

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

***Az ex vivo* bal és jobb pitvar,
mint a receptorműködés általános vizsgálatára
különösen alkalmas kísérleti rendszerek**

Dr. Óvári Ignác

TÉMAVEZETŐ: Dr. Gesztelyi Rudolf



DEBRECENI EGYETEM
TÁPLÁLKOZÁS- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA
DEBRECEN, 2024.

**Az *ex vivo* bal és jobb pitvar, mint a receptorműködés általános vizsgálatára
különösen alkalmas kísérleti rendszerek**

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az egészségtudományok tudományágban

Írta: Dr. Óvári Ignác okleveles gyógyszerész

Készült a Debreceni Egyetem Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola
(Táplálkozástudomány programja) keretében

Témavezető: Prof. Dr. Gesztelyi Rudolf, PhD

Az értekezés bírálói:

Dr. Pósa Anikó, PhD
Dr. Lekli István, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Dr. Vecsernyés Miklós, PhD
tagok: Dr. Pósa Anikó, PhD
Dr. Lekli István, PhD
Dr. Fenyvesi Ferenc, PhD
Dr. Almássy János, PhD

Az értekezés védésének időpontja:
Debreceni Egyetem ÁOK Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2024. november 5., 11 óra

It is a capital mistake to theorize before one has data. Insensibly one begins to twist facts to suit theories, instead of theories to suit facts.

Sir Arthur Conan Doyle

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés és célkitűzések	1
1.1. Epidemiológiai háttérinformációk.....	1
1.2. Az adenzin és az adenzinerg transzmisszió.....	1
1.3. A pitvari myocardium, mint kísérleti rendszer.....	3
1.4. A Hill egyenlet és a receptorális válaszkésztség módszer (RRM).....	4
1.5. Célkitűzéseim	5
2. Anyagok és módszerek.....	6
2.1. <i>Ex vivo</i> módszerek.....	6
2.1.1. <i>Vegyszerek és oldatok</i>	6
2.1.2. <i>Állatok és preparátumok</i>	6
2.1.3. <i>Protokollok és csoportok</i>	7
2.1.4. <i>Az E/c görbék kiértékelése</i>	8
2.2. <i>In silico</i> módszerek.....	8
2.2.1. <i>Elemzett adatok</i>	8
2.2.2. <i>Regressziós modellek</i>	8
2.3. Adatelemzés	10
3. Eredmények	12
3.1. <i>Ex vivo</i> eredmények	12
3.1.1. <i>Inotrop hatások</i>	12
3.1.2. <i>Chronotrop hatások</i>	12
3.2. <i>In silico</i> eredmények	13
3.2.1. <i>Bonyolultabb vs. egyszerűbb RRM modellek</i>	13
3.2.2. <i>Log_{c_x}</i> vs. <i>c_x az RRM modellben</i>	13
3.2.3. <i>Individuális vs. egymodelles globális vs. kétmodelles globális illesztés</i>	13
3.2.4. <i>Mindet-egyszerre típusú vs. páronkénti illesztés (E/c görbecsalád esetében)</i> .	13
3.2.5. <i>Hagyományos (ordinary least-squares) vs. robusztus illesztés</i>	14
4. Megbeszélés.....	15
4.1. <i>Ex vivo</i> következtetések	15
4.2. <i>In silico</i> következtetések	16
5. Az új eredmények összefoglalása	19
6. Köszönetnyilvánítás	20
7. A PhD munka alapjául szolgáló közlemények.....	21

1. Bevezetés és célkitűzések

1.1. Epidemiológiai háttérinformációk

A jó életminőség szempontjából elengedhetetlen a szív- és érrendszer megfelelő működése. Ennek hiányában megnövekszik az esélye a magasvérnyomás kialakulásának, annak minden következményével (pl. stroke és szívinfarktus). A legalacsonyabb jövedelmű országokban jelenleg is a fertőző betegségek felelősek a legtöbb halálesetért, ezzel szemben a közepes és magas jövedelemmel bíró országokban a kardiovaszkuláris betegségek jelentik a leggyakoribb halálokat. Magyarországon is a szív- és érrendszeri betegségek csoportja, azon belül is az ischaemiás szívbetegség képviseli a legnagyobb problémát.

