

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A TIROXIN KEZELÉS HATÁSA AZ ADENOZINERG
MECHANIZMUSOKRA TENGERIMALAC PITVARIZOMZATON**

Dr. Gesztelyi Rudolf

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
FARMAKOLÓGIAI ÉS FARMAKOTERÁPIAI INTÉZET
Debrecen, 2005

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A TIROXIN KEZELÉS HATÁSA AZ ADENOZINERG
MECHANIZMUSOKRA TENGHERIMALAC PITVARIZOMZATON**

Dr. Gesztelyi Rudolf

Témavezető: Dr. Szentmiklósi József

Programvezető: Dr. Gergely Lajos

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
FARMAKOLÓGIAI ÉS FARMAKOTERÁPIAI INTÉZET
Debrecen, 2005

RÖVIDÍTÉSEK

AC = adenilcikláz

A₁ receptor = A₁ adenosin receptor

ADA = adenosin dezamináz

Ado = adenosin

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

ADP = adenosin-5'-difoszfát

AMP = adenosin-5'-monofoszfát

ARA-A = 9-beta-D-arabinofuranosid ()

ATP = adenosin-5'-trifoszfát

AV = atrioventricularis

cAMP = 3',5'-ciklikus adenosin monofoszfát

CF = coformycin

cGMP = 3',5'-ciklikus guanosin monofoszfát

ClAdo = 2-chloroadenosine

CPA = N⁶-cyclopentyladenosine

CPX = DPCPX

DAdo = 2'-deoxiadenosin (2'-deoxyadenosine)

DCF = 2'-deoxycoformycin

DP = dipyridamol (dipyridamole)

DPCPX = 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine

E/[A] = koncentráció-hatás

EHNA = *erythro*-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine

ENT1 = ekvilibratív és nitrobenzylthioinosine-nal gátolható nukleozid transzporter

K_{Ach/Ado} = muszkarin-aktivált K⁺ csatorna

L_{Ca} = L-típusú Ca²⁺ csatorna

M = mól/l

MC = metakolin (acetyl- β-methylcholine)

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

NECA = 5'-(N-ethylcarboxamido)adenosine

NO = nitrogénmonoxid

NT = szarkolemmális nukleozid transzport

PDE = 3',5'-ciklikus nukleotid foszfodiészteráz

PDE₂ = cGMP-stimulált 3',5'-ciklikus nukleotid foszfodiészteráz

PDE₃ = cGMP-gátolt 3',5'-ciklikus nukleotid foszfodiészteráz

PLB = foszfolambán

8-PT = 8-fenilteofillin (8-phenyl-theophylline)

RIA = radioimmunoassay

R-PIA = (R)-N⁶-(1-methyl-2-phenylethyl)adenosine

RRM = receptoriális válaszkészség módszer (receptorial responsiveness method)

T₃ = L-trijódtironin

T₄ = L-tiroxin (L-tetrajódtironin)

S = a T₄ oldószere („szolvens”)

SD = standard deviáció

SEM = standard hiba (standard error of the mean)

SAH = S-(5'-adenozil)-L-homocisztein

SR = szarkoplazmatikus retikulum /izomsejtbeli SER (simafelszínű endoplazmatikus retikulum)/

SERCA = SR Ca²⁺-ATP-áz (SR Ca²⁺-pumpa)

VERA = verapamil

BEVEZETÉS

Az adenozin (Ado) receptorok (A_1 , A_{2A} , A_{2B} , A_3) szerepe az élettani és a patológiás szabályozásban az elmúlt néhány évtized során egyre nyilvánvalóbbá vált. Körvonalazódtak egy olyan átfogó elméletnek az alapjai, amely szerint az endogén Ado által kiváltott biológiai válaszok gyakorlatilag minden sejtfeleség funkcionális aktivitását alapvetően determinálják. Egyre kidolgozottabbá válik az Ado receptorok teóriája és mind ismertebbé válnak azok a jelátviteli mechanizmusok is, amelyek a receptoraktiváció által kiváltott effektusokat közvetítik. Viszonylag kevés ismeretünk van azonban arról, hogy miként befolyásolja az Ado myocardialis és vascularis hatásait a metabolikus és hormonális környezet, hogyan modulálódnak a purinerg effektusok az endokrin és parakrin kapcsolatok révén. Feltételezhető, hogy az Ado, mint erős cardiovascularis aktivitással rendelkező endogén anyag, a célsejteken nem izoláltan fejti ki hatását, hanem részét képezi egy olyan komplex szabályozási folyamatnak, amelynek révén a szív munkaizomzatának és ingerképző sejtjeinek, valamint az ér simaizomnak a változó körülményekhez való alkalmazkodása megvalósul.

A tiroxin (T_4) ill. annak aktív metabolitja, a trijód-tironin (T_3), a cardiovascularis rendszer vonatkozásában számottevő hatásokkal rendelkezik. A hyperthyreosis jól ismert szív- és érrendszeri tüneteinek hátterében jelenlegi ismereteink szerint a trijód-tironin magi receptorainak aktiválódása következtében létrejövő biokémiai változások állnak (a miozin nehéz láncok izoformáinak kódolásáért felelős gének regulációja, a miozin Ca^{2+} -ATP-áz kódoló gének upregulációja, a foszfolambán mRNS expressziójának befolyásolása, stb.).

Ismeretes, hogy a tiroxin előkezelés mélyreható változásokat idéz elő a szervezet különböző receptoraiban. Ennek a regulációnak klasszikus példája az a sajátos hatás, amely az adrenerg α - és β -receptorok szintjén játszódik le. A hyperthyreosis az α -adrenerg receptorok denzitását csökkenti, míg a β -adrenerg receptorsűrűséget jelentős módon növelte. Ez a klasszikus nézet az utóbbi években csupán annyit változott, hogy bizonyos altípus szelektivitást mutattak ki a regulációban. A vizsgálatok szerint pl. T_4 kezelt patkányokban az α_{1A} és α_{1B} receptorszám csökkenése mellett az α_{1D} receptorszám fokozódását írták le. Hasonló a helyzet a β -adrenerg receptorok vonatkozásában is. Itt is differenciált szabályozásról van szó, miszerint a T_4 kezelés során a β_1 -receptorok upregulációja következik be, míg a β_2 -receptorok száma nem változik vagy éppen csökken.

Mindemellett kimutatták, hogy a T_4 fokozott jelenléte csökkenti a myocardialis

muszkarin receptorok számát, továbbá fokozza a szerotonin és a tromboxán által kiváltott vascularis kontrakciókat.

