyreoid állapotban ugyanakkor csökken maga az A_1 receptorfunkció is. Ez sem hamisította meg azonban az eu- és a hyperthyreoid állapot RRM-mel történő összehasonlítását, mert az NBTI illetve ADA+NBTI kezelt alcsoportokat az azonos *in vivo* kezelt kontrollokhoz hasonlítottuk. Az A_1 receptorfunkció thyreoid hormon-függő sajátosságai benne foglaltatnak ugyanis a kontroll pitvarok CPA $E/[A]$ görbéinek E_{max} , EC_{50} és n paramétereiben, amelyek a koncentráció-meghatározó egyenletben az alapállapotot definiálták.

A NT gátlás okozta többlet $[Ado]_{ISF}$ CPA ekvivalense mintegy duplája volt a hyperthyreoid pitvarokon (37 nM), mint az euthyreoidokon (18.5 nM). Ez azt sugallja, hogy (gátolatlan állapotban) az intracelluláris tér felé irányuló, ENT1-en keresztüli Ado transzport intenzitása nő a T_4 kezelés hatására a jól oxigenált tengerimalac pitvarszövetben. A fokozott NT hozzájárulhat az Ado és a hozzá hasonlóan erőteljesen transzportálódó Ado analógok hyperthyreota szívben tapasztalt csökkent hatásához azzal, hogy csökkenti az esélyét az Ado és az extracelluláris kötőhelyű Ado receptorok kapcsolódásának.

Az ENT1-en keresztüli Ado influx fokozódását elméletileg a következő változások okozhatják hyperthyreosisban: (1.) nagyobb extracelluláris Ado termelő enzim-aktivitás; (2.) nagyobb intracelluláris Ado elimináló (bontó és/vagy újrahasznosító) enzim-aktivitás; (3.) az ENT1 nagyobb részvétele a teljes NT-ban. Akármi is a pontos mechanizmus, eredményünk szerint a thyreoid hormonok nem fordítják meg az Ado befelé mutató hajtóerejét. Ezt a befelé mutató hajtóerőt elméletileg az ENT1-ével ellenkező irányú transzportot mediáló koncentratív carrierek is erősíthetnék, erre vonatkozó adatot azonban nem találtunk a szakirodalomban. Mi több, az általánosan elfogadott álláspont szerint a cardiomyocytaikon kizárólag ekvibratív nukleozid carrier, azon belül is ENT1 található. Vagyis, hyperthyreota szívben a megtartott vagy megnövekedett Ado-ra vonatkozó befelé mutató hajtóerőt feltehetően megtartott vagy megnövekedett nettó interstitialis Ado termelés hozza létre.

In vivo S illetve T₄ kezelt tengerimalac bal pitvaron végzett kísérleteink tehát arra utalnak, hogy: (1.) Hyperthyreoid myocardiumban az ENT1 gátlása nagyobb interstitialis Ado akkumulációt okoz, mint euthyreoid viszonyok között. (2.) Ennek hátterét illetően arra következtettünk, hogy a T₄ nem változtatja meg a NT nettó irányát, sőt a hyperthyreoid pitvari cardiomyocytaikon (gátolatlan állapotban) fokozódik befelé irányuló, ENT1-en keresztüli Ado transzport. (3.) Az RRM evidenciát szolgáltatott arra, hogy NT blokád során az A₁ receptorok fokozottan stimulált állapotban vannak mind az eu-, mind a hyperthyreoid pitvarokon, ugyanakkor ez az aktiváció nagyobb mértékű a hyperthyreoid preparátumokon. Mivel az A₁ receptorok és az általuk iniciált folyamatok a legtöbb specieszen (köztük tengerimalacban és emberben is) lényeges részei a szív ischaemiás és hypoxiás károsodásokkal szembeni védekezésének, az NT gátlók előreláthatólag fontos szerepet kapnak majd a hyperthyreota szíven folytatott további vizsgálatokban is.

ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során az $[Ado]_{ISF}$ NT gátlás okozta változásának jellemzésére két módszert hasonlítottunk össze: algebrai számítást a klasszikus Langmuir-Hill egyenlet alapján, valamint regresszióanalízist a Langmuir-Hill egyenletből levezetett koncentráció-meghatározó egyenlettel („receptorial responsiveness method”: RRM). Vizsgálataink szerint az RRM lehetővé teszi valamely agonista receptorközei koncentrációváltozásának jellemzését azokban az esetekben is, amikor az agonista bomlékonysága miatt a Langmuir-Hill egyenlet erre nem használható. Ennek elsősorban akkor van jelentősége, ha az adott agonista koncentrációját az agonista receptorát tartalmazó kompartmentben más módszerrel nehéz pontosan meghatározni. Vagyis, egy bomlékony agonista közvetlenül gyakorlatilag mérhetetlen receptorközei koncentrációváltozását egy olyan stabil agonista ekvielektív koncentrációival jellemezhetjük, amely azonos (vagy nagyon hasonló) szignáltranszdukciójú, mint a bomlékony agonista.