Az érintett betegek életkilátásai és életminősége egészség tudatosabb életvitellel javíthatók, tehát a magas életszínvonal nem feltétlenül jelent magas kardiovaszkuláris kockázatot. További kezelési módként (különösen a betegség súlyosabb formáinál) lehetőség van gyógyszeres kezelésre is. Ebből a szempontból különösen fontos olyan új vegyületek szintézise, melyek a szív- és érrendszer megbetegedéseit célozzák, illetve hasznos lehet a már forgalomban lévő farmakonok esetleges cardiovascularis hatásainak feltárása is. A szív- és érrendszeri betegségek szempontjából kiemelt jelentőségű molekula az adenozin, amely képes belső védő mechanizmusokat aktiválni. Gyakran kiindulási vegyületként használják új farmakonok fejlesztésénél, melyek alkalmasak lehetnek bizonyos kardiovaszkuláris betegségek kezelésére.

1.2. Az adenozin és az adenozinerg transzmisszió

Az adenozin adeninből és ribózból felépülő purin nukleozid. Mivel az ATP (adenozin-5'-trifoszfát) metabolitja is, megkerülhetetlen résztvevője a szervezet energiaforgalmának. Az ATP nélkülözhetetlen a nagy energiaigényű folyamatokhoz, mint például a sejtek mozgása, az aktív transzportok többsége vagy az ingerlékeny sejtek membránpotenciálja. Az adenozin tehát fontos jelzője a szervezet energetikai állapotának, a szöveti adenozin koncentráció növekedése ugyanis a sejtek kimerülésére utal. Fiziológias körülmények között is folytonosan képződik, de csak kis

menyiségben. Mindezek magyarázzák, hogy az adenzin egy saját receptoresalád endogén agonistája.

Az adenzin receptoresalád a purinerg receptorok egyik csoportja, melyen belül négy (al)típust különböztetünk meg: A_1 , A_{2A} , A_{2B} és A_3 . Az adenzin receptorok mindegyike G fehérje kapcsolt és hét transzmembrán doménal rendelkezik.

Az adenzin A_1 típusú receptorán (A_1 receptor) keresztül számos protektív hatást mediál, melyeknek a szíven részét képezik a negatív trop (inotrop, chronotrop, dromotrop és bathmotrop) hatások. A klinikumban az adenzin elsősorban antiarrhythmias szerként szerepel, de gyors eliminációja miatt (biztonságossága ellenére) nem alkalmazzák széleskörűen. A szintetikus A_1 receptor agonisták közös jellemzője, hogy az adenzinnál stabilabb vegyületek, így jobban ellenállnak az adenzin metabolizmusában résztvevő enzimeknek és hosszabb felezési idejűek. A gyógyszerjelöltként kipróbált szintetikus A_1 receptor agonistáktól azt várják, hogy az adenzin által kiváltható protektív és regeneratív folyamatokat erőteljesebben indítsák el, miközben mellékhatásaik maradjanak jól kezelhető szinten. A különböző A_1 receptor agonisták fejlesztése jelentős potenciált hordoz (talán túlságosan is) széleskörű terápiás lehetőségeivel, például antiischaemias, antiarrhythmias, analgesztikus, antidiabetikus, neuroprotektív, gyulladáscsökkentő, antifibrotikus, immunomoduláns, antiproliferatív és antivirális szerként. További közös vonásuk, hogy koncentráció-hatás (E/c) görbéik az adenzinéhoz képest jellemzően balra toltak (lassúbb eliminációjuk miatt) és így használatukkal megbízhatóbb adatokat lehet kapni az A_1 receptor működéséről.

Kísérleteink során több, biológiailag stabil adenzin analógot használtunk. A CPX (8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine) a teofillinhez hasonló szerkezetű, de szelektív A_1 receptor antagonist. Kötődése reverzibilis és ortosztirikus, így kompetitív antagonist. A CPA (N^6 -cyclopentyladenosine) szelektív és teljes (full) A_1 receptor agonista. Ez az analóg purinvázis és hosszú felezési idejű, továbbá gyakran kiindulási vegyülete a cardiovascularis terápiás céllal fejlesztett A_1 receptor agonistáknak. Nagyon hasonló hozzá CHA (N^6 -cyclohexyladenosine), ami szintén szelektív és (majdnem) teljes agonista, viszont kiemelkedően ellenáll az enzimatis bontásnak (igen nagy felezési idejű). Használtunk még NECA-t (5'-N-ethylcarboxamidoadenosine) is, ami hosszú felezési idejű, purinvázis, A_1 és A_2 receptor agonista.