PROBLÉMAFELVETÉS ÉS CÉLKITÚZÉSEK

Kevés irodalmi adat áll rendelkezésünkre abban a vonatkozásban, hogy miként befolyásolja a T_4 tartós jelenléte a cardiovascularis Ado receptorokat. Voltak olyan korábbi jelzések, hogy a hypothyreosis erősíti az Ado-nak az izolált zsírsejtek adenilciklázára kifejtett gátló hatását, de a szívizom és az ér simaizom Ado receptorait illetően csak szerény szakirodalmi adatokra támaszkodhatunk. Kísérleteink során négy, egymással összefüggő témát vizsgáltunk izolált, elektromosan ingerelt tengerimalac pitvarizomzaton:

1. Ismert, hogy az intracelluláris Ca^{2+} citoszolikus koncentrációját szabályozó fehérjék közös célpontjai a thyreoid hormonok és az Ado kontrakciós erőre konvergáló hatásainak. Ennek ellenére az adenozinerg mechanizmusokat a hyperthyreosis patogenézisében nem vizsgálták olyan mértékben, mint azt a téma jelentősége megkívánná. Az intracelluláris támadáspontú adenozinerg mechanizmusok kutatása ezen belül is elhanyagolt területnek számít, mivel hatásait általában elfedi a sejtfelszíni Ado receptorok funkciójának markánsabb megnyilvánulása. A korábbi vizsgálatok azonban arra utalnak, hogy kóros körülmények között (pl. hypoxiában) az intracelluláris mechanizmusok fokozott jelentőségre tehetnek szert. Célunk annak eldöntése volt, hogy az extracelluláris Ado receptorok mellett az intracelluláris Ado kötőhelyek részvétele az adenozinerg hatásokban változik-e a tartós T_4 expozíció által teremtett miliőben.

2. Az előbbi felvetéshez kapcsolódva összehasonlítottuk a szöveti Ado mennyiségét és eloszlását eltérően befolyásoló nukleozid transzport (NT) inhibitorok és adenozin dezamináz (ADA) bénítók hatását eu- illetve hyperthyreoid pitvarizomzaton. Az NT inhibitorok megfelelő oxigén-ellátású szívben növelik a sejten kívüli és csökkentik a sejten belüli Ado koncentrációt, ezzel párhuzamosan emelik a teljes Ado mennyiséget a szövetben. Az ADA gátlók viszont tengerimalac szívben elsősorban a citoplazmatikus Ado koncentrációját emelik, mert itt az ADA csak intracellulárisan fordul elő. Az NT és az ADA inhibitorok hatásának összehasonlításával tehát az intracelluláris Ado koncentráció jelentőségét kívántuk vizsgálni az eltérő thyreoid státuszú pitvarokon.

3. A cGMP-stimulált 3',5'- ciklikus nukleotid foszfodiészteráz (PDE₂) EHNA általi gátlása növelte az L-típusú Ca²⁺ áramot emberi szíven, patkány myocardiumon viszont nem. A PDE₂ gátlás hatását tengerimalac pitvari munkaizomsejteken még nem vizsgálták, a PDE₂ gátlás inotropiára gyakorolt befolyását pedig egy speciesen sem határozták meg. Célunk olyan kísérleti elrendezés kidolgozása volt, amelyben a PDE₂ inotrop hatása megítélhető, és eldönthető az is, hogy azt a tartós T₄ kezelés befolyásolja-e.

4. Az Ado metabolizmusának és kompartmentalizációjának érzékeny dinamikája következtében az [Ado]_{ISF}-t igen tág, három nagyságrendet felölelő intervallumban határozzák meg a jelenleg elfogadott mérőmódszerekkel (1. táblázat). Ezzel összhangban a mért [Ado]_{ISF}-változások is nagymértékben módszerfüggők (1. táblázat), ami megnehezíti az [Ado]_{ISF}-t változtató anyagok (pl. NT gátlók) hatásának kvantitatív elemzését. Célunk olyan módszer kidolgozása volt, amely alkalmas A₁ receptor agonisták koncentrációváltozásának megbízható becslésére a receptor mikrokörnyezetében a Langmuir-Hill egyenletben rögzített összefüggés alapján. Ehhez E/A görbe felvételére van szükség a vizsgált szöveten. Az Ado-nal felvehető E/A görbék azonban erősen függenek a vizsgált szövet nukleozid transzportereinek és Ado-t metabolizáló enzimeinek funkcionális állapotától, mivel a görbe felvételéhez beadott Ado tetemes hányada eliminálódik, mire eléri a receptorát. A módszer kidolgozása során tehát szempont volt, hogy a módszer segítségével az A₁ receptor agonisták koncentrációváltozása a szövet hormonális státuszától függetlenül legyen megítélhető, ami által lehetőség nyílik a [Ado]_{ISF} változásainak összehasonlítására (pl. NT gátló hatására) az euthyreoid illetve hyperthyreoid szív között.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

ANYAGOK

A következő vegyületeket használtuk: adenzin (Ado); 2'-dezoizadenozin (DAdo); 9-β-D-arabinofuranozid (ARA-A); N⁶-cyclopentyladenosine (CPA); (R)-N⁶-(1-methyl-2-phenylethyl)adenosine (R-PIA); 2-chloroadenosine (ClAdo); 5'-(N-ethylcarboxamido)adenosine (NECA); acetyl- β-methylcoline chloride (MC); (±)-verapamil (VERA); *erythro*-9-(2-hydroxy-3-nonyl)adenine hydrochloride (EHNA); S-(2-hydroxy-5-nitrobenzyl)-6-thioinosine (NBTI); kantaridin; ciklopiazonsav; dipiridamol (DP); coformycin (CF); L-tiroxin (T₄) (Sigma, St. Louis).

KÍSÉRLETI ÁLLATOK

Kísérleteinket 400-700 g testtömegű tengerimalacokból nyert bal pitvarokon végeztük. Az állatok tartása, előkezelése és feldolgozása összhangban volt a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának Etikai Kódexében megfogalmazottakkal.

TIROXIN KEZELÉS

A T₄ kezelt állatok 330 µg/testtömeg kg L-tiroxint (Na só, ·4H₂O) kaptak naponta egyszer intraperitoneálisan, míg az oldószeres (S) csoport állatai a T₄ oldószerét kapták ugyanolyan módon (*in vivo* kezelés). A kezelés 8 napig tartott, az állatok felhasználása a 9. napon történt. Az állatok thyreoid státuszának megítélése testtömegük és rectalis hőmérsékletük alapján történt.

A T₃ ÉS T₄ MEGHATÁROZÁSA

A thyreoid állapot verifikálása érdekében az állatok felhasználásakor nyert vérből centrifugálással szérummintákat készítettünk, amelyekből T₃ és T₄ meghatározás történt radioimmunoassay (RIA) módszerrel.

A T₃ illetve T₄ szérumkoncentrációja a T₄ kezelésű állatokon 3.1 (±0.4) illetve >280 nM volt, míg az S kezelésű állatokon <0.38 illetve 32.7 (±2.9) nM (szignifikáns különbségek), a T₄ kezelés tehát eredményes volt.