Az RRM által szolgáltatott jellemző segítségével eltérő enzim- illetve transzporter-aktivitású szövetek bomlékony agonistáinak koncentrációváltozásai is összehasonlíthatóak. Ismert, hogy hyperthyreoid szívben megváltozik egy sor Ado specifikus enzim és carrier aktivitása. Mivel ezek a változások alig érintik a relatíve stabil CPA eliminációját vérmentes pitvarszöveten, a NT gátlás okozta $[Ado]_{ISF}$ változást megbízhatóan kvantifikálja a CPA RRM segítségével meghatározott ekvielektív koncentrációja (c_x). Eredményeink szerint hyperthyreoid pitvarokon az NT gátlás mintegy 2-2.5-szeres c_x növekedést okoz az euthyreoid pitvarokhoz képest, ami az $[Ado]_{ISF}$ nagyobb mértékű növekedését mutatja hyperthyreoid pitvaron NT gátló jelenlétében. Ez arra utal, hogy a hyperthyreosis nem változtatja meg a NT fiziológiás irányát, sőt a hyperthyreoid állapotra fokozott intracelluláris tér felé irányuló NT jellemző az euthyreoid viszonyokhoz képest.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TELJES KÖZLEMÉNYEK

Karsai D, Zsuga J, Juhász B, Dér P, Szentmiklósi AJ, Tósaki Á, Gesztelyi R (2006) Effect of nucleoside transport blockade on the interstitial adenosine level characterized by a novel method in guinea pig atria. *J Cardiovasc Pharmacol* 47: 103-109 (IF: 1.625)

A javított online verzió letölthető a következő linkről:
<http://www.cardiovascularpharm.com/pt/re/jcardiopharm/fulltext.00005344-200602000-000015.htm>

Karsai D, Gesztelyi R, Zsuga J, Jakab A, Szendrei L, Juhász B, Bak I, Szabó G, Lekli I, Vecsernyés M, Varga E., Szentmiklósi AJ, Tósaki Á (2007) Influence of hyperthyroidism on the effect of adenosine transport blockade assessed by a novel method in guinea pig atria. *Cell Biochem Biophys* 47: 45-52 (IF: 1.693)

AZ ÉRTEKEZÉSHEZ KAPCSOLÓDÓ TELJES KÖZLEMÉNY

Kemény-Beke Á, Jakab A, Zsuga J, Vecsernyés M, **Karsai D**, Pásztor F, Grencher M, Szentmiklósi AJ, Berta A, Gesztelyi R (2007) Adenosine deaminase inhibition enhances the inotropic response mediated by A₁ adenosine receptor in hyperthyroid guinea pig atrium. *Pharmacol Res* 56: 126-133 (IF: 2.421)

POSZTEREK ÉS ABSZTRAKTOK

Gesztelyi R, **Karsai D**, Zsuga J, Szentmiklósi AJ, Tósaki Á (2004) A nukleozid transzport gátlásának hatása az interszticiális adenzin szintjére eu- és hipertiroid tengerimalac bal pitvaron. A Magyar Klinikai Farmakológusok VI. Továbbképző Kongresszusa, Debrecen

Gesztelyi R, **Karsai D**, Zsuga J, Vecsernyés M, Tósaki Á (2005) An old-new approach for estimating the change in interstitial adenosine concentration in guinea pig left atria. A Magyar Experimentális Farmakológia Tavaszi Szimpóziuma, Budapest, p. 18

Zsuga J, Gesztelyi R, **Karsai D**, Szentmiklósi AJ, Tósaki Á (2005) Implementation of concentration-response curves for concentration estimation: the extension of the scope of the Langmuir–Hill equation. A Magyar Experimentális Farmakológia Tavaszi Szimpóziuma, Budapest, p. 79

Karsai D, Zsuga J, Pásztor F, Jakab A, Juhász B, Gesztelyi R, Szentmiklósi AJ, Tósaki Á (2006) Az adenzin dezamináz gátlása által kiváltott intracelluláris adenzin felhalmozódás hatása az A₁ adenzin receptorok válaszkészségére hyperthyreoid tengerimalacok bal pitvarán. MÉT LXX. Vándorgyűlése, Szeged 2006, p. 241

Karsai D, Kemény-Beke A, Pásztor F, Jakab A, Szentmiklósi AJ (2006) Intracellular adenosine accumulation elicited by adenosine deaminase inhibition enhances the responsiveness of A₁ adenosine receptors in hyperthyroid guinea pig atria. *Acta Physiol Hung* 93: 190

Karsai D, Zsuga J, Pásztor F, Jakab A, Juhász B, Gesztelyi R, Szentmiklósi J, Tósaki Á (2006) Az adenzin dezamináz gátlása által kiváltott intracelluláris adenzin felhalmozódás hatása az A₁ adenzin receptorok válaszkészségére hyperthyreoid tengerimalacok bal pitvarán. Kórházi Gyógyszerészek XV. Kongresszusa, Eger, P11

Vecsernyés M, Dér P, Gesztelyi R, **Karsai D**, Tósaki Á, Juhász B (2007) Hemoxxygenase-1 enzymes involves in the cardioprotective effect of the alpha-melanocyte-stimulating hormone. *J Mol Cell Cardiol* 42(Suppl 1) S208 (IF: 4.859)

KÖNYVFEJEZETEK

Dr. Bánki M. Csaba, Dr. Bereczki Dániel (szerk.) Fókuszban a neurológia és pszichiátria – hatóanyagok, készítmények, terápia. Melinda Kiadó, Budapest 2005.

Dr. Nemesánszky Elemér (szerk.) Fókuszban a gasztroenterológia – hatóanyagok, készítmények, terápia. Melinda Kiadó, Budapest 2006.

Dr. Strausz János (szerk.) Fókuszban a légzőszervrendszer – hatóanyagok, készítmények, terápia. Melinda Kiadó, Budapest 2007.