Egyik vizsgálatunk középpontjában a hipoxantin-triciklánó állt, melyet a Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerészi Kémia Tanszékén

szintetizáltak. A hipoxantin-triciklánó olyan adenzin analóg, melyben az adenint hipoxantin, a ribózt pedig egy morfolínóból kiinduló, kondenzált triciklusos molekularész helyettesíti. A molekulát eredetileg antivirális szerként vizsgálták, cardiovascularis hatásai korábban ismeretlenek voltak.

1.3. A pitvari myocardium, mint kísérleti rendszer

A szívizom anatómiai és funkcionális szempontból két részre osztható: a supraventricularis (pitvari) és a kamrai myocardiumra. A pitvari myocardiumon az adenzin, akárcsak az acetilkolin, lényegesen erősebb negatív trop hatásokat képes kiváltani, mint a kamrai szívizmon. Ennek háttérében az A_1 típusú adenzin receptorok és az M_2 altípusú muszkarinos acetilkolin receptorok nagyobb sűrűsége és gazdagabb posztreceptorális jelátvittele áll a pitvarokon. Az A_1 receptor és az M_2 receptor negatív trop hatásai két fő szignalizációs útvonalon keresztül érvényesülnek: a muszkarin aktiválta K^+ csatorna nyitása és az adenilcikláz enzim gátlása. A muszkarin aktiválta K^+ csatorna az ún. GIRK (G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels) tagja, ami döntően a pitvari myocardiumban található (kamrán csak elvétve), az adenilcikláz enzim ugyanakkor a legtöbb szövetben előfordul, így a szívizomban is.

Az A_1 receptor stimulációja a kamrai szívizomban a nyugalmi szintig redukálja az adenilcikláz működését, ezáltal a kontrakciós erő is a nyugalmi értékre áll vissza (indirekt negatív inotrop hatás). A pitvari myocardiumban azonban az A_1 receptor aktivációja a nyugalmi szint alá tudja csökkenteni az inotrop funkciót (direkt negatív inotrop hatás), amit általában a muszkarin aktiválta K^+ csatorna működésének tulajdonítanak. Vizsgálataink során az adenilcikláz enzimet előzetesen sosem stimuláltuk, tehát mindig az A_1 receptor direkt negatív inotrop működését detektáltuk.

Ez a kísérleti elrendezés azért előnyös, mert az A_1 receptor a nyugalmi kontraktilitás és chronotropia csökkentésével az izolált pitvari myocardiumon jól reprodukálható és – általában – kiemelkedően kis szórású, tehát megbízható adatok gyűjtésére nyújt lehetőséget. Az izolált, ingerelt bal pitvar különösen alkalmas megbízható adatok generálására, hiszen ez a preparátum – akut módon – nem is nagyon képes mással reagálni az őt ért behatásokra (pl. az A_1 receptor felől), mint kontrakciós erejének változtatásával. Ez a kísérleti elrendezés tehát alkalmas olyan vizsgálatok

kivitelezésére is, ahol a pontatlanságra érzékeny kvantitatív elemzésre, például regresszióanalízisre (görbeillesztésre) sor kerül.

A jelen PhD munkát megalapozó két vizsgálatunk mindegyike ilyen kísérleti rendszerben készült. *Ex vivo* vizsgálatunk során az inotrop és a chronotrop hatásokat is mértük, ekkor az adatok pontosságának abban volt jelentősége, hogy kis hatásokat is tudjunk differenciálni. *In silico* vizsgálatunkban ugyanakkor regresszióanalízist végeztünk, ezért ide olyan pontosságú és megbízhatóságú adatok kellettek, amelyeket az izolált, ingerelt bal pitvar tud biztosítani.

1.4. A Hill egyenlet és a receptorális válaszkészség módszer (RRM)

A Hill egyenlet volt az első kvantitatív receptorműködési modell, melyet ma is használnak ligandkötési és E/c görbék adatainak kiértékeléséhez. A Hill egyenlet segítségével végzett regresszióanalízis kétváltozós ($\log c$, E), háromparaméteres (E_{\max} , EC_{50} vagy $\log EC_{50}$, n) és nemlineáris (ugyanis nem az $y = a \cdot x + b$ képletet követi). A Hill egyenlet előnye, hogy nagy mérési vagy a biológiai variabilitásból eredő hibával terhelt y adatok mellett is jó becslések végezhetőek vele.