ADENOZIN DEZAMINÁZ AKTIVITÁS MEGHATÁROZÁSA INTAKT PITVARI SZÖVETEKEN

Rogler-Brown és mtsai (1978) intakt vörösvértestekre és Sarcoma 180 sejtekre kidolgozott metodikájának intakt myocardiumra kidolgozott módosításával szöveti ADA aktivitást határoztunk meg a CF gátló hatásának megítélésére.

A kontroll pitvarokat Krebs oldatban, a CF kezelt pitvarokat pedig 8 μ M CF-t tartalmazó Krebs oldatban inkubáltuk 50 percig (*in vitro* körülmények között a CF irreverzibilis ADA inhibitor). Ezután valamennyi pitvar tápoldatát 1 mM Ado-t tartalmazó Krebs oldatra cseréltük. 10 percig tartó expozíció után ezt az oldatot leöntöttük és ammóniatartalmát Kingsley és Tager (1970) módszerével határoztuk meg. A tápoldat 0.5 ml-ét összeráztuk 0.5 ml DOWEX AG 50 W-X4 gyantának ammóniamentes bidesztillált vízzel készített szuszpenziójával, majd 5 perc állás után dekantáltunk és a gyantát 3x10 ml desztillált vízzel mostuk. A vak érték meghatározásához normál Krebs oldatot használtunk, amelyet a próbával azonos kezelésnek vetettünk alá. A mosott gyantához 1.5 ml fenol reagenst (5 g kristályos fenol és 25 ml nitroprusszid nátrium 500 ml desztillált vízben oldva) és 1.5 ml alkalikus hipoklorit oldatot (4 ml 50g/l koncentrációjú nátrium hipoklorit oldat 500 ml 0.125 M NaOH oldatban oldva) adtuk, majd 37 °C-on 30 percig szervfürdőben inkubáltuk. A minták extinkcióját a vakkal történő nullázás után BECKMAN M2400 típusú spektrofotométeren 640 nm-nél olvastuk le. Az ammóniatartalmat standard ammóniumszulfát (141.5 g/100ml desztillált víz) különböző koncentrációjával felvett referens görbe alapján számítottuk ki, majd az izmok nedves súlyának lemérése után meghatároztuk az 1 g szívizom által 1 perc alatt leadott ammónia mennyiségét. Agarwal (1980) alapján egységnyi aktivitásúnak tekintettük az ADA azon mennyiségét, amely 1 μ M Ado-t 1 perc alatt bont ammóniává és inozinná. Esetünkben az aktivitásokat 1 g nedves súlyra vonatkoztattuk. Az ammónia felszabadulás legalább 20 percen keresztül lineárisnak bizonyult Ado jelenlétében.

A fenti mérést elvégeztük Ado-mentes tápoldatba helyezett pitvarokon is. A pitvarok az Ado-mentes pufferbe csak elhanyagolható mennyiségű ammóniát adtak le (0.03 $\pm$ 0.02 E/g), amelyre az Ado jelenlétében meghatározott értékeket korrigáltuk.

A KONTRAKTILITÁSI PARAMÉTEREK MEGHATÁROZÁSA ELEKTROMOSAN INGERELT PITVARKÉSZÍTMÉNYEKEN

A szívizom kontraktilitását a tengerimalacokból nyert bal pitvari preparátumokon végeztük. A tengerimalacokat éter narkózisban tarkócsapással bódítottuk, majd a mellkas feltárása után a szíveket gyorsan eltávolítottuk és 10 mN feszítés mellett 10 cm³ űrtartalmú, vertikális kiképzésű szervfürdő rendszerben (TSZ-04, Experimetria, Budapest) függesztettük fel, amelyet 37 °C-on termosztáltunk. Szervfürdőként normál Krebs oldatot alkalmaztunk, amelynek összetétele a következő volt (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 tápoldatot 95% O₂ és 5% CO₂ elegyével oxigenizáltuk az ekvilibrációs periódus folyamán, ezáltal az oldat pH-ja 7.4-re állt be. A preparátumok egyik végét plexihoroghoz, a másik végét izometriás mechano-elektromos átalakító (SG-01 D, Experimetria, Budapest) érzékelőjéhez rögzítettük.

Az ingerlést pontszerűen kiképzett platina elektródokon keresztül programozható elektrostimulátorral (ST-02, Experimetria, Budapest) végeztük. Az ingerlési alaphfrekvencia 3 Hz volt. Az ingerlést 1 ms impulzus-szélesség mellett másfélszeres küszöbfeszültséggel végeztük. A kontrakciókkal arányos elektromos jelet 6 csatornás poligráfon (BR-61, Medicor, Budapest) rögzítettük. A preparátumokat 40-60 percen keresztül inkubáltuk normál Krebs oldatban, mialatt a kontraktilitási paraméterek stabilizálódtak. A vegyületek alkalmazása ebben az egyensúlyi állapotban történt. A $E/[A]$ görbék felvételét Van Rossum (1963) kumulatív módszere szerint végeztük. A vizsgálat során az izometrikus kontrakciókat regisztráltunk, melyeknek az amplitúdóját használtuk fel, mint kontrakciós erőt.

***IN VIVO* ELEKTROFIZIOLÓGIAI VIZSGÁLAT ALTATOTT ÁLLATON**

A tengerimalacokat 30 mg/kg i.p. pentobarbitál narkózisban elektromosan szigetelt vizsgálópadra rögzítettük, majd az állatok végtagjain subcutan tűelektródákat helyeztünk el. A standard végtagi elvezetéseket háromcsatornás, hőírós EKG készülékkel regisztráltuk.

PROTOKOLLOK

Az első E/[A] görbe

Az ingerlés megkezdésétől számítva 50 percig a pitvarok Krebs pufferben inkubálódtak. Inkubáció során (itt és minden más alkalommal is) a szervkádak oldatát 15-20 percenként cseréltük (mosás). Ezalatt a pitvarokat random módon az adott protokoll (ld.: *In vitro* kezelés és további E/[A] görbék) által megkívánt alcsoportok egyikébe soroltuk.

Ezután (stabil nyugalmi kontrakciós erő esetén) Ado-nal kumulatív E/[A] görbét vettünk fel valamennyi alcsoportban. A hatás beálltát az adott dózis beadása után kialakuló legkisebb kontrakciós erő jelezte (3. ábra).

Az első E/[A] görbe kétféleképpen kerülhetett felhasználásra attól függően, hogy a második E/[A] görbe milyen agonistával lett felvéve. Ha Ado-nal, akkor az első annak kontroll görbéje volt (önkontrollos kísérlet), ha CPA-val, metakolinnal (MC) vagy verapamillal (VERA), akkor csak az adatfeldolgozásba való bevásztási kritériumok teljesülését ítéltük meg a rajta, illetve a preparátumok „edzését” szolgálta. Ilyenkor külön kontroll alcsoport szolgáltatatta a kontroll adatokat az *in vitro* kezelés hatásának megítéléséhez.