Az RRM alapegyenlete leírja a kapcsolatot a torzult hatás (melyet csökkent válaszkészségű, „torzult” biológiai rendszerben mérhetünk bizonyos körülmények között) és a hozzá tartozó intakt hatás (amit ugyanazon rendszer intakt válaszkészségű állapotában mérhetünk) között. Ezt az összefüggést magában foglalva az RRM modellje összekapcsolja a torzult hatást, az E/c görbe agonistájának koncentrációját (vagy annak logaritmusát) és a csökkent válaszkészség okát, amit torzító koncentrációként (c_x , vagy ennek logaritmusát: $\log c_x$) kezel. Az RRM modellje tartalmazza a receptorfunkció egy kvantitatív modelljét is, ami által annak paramétereit is használja. Ez a receptorfunkciós modell legtöbbször a Hill egyenlet.

Az RRM leggyakoribb felhasználása az RRM modelljének a torzult E/c görbére való illesztése, amihez szükség van az intakt E/c görbére (illetve annak jellemző adataira). Az RRM modellel végzett regresszióanalízis kétváltozós ($\log c$, E'), négyparaméteres (E_{\max} , EC_{50} vagy $\log EC_{50}$, n, c_x vagy $\log c_x$) és nemlineáris. Ha a Hill-féle paramétereket állandó értéken rögzítjük, az RRM modell illesztése egyparaméteressé (c_x vagy $\log c_x$) válik.

1.5. Célkitűzéseim

A hipoxantin-triciklánó *ex vivo* vizsgálatakor a cél annak feltárása volt, hogy a molekula hatással van-e a pitvari kontraktilitásra és chronotrop működésre, továbbá esetleges hatásait az A₁ receptorhoz kötődve fejti-e ki.

Az RRM *in silico* vizsgálata során az egyik cél az volt, hogy megvizsgáljuk, az RRM modell (c_x -szel való osztással járó) egyszerűsítésével javíthatók-e a kapott eredmények. A következő cél annak feltárása volt, hogy az RRM modelljében a c_x vagy a $\log c_x$ alkalmazása-e a célravezetőbb. További kérdésként felvetettük, hogy a c_x illetve a $\log c_x$ paraméter individuális, egymodelles globális vagy kétmodelles globális regresszióval ad-e pontosabb illetve megbízhatóbb eredményt, valamint hogy melyik eljárás használható kényelmesebben. Célul tűztük ki annak tisztázását is, hogy az E/c görbecsaládok (egy intakt E/c görbe plusz több hozzá tartozó torzult E/c görbe) esetében az összes görbére egyszerre történő illesztés-e a jobb, vagy a páronkénti (egy intakt E/c görbe plusz egy torzult E/c görbe) illesztés. Mindemellett megvizsgáltuk, miként befolyásolja az RRM eredményeit, ha tekintettel vagyunk az E/c görbe adatok szórásának eloszlására is.

2. Anyagok és módszerek

2.1. *Ex vivo* módszerek

2.1.1. *Vegyszerek és oldatok*

Vizsgálataink során a következő vegyszerek alkalmaztuk: hipoxantin-triciklánó (adenozin analóg), melyet a Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, Gyógyszerészi Kémia Tanszéken állítottak elő; továbbá adenzin (nem szelektív, reverzibilis adenzin receptor agonista) és CPX (8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine; reverzibilis, szelektív A₁ adenzin receptor antagonist), melyeket a Sigma-tól (St. Louis, MO, USA) vásároltunk. A szervkádak feltöltésére, továbbá az adenzin és a hipoxantin-triciklánó törzsoldatok hígítására 36 °C-os, módosított Krebs-Henseleit puffert (Krebs oldat) használtunk. A CPX oldószere dimetil-szulfoxid (DMSO) volt.

2.1.2. *Állatok és preparátumok*

Kísérleteinkhez hím, 400-500 g testtömegű Wistar patkányokat használtunk. Az állatok tartása, feldolgozása, illetve a protokollok kivitelezése megfelelt a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának Etikai Kódexe által támasztott követelményeknek és a vonatkozó Európai Unió előírásoknak (etikai engedély száma: 25/2013 DEMÁB és 5/2020 DEMÁB).