In vitro kezelés és további E/[A] görbék

Az első E/[A] görbe felvételét követő mosás után 50 perces inkubációt végeztünk a vizsgált anyag(ok) megadott koncentrációjával (*in vitro* kezelés). Ezután egy második E/[A] görbét vettünk fel, néhány vizsgálatban ezt mosás és újabb *in vitro* kezelés + harmadik E/[A] görbe követte. A kiértékelések során az első és a második E/[A] görbe kiindulási kontrakciós erejét, továbbá a E/[A] görbék adatait használtuk fel.

ADATFELDOLGOZÁS

A kontrakciós erőre vonatkozó adatok feldolgozása

Egy preparátum intakt kontrakciós erejét első E/[A] görbéjének kiindulási kontrakciós erejeként határoztuk meg. Az *in vitro* kezelés hatására kialakult kontrakciós erőt az intakt kontrakciós erő százalékában fejeztük ki a kezeléshez használt szer inotrop hatásának jellemzésére.

A koncentráció-hatás görbék feldolgozása

Egy c agonistakonzentráció hatásának (E) a kiindulási kontrakciós erő (F_0) százalékos csökkenését tekintettük (F_c a kialakuló legkisebb kontrakciós erő c jelenlétében):

$$E = \frac{F_0 - F_c}{F_0} \cdot 100\%$$

A $E/[A]$ görbe pontjaira a Langmuir-Hill egyenletet illesztettük:

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

ahol: c az agonista koncentrációja; E a hatás c -nél; $E_{\max}$ az adott agonistával kiváltható maximális hatás; EC_{50} a félhatásos koncentráció, ennek reciproka a hatékonyság („potency”), negatív 10-es alapú logaritmusa ($-\lg EC_{50}$) pedig a pD_2 ; n_H a Hill koefficiens („slope”).

Az egyes preparátumok válaszkészségét az agonistával szemben $E/[A]$ görbéik $E_{\max}$, EC_{50} és n_H paramétereivel jellemeztük, ezeket a paramétereket használtuk fel később a statisztikai elemzéshez és a „koncentráció-meghatározó” egyenlethez (ld.: Eredmények).

Statisztikai feldolgozás

Normál eloszlást és homogén varianciákat mutató két csoport esetén kétoldali kétmintás Student-féle t tesztet (önkontrollos esetben párosítottat, egyébként párosítatlant) készítettünk, kettőnél több csoportra egyutas varianciaanalízist (ANOVA) végeztünk, melyet Newman-Keuls poszt-teszt követett. 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. Az *in vivo* és az *in vitro* kezelés interakcióját kétutas ANOVA-val vizsgáltuk. A „koncentráció-meghatározó” egyenlet illesztésével kapott koncentrációbecsléseket, ha azok normál eloszlást mutattak, egymintás Student-féle t tesztel hasonlítottuk össze az általunk bemért (ismert) koncentrációkkal, nem normál eloszlás esetén pedig Wilcoxon tesztel. A véletlen oki szerepét $p < 0.05$ esetén vetettük el.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A disszertációmban ismertetett kísérleteim főbb megállapításai a következők:

A./ Az extracelluláris és intracelluláris adenzin kötőhelyek aktiválhatóságának változása T₄ kezelt tengerimalacok pitvarán

Extracelluláris adenzin receptor agonisták

1. A 8 napos T₄ kezelés során a kísérleti állatok thyreotoxicus állapota a következő változásokkal volt jellemezhető: testtömegcsökkenés, rektális hőmérséklet-emelkedés, a szívfrekvencia fokozódása, a szérum T₄ és T₃ koncentráció nagyfokú növekedése, a bal pitvar/testtömeg arány fokozódása.
2. Az S és a T₄ kezelt tengerimalacokból származó, elektromosan ingerelt (3 Hz, 1 ms, kétszeres küszöb feszültség) pitvarkészítményeken az Ado (0,01 μ M - 1mM) koncentráció-függő módon, de differenciáltan csökkentette az izometriás kontrakciós erőt. Míg a kontroll Ado E/[A] görbék pD₂ értéke $4,94 \pm 0,09$ (n = 26) volt, addig a T₄ kezelés után ez az érték $4,08 \pm 0,08$ -ra csökkent (p < 0,01), jelezve az agonista hatásereőségének mintegy 8-szoros csökkenését. T₄ hatására a maximális hatás (E_{max}) is jelentős mértékben csökkent.
3. Hasonló jelenséget figyeltünk meg az A₁ receptorok specifikus agonistáival, a CPA-val és az R-PIA-val is, amikor erőteljes hatásereögylés volt tapasztalható T₄ kezelés után. A CPA-ra és az R-PIA-ra vonatkozó kontroll pD₂ értékek $7,74 \pm 0,09$ illetve $7,14 \pm 0,08$, míg a T₄ kezelt pitvarokon mért értékek $6,75 \pm 0,11$ illetve $6,25 \pm 0,19$ voltak. A hatékonyság csökkenése tehát mintegy 10 illetve 8-szoros volt (p < 0,01). A pD₂ értékek csökkenését jelentős mértékű E_{max} depresszió is kísérte.
4. A kevésbé specifikus A₁ receptor agonista ClAdo (kisfokú A₂ receptor agonista hatás) esetében a kontroll pD₂ $7,17 \pm 0,16$ volt, míg 8 napos T₄ kezelés után ez $6,29 \pm 0,16$ -ra módosult (p < 0,01). A hatásereőség csökkenése 8-szoros. Az E_{max} szintén csökkent.
5. Az A₁ és az A₂ receptorokat közel hasonló mértékben aktiváló NECA esetén aT₄ hatására az előbbiekhöz képest kisebb eltolódás alakult ki az E/[A] görbékben. Az S kezelt pitvarokon a NECA-ra vonatkozó pD₂ érték $7,72 \pm 0,07$, míg a T₄ kezeltkre számított pD₂ érték $7,26 \pm 0,18$ volt. A hatékonyság csökkenése csupán 3-szoros (p < 0,05). Az E_{max} redukciója viszont itt is kifejezett.