A patkányokat dekapitáltuk, a mellkasfal elülső részét megnyitottuk, majd a szívet a csúcsánál fogva megemeltük, kivágtuk és 4-5 °C-os Krebs oldatba helyeztük, melyet előtte 10 percen keresztül karbogénnel (95% O₂ és 5% CO₂ elegye) buborékoltattunk. A szív leállítását követően elsőként a bal pitvari fülcsét vágtuk le (a továbbiakban: bal pitvar). Ezután következett a maradék supraventricularis szövet (a bal pitvar fülcsén kívüli része és a teljes jobb pitvar) levágása, melyről óvatosan eltávolítottuk a nagyerek maradványait (a továbbiakban: jobb pitvar).

A pitvarokat 10 ml-es, karbogénnel szellőztetett Krebs oldattal töltött, vertikális állású szervkádakban (TSZ-04, Experimetria, Budapest) függesztettük fel (36 °C, pH 7,4). A fülcsék csúcsát fonállal a teflon szervtartó alsó részéhez rögzítettük, majd a szervtartót a szervkádba helyeztük. Végül a fülcse azon pontját, amely a legtávolabb

volt a fülcse csúcsától, fonallal egy transzducer (SD-01, Experimetria, Budapest) karjához rögzítettük.

A felkötést követően a bal pitvarokat platinaelektródon keresztül pontszerűen ingereltük programozható stimulátor (ST-02, Experimetria, Budapest) és erősítő (PST-02, Experimetria, Budapest) alkalmazásával (3 Hz frekvencián, 1 ms impulzusszélességgel és 1-1,5 V feszültséggel). A jobb pitvarok esetén külön ingerlésre nem volt szükség, mivel spontán működtek.

A pitvarok kontrakciós erejét az izometriás összehúzódások amplitúdójával jellemeztük, melyet a transzducer alakított elektromos jellé, jelerősítő (SG-01D, Experimetria, Budapest) növelt, majd hőérzékeny papírra rögzítő hőírókaros poligráf (R-61 6CH, Medicor, Budapest) alakított vissza távolsággá. A pitvarokat 10 mN nyugalmi feszülésre állítottuk be, melyet – szükség esetén – minden mosási időszak végén visszaállítottunk.

2.1.3. Protokollok és csoportok

A pitvarok felkötését követően először 45 perces inkubációs időszak kezdődött Krebs oldatban. Ezután felvettük az első kumulatív E/c görbét adenzinnal (1 nM - 1 mM; „Ado görbe”), majd Krebs oldattal 15 perces mosás következett. Innentől a két protokollt (P1, P2) különböző módon folytattuk.

A P1 protokoll (n=14) során ezt követően kumulatív E/c görbét vettünk fel a pitvarokon hipoxantin-triciklánóval (1 nM - 300 μ M; „HT görbe”), majd mosás nélkül adenzinnal kumulatív E/c görbét vettünk fel (1 nM - 1 mM; „Ado+HT görbe”).

A P2 protokoll (n=10) során viszont a pitvarokhoz 10 μ M CPX-et adtunk, majd 10 perc múlva (mosás nélkül) egy második adenzin E/c görbét vettünk fel (1 nM - 1 mM; „Ado+CPX görbe”). Ezután 10 perces mosás következett Krebs oldattal, amelyet 10 perc újabb inkubáció követett 10 μ M CPX jelenlétében, majd kumulatív E/c görbét vettünk fel hipoxantin-triciklánóval (1 nM - 300 μ M; „HT+CPX görbe”).

2.1.4. Az E/c görbék kiértékelése

Az inotropia meghatározásakor a sűrűn egymás mellé regisztrált összehúzódások alsó és a felső burkológörbéjének távolságát mértük le a megfelelő helyeken. A kontrakciós erő változását a kiindulási értékhez viszonyítottuk és százalékos formában fejeztük ki, mint inotrop hatást.

A chronotropia meghatározásakor elsőként az összehúzódások számát számítottuk ki. Az összehúzódások számának változását a kiindulási értékhez viszonyítottuk és százalékos formában fejeztük ki, mint chronotrop hatást.