Intracelluláris P-site agonisták

1. A kísérletek során intracelluláris P-site agonistaként a Dado-t és az ARA-A-t alkalmaztuk, amely vegyületek esetében megállapítható volt, hogy a P-site hatás kritériumainak kísérleti rendszerünkben megfelelnek: (a) hatásukat a metilxantin (8-PT) jelenléte nem befolyásolta, (b) inotrop effektusuk az adenilcikláz forskolinnal történt aktivációja után fokozódott, (c) a membránális purin transzport rendszer specifikus blokádjá (NBTI) a vegyületek hatását jelentősen csökkentette.
2. A DAdo és az ARA-A pitvarizomzaton kiscokú, de koncentráció-függő negatív inotrop hatást fejtett ki, amely hatások in vivo T₄ előkezelés után csökkentek. A DAdo hatását jellemző -logEC₂₅ euthyreoid pitvarokon 3.05 ± 0.12 volt, míg hyperthyreoid pitvarokon 2.60 ± 0.09-re csökkent. Ehhez hasonlóan az ARA-A hatása is mintegy harmadrésziére gyengült a T₄ kezelés következtében.
3. Az Ado (extracelluláris Ado receptor és P-site agonista) hatását az S kezelt pitvarokon a CF csak kismértékben potenciálta: a számított pD₂ értékek alapján az Ado hatékonysága mintegy kétszeresére nőtt. A T₄ kezelt pitvarokon viszont CF jelenlétében az Ado hatékonysága nagymértékben fokozódott, a szenzitizálódás mintegy 10-szeres.
4. Az extracelluláris AR receptor hatások kizárása céljából kísérleteket végeztünk 10 µM 8-PT jelenlétében. Ilyen körülmények között kontroll pitvarokon a CF már mintegy 7-szeresére fokozta a hatékonyságot (szemben a 8-PT jelenléte nélküli 2-szeres hatásfokozódással). A T₄ kezelés után a hatékonyság 16-szorosára nőtt (szemben a 8-PT jelenléte nélkül mért 10-szeres hatásfokozódással).
5. Elektromosan ingerelt, oldószerekkel kezelt pitvarkészítményeken a DAdo mérsékelt kontraktilitás csökkentő hatást produkált, míg az ADA CF-el történő bénítása után a hatás mintegy 24-szeresére fokozódott. A T₄ kezelt pitvarokon a DAdo a 8 µM CF-el történt inkubáció meglepően intenzív, 765-szeres (!) hatásfokozódást eredményezett.
6. Tendenciáját tekintve hasonló eredményeket értünk el ARA-A-val, a másik P-site agonistával is. Itt kontroll preparátumokon 3-szoros, míg a T₄ kezelt pitvarokon 12-szeres hatásfokozódást tapasztaltunk a számított EC₂₅ értékek alapján.

7. A két P-site agonista hatásának befolyásolhatósága szempontjából a potenciálás jellege azonos volt akkor is, ha a CF helyett egy másik, nem-specifikus ADA gátló szert, az EHNA-t (10 μ M) használtuk.

Következtetések

A disszertációban részletezett kísérletek során megállapítottuk, hogy a T₄ kezelés a pD₂ és E_{max} értékekkel jellemezhető Ado receptor válaszokat jelentősen csökkenti. Hasonló jelenséget figyeltünk meg a NT rendszer és az ADA szubsztrátjait nem képező szintetikus Ado analógok esetében is (CPA, ClAdo, R-PIA, NECA), amelyek extracelluláris Ado receptor támadásponttal rendelkeznek. Mivel a kísérleteinkben alkalmazott tengerimalac pitvarizomzat A₁ receptor hordozó szövet, a szintetikus Ado analógokkal kapott eredmények alapján feltételezhető, hogy a hatások – legalábbis részben - ezen receptorok szintjén manifesztálódnak.

Az Ado pitvarizomzaton nemcsak extracelluláris A₁ receptorokon fejti ki kardiodepresszív hatását, hanem aktiválja az intracelluláris, az adenilcikláz belső felszínére lokalizálódó ún. P-kötőhelyeket is, ezért megkülönböztetett figyelemmel vizsgáltuk, hogy ezen kötőhelyek esetleges modulációja vajon szerepet játszik-e a T₄-nek az Ado-ra adott választ befolyásoló hatásában. Ismeretes, hogy a CF az intracelluláris ADA specifikus gátlószere, ezért ezt a vegyületet, ill. a nem-specifikus ADA gátló EHNA-t alkalmaztuk kísérleteinkben az intracelluláris Ado enzimatis bomlásának megakadályozására. Irodalmi adatok alapján bizonyított, hogy a tengerimalac pitvar nem tartalmaz extracelluláris ADA-t, így az ADA specifikus gátlószerezrel történő bénítása primer módon az intracelluláris Ado koncentrációját kell, hogy növelje. Kimutattuk, hogy a kontroll pitvarokhoz képest a T₄ kezelt állatokból származó pitvaroknál ADA gátlás után az Ado hatás erőteljes potenciálódása következik be. Ez a jelenség felveti, hogy a T₄ kezelés fokozhatja a szívizomrostokban az ADA aktivitását, amelynek következtében az Ado hatásának intracelluláris komponense jelentősen lecsökken, de egyidejűleg a P-site-ok számának növekedése vagy érzékenysége fokozódása következik be. Ez a jelenség feltehetően csak az ADA aktivitás teljes gátlása után manifesztálódik. A jelenség specifikusabb megközelítése érdekében a két szelektív P-site agonistával, a DAdo-val és az ARA-A-val végeztünk kísérleteket (amelyek extracelluláris hatásokat nem fejtenek ki). Azt tapasztaltuk, hogy a vegyületek negatív inotrop hatása T₄ kezelés után jelentősen csökken, sőt a DAdo esetében a klasszikus farmakológiában "Umkehr"-effektusként ismert jelenséghez hasonlóan inverz kontraktilitásfokozódás fejlődik

ki. Coformycin hatására a szelektív P-kötőhely aktivátorokra adott fiziológias válasz jelentősen fokozódik, de ez a potenciálás drámai méreteket ölt T_4 kezelt pitvarokon. Mindezek alapján feltételezhető, hogy az általunk felvetett mindkét lehetőség fennállhat, tehát a fokozott ADA aktivitás mellett P-site upregulációval is számolhatunk.

Figyelemreméltónak tartjuk azt a megfigyelésünket, hogy az extracelluláris receptorhatások és az intracelluláris P-site effektusok között érdekes összefüggés áll fenn. Ez abban áll, hogy ha az Ado hatását ADA gátló CF jelenlétében vizsgáltuk, akkor S kezelt pitvarokon 2-szeres hatásfokozódást kaptunk. Az extracelluláris hatások 8-PT-vel történő gátlása után ez 8-szorosára fokozódott. Feltételezhető, hogy az extracelluláris Ado receptorok és az intracelluláris P-site között negatív kooperáció áll fenn.

Jelen kísérleteink alapján még nem dönthetők el, hogy mi lehet a szerepe hyperthyreosisban az intracelluláris P-site viselkedésének. Kiemelendő viszont, hogy T_4 kezelés után befolyásolatlan ADA aktivitás mellett a P-site agonista hatások redukálódnak, de az ADA gátlása után jelentősen fokozódnak. Mivel korábban kimutattuk, hogy bizonyos patológiás körülmények között (pl. hypoxia) az intracelluláris ADA aktivitás csökken, feltételezzük, hogy ennek a jelenségnek komoly jelentősége lehet.

B./ A nukleozid transzport és az adenosin dezamináz gátlása által kiváltott változások elemzése hyperthyreoid pitvaron

1. A NT blokkoló DP (3 μM) és NBTI (1 μM), továbbá az ADA gátló EHNA (10 μM) és CF (8 μM) egyaránt potenciózták az Ado hatását mind az S, mind a T_4 kezelt pitvarokon. Az NT gátlók jelentős pD_2 csökkenést produkáltak (amit a $E/[A]$ görbe nagyfokú balra tolódása jelez), az $E_{\max}$ -ot viszont alig befolyásolták. Ezzel szemben az ADA inhibitorok, ha kisebb mértékben is, de szignifikánsan csökkentették a pD_2 -t, ugyanakkor jelentősen növelték az $E_{\max}$ -ot.
2. A NT blokkolók esetében az első (*in vitro* kezelés előtti) és a második (*in vitro* kezelés utáni) Ado $E/[A]$ görbe EC_{50} értékeinek hányadosa („potency” arány) nem különbözött szignifikánsan az eu- és a hyperthyreoid pitvarok között. Ezzel szemben, ADA gátló kezelés esetében a hyperthyreoid pitvarok „potency” aránya szignifikánsan nagyobb volt, mint az euthyreoidoké.
3. A foszfataáz (PP1 és PP2A típus) gátló kantaridin (0.5 μM) a szignifikancia-szintet el nem érő kisfokú csökkenést hozott létre az Ado hatásában. ADA gátló EHNA

jelenlétében ez a csökkenés statisztikailag szignifikánssá vált. A kantaridin EHNA jelenlétében lényegesen nagyobb mértékben gátolta az Ado hatását a T₄ kezelt preparátumokon, mint az S kezeltéken.

4. A SERCA gátló ciklopiazonsav (20 µM) az EHNA jelenléte ellenére sem befolyásolta az Ado E/[A] görbe lefutását.

Következtetések

Vizsgálatainkban a NT és az ADA gátlásának az Ado negatív inotropiájára kifejtett hatását hasonlítottuk össze S és T₄ kezelt tengerimalac pitvarokon. Az alkalmazott két NT blokkoló, a kevésbé szelektív DP és az ENT1 transzporterekre szelektív NBTI egyaránt hatékonyan csökkentette az Ado E/[A] görbe pD₂ értékét, az E_{max}-ot azonban nem befolyásolták szignifikánsan. Az ADA két gátlója, a kevésbé szelektív (PDE₂ inhibitor mellékhatással bíró) EHNA és az igen szelektív CF kisebb balratolódást okoztak az Ado E/[A] görbéjében, mint a NT blokkerek.

A különbség létrehozásában fontos szerepe lehet annak, hogy míg az NT blokkolók az [Ado]_{ISF}-t növelik és ugyanazon mechanizmus révén az intracelluláris Ado koncentrációt csökkentik, addig az ADA gátlói közvetlenül az intracelluláris Ado szintjét növelik, és csak ezáltal emelik az [Ado]_{ISF}-t. Mindez arra utal, hogy elsődlegesen a citoszól Ado koncentrációjának emelkedése (az Ado-bontás gátlása révén) illetve csak az [Ado]_{ISF} növekedése (NT gátlás által) részben eltérő mechanizmussal fejt ki hatását az adenozinerg mechanizmusokra. Ezt a feltételezést támogatja, hogy a többlet T₄ által megváltoztatott környezet az ADA gátlók hatását módosította nagyobb mértékben. Ezt támasztja alá az is, hogy aktív ADA mellett a foszfataz gátló kantaridin alig gátolta az Ado negatív inotrop hatását (noha az részben foszfatazok által mediálódik), míg funkcionálisan eliminált ADA esetében ez a gátlás látványossá vált, különösen hyperthyreoid állapotban. Mivel a SERCA gátlója, a ciklopiazonsav nem befolyásolta az Ado-ra adott inotrop választ, a SERCA-PLB rendszernek, mint molekuláris effektornak, feltehetően nincs jelentős szerepe tengerimalac bal pitvaron az adenozinerg válaszban, továbbá az ADA gátlók okozta, jelen vizsgálatban megfigyelt változásokban sem.

Mindezen eredményeink jó korrelációba hozhatók a thyreoid status változása során nyert biokémiai vonatkozású irodalmi adatokkal. Ezek együttesen jól megvilágítják az Ado jelátviteli rendszerének összetett jellegét.

C./ A PDE₂ gátlás módosító hatása hyperthyreoid pitvaron

1. Az EHNA (egyszerre gátlója az ADA-nak és a cGMP stimulálta foszfodiészteráznak (PDE₂)) PDE₂ bénító hatása tisztábban vizsgálható, ha ADA rezisztens CPA E/[A] görbéjére gyakorolt befolyásával jellemezzük.
2. A T₄ kezelés nem változtatja meg a tengerimalac pitvar kontrakciós erejét.
3. Az EHNA erőteljesebben potenciózta a CPA negatív inotrop hatását T₄ kezelt pitvarokon, mint S kezeltéken.

Következtetések:

A PDE₂ gátlás pozitív inotrop hatása nehezen ítélni meg euthyreoid állapotban, mivel az EHNA, a leggyakrabban alkalmazott szelektív PDE₂ inhibitor (a PDE gátlók között), egyben erős ADA gátló is, a megemelkedett szöveti Ado-szint cAMP csökkentő hatása pedig elfedi a PDE₂ gátlás cAMP növelő működését. A T₄ kezelés fokozta a PDE₂ gátlás pozitív inotrop hatását, amely szinergiát feltehetően a thyreoid hormonok és az EHNA L-típusú Ca²⁺ csatornákra konvergáló stimuláló jelátviteli útjai hozták létre. Az EHNA hatásában azonban nem hagyhatjuk figyelmen kívül az ADA bénítását, ami hozzájárulhat a hyperthyreoid pitvarokon a CPA-ra adott válasz potenciózásához az előző vizsgálatsorozatban felvetett mechanizmus révén, mely szerint az ADA gátlása hyperthyreoid pitvarszövetben jobban fokozza az adozinerg jelátvitel hatékonyságát, mint S kezeltben.

D./ Az A₁ receptor agonisták koncentrációbecslésének új lehetősége

1. Matematikai levezetéssel egzakt formában kifejeztük azt a kísérletes tapasztalati tényt, hogy egy előzetesen bemért agonista egy ugyanazon jelátvitelű agonistával felvett E/[A] görbét koncentrációfüggően torzít. Vagyis, a E/[A] görbe torzulása alapján (az intakt E/[A] kapcsolat ismeretében) az előzetesen bemért agonista koncentrációja elvben meghatározható. Erre egy speciális egyenlet illesztését dolgoztuk ki, mint módszert (receptorális válaszkészség módszer - receptorial responsiveness method - RRM).
2. A koncentráció-meghatározás nem igényli a már korábban jelenlévő és a E/[A] görbe felvételéhez használt agonisták egyezését, lehetőséget adva bomlékony agonisták

koncentrációjának jellemzésére nem bomlékony és jól penetráló agonistákkal felvett $E/[A]$ görbe segítségével.