2.2. *In silico* módszerek

2.2.1. Elemzett adatok

Az *in silico* vizsgálatunkban elemzett E/c görbéket a munkacsoport két korábbi *ex vivo* vizsgálata során vették fel izolált, ingerelt tengerimalac bal pitvaron. Az E/c görbék párok (egy intakt E/c görbe plusz egy torzult E/c görbe) vagy családok (egy intakt E/c görbe plusz három torzult E/c görbe) voltak. Az E/c görbéket az RRM-mel újraértékeljük oly módon, hogy a különböző regressziós lehetőségeket kombináltunk és kerestük közülük a legpontosabbat, a legprecízebbet és a legkönnyebben használhatót.

Az intakt E/c görbéket stabil (hosszú felezési idejű), szintetikus A₁ receptor agonistákkal (CPA, NECA vagy CHA) vettük fel úgy, hogy az E/c görbe felvételét nem előzte meg adenzin receptor agonista használata. A torzult E/c görbék esetében is az előbbi agonistákat használtunk, de nem sokkal az E/c görbe felvétele előtt a későbbiekben használt agonista egy ismert dózist juttattunk a szervkádba (az E/c görbék felvétele azután kezdődött, hogy az extra agonista koncentráció hatása teljesen kifejlődött). A kiértékelés során figyelmen kívül hagytuk az agonista elsőként beadott koncentrációját (és annak hatását), így az torzító koncentrációvá vált.

2.2.2. Regressziós modellek

Az intakt E/c görbék jellemzésére a Hill egyenlet görbeillesztésre optimalizált formáját használtuk:

$$E = \frac{E_{max}}{1 + 10^{n \cdot (\log EC_{50} - \log c)}}$$

ahol: $\log c$: az E/c görbe felvételéhez használt agonista koncentrációjának (10-es alapú) logaritmusa; E: a kiváltott hatás; E_{max} : a maximális hatás; $\log EC_{50}$: a maximális hatás felét kiváltó („félhatásos”) agonista koncentráció logaritmusa; n: a Hill koefficiens (meredekségi tényező). A fenti Hill modell az intakt E/c görbékét három paraméterrel jellemezte: E_{max} , $\log EC_{50}$ és n.

Az RRM modellnek három, algebrailag egyenértékű formáját illesztettük:

$$E' = 100 - \frac{100 \cdot \left(100 - E_{max} \cdot \frac{(c_x + 10^{\log c})^n}{(c_x + 10^{\log c})^n + 10^{n \cdot \log EC_{50}}} \right)}{100 - E_{max} \cdot \frac{c_x^n}{c_x^n + 10^{n \cdot \log EC_{50}}}}$$

Az 1. RRM modell, ami relatíve bonyolult (nincs benne osztás c_x -el) és c_x -et tartalmaz, mint paramétert.

$$E' = 100 - \frac{100 \cdot \left(100 - \frac{E_{max}}{1 + 10^{n \cdot (\log EC_{50} - \log(c_x + 10^{\log c}))}} \right)}{100 - \frac{E_{max}}{1 + 10^{n \cdot (\log EC_{50} - \log(c_x))}}}$$

A 2. RRM modell, ami egyszerűsített (c_x -el való osztás révén) és c_x -et tartalmaz, mint paramétert.

$$E' = 100 - \frac{100 \cdot \left(100 - \frac{E_{max}}{1 + 10^{n \cdot (\log EC_{50} - \log(10^{\log c_x} + 10^{\log c}))}} \right)}{100 - \frac{E_{max}}{1 + 10^{n \cdot (\log EC_{50} - \log c_x)}}$$

A 3. RRM modell, ami egyszerűsített (c_x -el való osztás révén) és $\log c_x$ -et tartalmaz, mint paramétert. Az RRM modell változói és paraméterei: $\log c$: a torzult E/c görbe felvételéhez használt agonista koncentrációjának logaritmusa; E' : a torzult hatás; E_{max} , $\log EC_{50}$ és n: a torzult E/c görbéhez tartozó intakt E/c görbét jellemző Hill paraméterek; c_x (ill. $\log c_x$): a torzult E/c görbe felvételéhez használt agonista azon koncentrációja (ill. annak logaritmusa), ami ekvieffektív a torzító (elsőként beadott és figyelmen kívül hagyott) koncentrációval. Mivel itt a torzító (figyelmen kívül hagyott)

és a torzult E/c görbe felvételéhez használt (figyelembe vett) agonista azonos volt, a c_x közvetlenül a torzító koncentrációt becsli.