Következtetések:

A receptoriális válaszkészség módszer (RRM) koncentráció-változás becslésére szolgáló eljárás valamely receptoriális hatás és az intakt állapotot leíró $E_{\max}$, EC_{50} , n_H paraméterek alapján. Lehetővé teszi a receptorközei koncentráció jellemzését azokban az esetekben, amikor a hatóanyag bomlékonysága miatt a Langmuir-Hill egyenlet erre a célra nem alkalmas. Vagyis, bomlékony és erősen kompartmentalizálódó anyagok (pl. Ado) más módon gyakorlatilag mérhetetlen receptorközei koncentrációváltozását stabil, jól diffundáló és azonos illetve nagyon hasonló jelátvitelű szerek (pl. CPA) koncentrációival jellemezhetjük. Az RRM segítségével kimutattuk, hogy a T_4 kezelés fokozta a NT gátlás $[Ado]_{ISF}$ növelő hatását izolált tengerimalac bal pitvaron.

ÁLTALÁNOS KÖVETKEZTETÉSEK

Egy kutatómunka részleges befejezése egy olyan összegzéssel kell, hogy záruljon, amely részben meghatározza a kísérletek során nyert adatok beilleszthetőségét egy adott biológiai rendszerbe, továbbá megpróbál olyan távlati célokat is felvázolni, amelynek révén a kísérleti eredmények során felvetett problémák tökéletesebb megoldást nyerhetnek.

A jelen disszertációban vázolt eredmények alapján megfogalmazható, hogy a thyreoid státusz és az adenosin receptorhatás között figyelemreméltó összefüggések vannak. A T₄ kezelés tengerimalac pitvarizomzaton egyértelműen csökkenti az A₁ receptorválaszokat, valamint speciális körülmények között tettenérhetően (ADA gátlás) fokozza az intracelluláris P-site mechanizmusokat.

Közismert, hogy a hyperthyreosis többek között fokozza az adrenerg β -receptor denzitást, valamint ezen receptorok érzékenységét, ennek összes klinikai konzekvenciájával együtt. Ismeretes ugyanakkor az is, hogy az Ado, valamint az extracelluláris Ado receptorokon ható adenosin analógok és P-site aktivátorok csökkentik az AC aktiválásával ható endogén anyagok (noradrenalin, hisztamin, dopamin, stb.) myocardialis hatásait. Ha ezen adatokat összevetjük saját kísérleti eredményeinkkel, akkor jogosnak látszik az a feltételezés, hogy a T₄ tartós jelenléte egy olyan regulációs folyamatot indít el a myocardialis rostokon, amelynek eredményeként módosulnak a catecholamin hatások.

(1) Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a fölös T₄ hatására felgyorsult anyagcserefolyamatok a szöveti Ado koncentráció emelkedésével járnak (jelenlegi RRM vizsgálataink is erre utalnak). Ez az Ado koncentráció növekedés feltehetően mérsékli a catecholaminok β -adrenerg hatásait. (2) A T₄ jelenléte adataink szerint csökkenti az Ado-ra adott választ, tehát joggal feltételezhető, hogy ez a catecholaminok β -adrenerg hatását erősíti, hiszen kiesik – vagy legalábbis mérséklődik – az endogén Ado gátló hatása. Ilyen módon a T₄ egyrészt végrehajtja a már ismert β -adrenerg receptor upregulációt, másrészt a β -receptor szenzitizációt. Kísérleteink alapján feltételezzük, hogy ebben az érzékenységfokozódásban a csökkent Ado válaszkészségnek szerepe lehet. (3) Irodalmi adatok szerint a P-site agonisták is rendelkeznek catecholamin hatást gátló effektussal, tehát elképzelésünk szerint az általunk feltételezett P-site upreguláció abban az esetben fogja csökkenteni a catecholamin hatást, amikor a hyperthyreosis miatt bekövetkező fokozott szív működés inkongruenciát teremt a szív oxigénellátása és oxigénfogyasztása között. Mivel munkacsoportunk korábbi eredményei szerint a hypoxia jelentősen csökkenti az ADA aktivitását, ez azt eredményezheti, hogy a hypoxiás körülmények között felszaporodó Ado az intracelluláris kötőhelyek aktiválásával

(azaz az AC gátlásával) csökkenti a túlméretezett β -adrenerg stimulációt.

Amennyiben ez a feltételezésünk igaznak bizonyulna, akkor ez az adenzinerg mechanizmus megfelelő alapot adna a T₄ szívhatásainak, különösen a β -adrenerg receptorokon mediálódó cardialis hatások értelmezéséhez.

Ennek az elképzelésünknek a további vizsgálata határozza meg jövőbeli kutatási céljainkat, hogy ezáltal ennek az érdekes és mindmáig kellőképpen nem tisztázott problémának a megoldásához – a megfelelő modern biokémiai és molekuláris biológiai technikák igénybevételel – közelebb kerüljünk.

A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TELJES KÖZLEMÉNYEK

Gesztelyi R, Zsuga J, Bajza Á, Cseppentő Á, Szabó JZ, Szentmiklósi AJ (2003)
Special sensitization pattern in adenosine-induced myocardial responses after thyroxine treatment. *J Pharmacol Sci* 91 (4): 295-304 (IF: 1.419)

Gesztelyi R, Zsuga J, Hajdú P, Szabó JZs, Cseppentő Á, Szentmiklósi AJ (2003)
Positive inotropic effect of the inhibition of cyclic GMP-stimulated 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE₂) on guinea pig left atria in eu- and hyperthyroidism. *Gen Physiol Biophys* 22: 501-513 (IF: 0.794)

Gesztelyi R, Zsuga J, Juhász B, Dér P, Vecsernyés M, Szentmiklósi AJ (2004)
Concentration estimation via curve fitting: quantification of negative inotropic agents by using a simple mathematical method in guinea pig atria. *Bull Math Biol* 66 (5): 1439-1453 (IF: 1.485)

A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ IDÉZHETŐ ABSZTRAKTOK

Cseppentő Á, Ujfalusi A, Zsuga J, **Gesztelyi R**, Kovács P, Szabó JZ, Szentmiklósi AJ (1999) The effect of chronic thyroxine treatment on cardiovascular adenosine receptors. *Fundam Clin Pharm* 13(Suppl 1): PT54 (IF: 0.81)

Gesztelyi R, Zsuga J, Bajza Á, Cseppentő Á, Szabó JZ, Szentmiklósi AJ (2002)
Modified responsiveness of atrial myocardium to inhibitors of membrane purine transport and adenosine deaminase after chronic thyroxine treatment. *Acta Physiol Hung* 89(1-3): 171

EGYÉB TELJES KÖZLEMÉNYEK:

Gesztelyi R, Fekete I, Kellermann M, Csiba L, Bereczki D (1999) Screening for depression among post-stroke outpatients in Eastern Hungary. *J Geriatr Psych Neur* 12: 194-199 (IF: 0.881)

Kellermann M, Fekete I, **Gesztelyi R**, Kollár J, Sikula J, Csiba L, Bereczki D (1999) Screening for depressive symptoms in the acute phase of stroke. *Gen Hosp Psychiat* 21: 116-121 (**IF: 1.4**)

Körtvély Á, Szigeti G, **Gesztelyi R**, Zsuga J, Bányász T, Magyar J, Szigligeti P, Kovács L, Jednákovits A, Szentmiklósi AJ, Nánási PP (2000) Cardiovascular effects of BRX-005: comparison to bimoelomol. *Life Sci* 67: 1783-1789 (**IF: 1.808**)

Kellermann M, **Gesztelyi R**, Kovács A, Bereczki D (2001) Post-stroke depresszió – irodalmi áttekintés. *Psychiat Hung* 16 (4): 407-417

Zsuga J, Pórszász R, **Gesztelyi R**, Németh J, Szolcsányi J, Szilvássy Z, Paragh G, Kovács P (2003) A hepatikus inzulin szenzitivizáció mechanizmus szenzoros nitrerg jellege éber nyulakon. *Metabolizmus* I. évfolyam 1. szám 57-59

Rubovszky B, Szentmiklósi AJ, Márián T, Cseppentő Á, **Gesztelyi R**, Székely A, Fórizs F, Gáspár R, Krasznai Z (2003) Comparative pharmacological studies on the A2 adenosine receptor agonist 5'-n-ethyl-carboxamidoadenosine (NECA) and its F¹⁹ isotope labelled derivative (FNECA). *J Pharmacol Sci* 93 (3): 356-363 (**IF: 1.419**)

Zsuga J, **Gesztelyi R**, Török J, Kéki S, Bereczki D (2005) Asymmetric dimethylarginine: A molecule responsible for the coexistence of insulin resistance and atherosclerosis via dual nitric oxide synthase inhibition. *Med Hypotheses* 65 (6): 1091-1098 (**IF: 0.607**)

Zsuga J, **Gesztelyi R**, Bereczki D (közlés alatt) Aszimmetrikus dimetilarginin: egy új rizikófaktor az ateroszklerózis és inzulinrezisztencia kialakulásában. *Metabolizmus*

EGYÉB IDÉZHETŐ ABSZTRAKTOK

Bereczki D, **Gesztelyi R**, Kellermann M, Fekete I, Csiba L (1996) A post stroke depressziós zavarok előfordulása: prospektív epidemiológiai vizsgálat. *Agyérbetegségek* 1996(3): 13

Bereczki D, **Gesztelyi R**, Kellermann M, Fekete I, Csiba L (1996) Post stroke depressive disorders in the acute and chronic phases of stroke: a prospective study. *Eur J Neurol* 3(Suppl 5): 51

Szerafin T, Leny A, Szentgyörgyi L, **Gesztelyi R**, Szentmiklósi AJ, Péterffy Á (2003) Effect of hydrostatic and pulsatory distension on free flow, vasoreactivity and endothelium of the radial artery grafts (Abstract). *Coronary Artery Dis* (IF: 1.303)

KONGRESSZUSI ANYAGOK

Kellermann M, **Gesztelyi R** (1996) Depresszív hangulatzavar a stroke akut szakaszában: prospektív vizsgálat cerebrovascularis osztályon. A Debreceni Orvostudományi Egyetem Tudományos Diáktalálkozója Ph.D. TDK

Gesztelyi R, Kellermann M (1996) A post-stroke depresszió rehabilitációs szakában: prospektív vizsgálat cerebrovascularis szakrendelésen. A Debreceni Orvostudományi Egyetem Tudományos Diáktalálkozója Ph.D. TDK

Gesztelyi R, Bereczki D, Fekete I, Kellermann M, Csiba L (1996) A post-stroke depresszió a stroke rehabilitációs szakaszában: prospektív vizsgálat cerebrovascularis szakrendelésen. Fiatal Neurológusok Fóruma, Miskolc

Kellermann M, Bereczki D, Fekete I, **Gesztelyi R**, Csiba L (1996) Post-stroke depresszív zavar: prospektív epidemiológiai vizsgálat a stroke akut szakaszában cerebrovascularis osztályon. Fiatal Neurológusok Fóruma, Miskolc

Kellermann M, Bereczki D, **Gesztelyi R**, Fekete I (1998) A post stroke depresszió előfordulása: prospektív epidemiológiai vizsgálat. A Magyar Pszichiátriai Társaság IV. Nemzeti Kongresszusa

Gesztelyi R, Zsuga J (2000) Thyroxin kezelés hatása a myocardiális A₁-, valamint a vascularis A₁- és A_{2B} típusú adenoszin receptorokon mediálódó válaszokra. DEOEC ÁOK Ph.D. és TDK Tudományos Diáktalálkozója

Gesztelyi R (2001) A kardiovaszkuláris adenosin receptorválaszok időfüggő módosulása thyroxin kezelés és azt követő „wash-out” periódus során. DEOEC ÁOK Ph.D. és TDK Tudományos Diáktalálkozója

Gesztelyi R, Zsuga J, Bajza Á, Cseppentő Á, Varga A, Szabó JZ, Szentmiklósi AJ (2001) Extra- és intracelluláris adenosin receptorválaszok időfüggő módosulása tiroxin kezelés során tengerimalac bal pitvari myocardiumon. MÉT LXVI. Vándorgyűlése, Szeged

Gesztelyi R, Zsuga J, Cseppentő Á, Bajza Á, Szabó JZ, Szentmiklósi AJ (2003) Foszfoprotein foszfatáz gátlók hatása az adenosin kardiodepresszív hatására kísérletes hipertireózisban. MÉT LXVII. Vándorgyűlése, Pécs

Gesztelyi R, Zsuga J, Cseppentő Á, Vecsernyés M, Szentmiklósi AJ (2004) Az A₁ típusú adenosin receptor-válasz változásának felhasználása adenosin analógok interstitiális koncentrációjának meghatározására. MÉT LXVIII. Vándorgyűlése, Debrecen

Gesztelyi R, Karsai D, Zsuga J, Szentmiklósi AJ, Tósaki Á (2004) A nukleozid transzport gátlásának hatása az intersticiális adenosin szintjére eu- és hipertiroid tengerimalac bal pitvaron. Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság VI. Kongresszusa, 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

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