A három RRM modellt individuális, egymodelles globális illetve kétmodelles globális illesztéssel is használtuk mind az intakt, mind a torzult E/c görbékre.

E/c görbecsalád (vagyis amikor egynél több torzult E/c görbe tartozott egy intakt E/c görbéhez) globális regressziójakor egyszerre is illesztettük az összes összetartozó E/c görbét („mindet-egyszerre illesztés”), illetve páronként is illesztettük az intakt E/c görbét egy-egy hozzá tartozó torzult E/c görbével. Az egyszerűség kedvéért a görbecsaládok illesztésének vizsgálatához csak a 3. RRM modellt használtuk.

Az illesztéseket elvégeztük hagyományos (ordinary least-squares) és robusztus módon is.

2.3. Adatelemzés

A statisztikai elemzést, a görbeillesztést és az ábrakészítést GraphPad Prism 8.4.2 (*ex vivo* rész) és 9.5.1 (*in silico* rész) szoftverrel végeztük (GraphPad Software Inc., La Jolla, California, USA). Néhány egyszerűbb szerkesztéshez és számításhoz Microsoft Excel 365 programot használtuk (Microsoft Co., Redmond, WA, USA).

Az *ex vivo* adatok eloszlásának normalitását D'Agostino-Pearson és Shapiro-Wilk teszttel vizsgáltuk. Két, normális eloszlású adathalmazt párosítatlan t teszttel hasonlítottunk össze (ha az F teszt szignifikánsan eltérő varianciákat mutatott, Welch korrekció mellett). Két, nem normális eloszlást mutató adathalmaz összehasonlításához Mann-Whitney U tesztet használtunk. Kettőnél több, normális eloszlású adathalmazt egyszempontú ANOVA-val és Tukey poszt-teszttel hasonlítottunk össze. Kettőnél több, nem normális eloszlású adathalmazhoz Kruskal-Wallis tesztet és Dunn poszt-tesztet használtunk.

Az *in silico* vizsgálat során az RRM pontosságát a meghatározott torzító koncentráció értékek (c_x) és az ismert torzító koncentráció értékek különbsége mutatta.

Az RRM precizitását a regresszió által közvetlenül szolgáltatott $\log c_x$ illetve c_x értékek 95%-os konfidencia intervallumának szélességével jellemeztük. A görbeillesztés és az E/c görbe adatok precizitását a 95%-os megbízhatósági (konfidencia) és előrejelzési (predikciós) sávok szélessége jellemezte a regressziós

függvény körül.

A 95%-os konfidencia intervallumok által nyújtott további információ a közvetlenül meghatározott $\log c_x$ illetve c_x értékek ezeken belüli pozíciója volt. Ha a 95%-os konfidencia intervallum szimmetrikus (vagy ahhoz közeli) volt, akkor az illesztett modell parametrizációját megfelelőnek tekinthettük.

3. Eredmények

3.1. *Ex vivo* eredmények

3.1.1. *Inotrop hatások*

Az adenzin erős negatív inotrop hatást váltott ki a bal és a jobb pitvarokon egyaránt, melyek nem különböztek szignifikánsan egymástól.

A reverzibilis A₁ receptor antagonistá CPX jelenlétében az adenzin kisebb koncentrációira adott inotrop válaszok szignifikánsan kisebbek volt, mint a natív válaszok. A CPX blokádn azonban 1 mM adenzinnal áttörhető volt.

A hipoxantin-triciklánó (az adenzin hatásától markánsan eltérően) mérsékelt pozitív inotrop hatást váltott ki a bal és a jobb pitvaron egyaránt (melyek nem különböztek egymástól szignifikánsan). A hipoxantin-triciklánó hatásának nagysága ugyanakkor az egyes pitvarok szintjén változatos volt, amit az adenzinhez képesti nagyobb szórás mutatott (mind a jobb, mind a bal pitvarokon). Ahogy az adenzin esetében is, itt is mérsékeltte a hipoxantin-triciklánó hatását, ha CPX is jelen volt a rendszerben. Ez a gátló hatás azonban nem bizonyult szignifikánsnak, melynek oka lehetett az E/c adatok nagyobb szórása is.

A kb. 411 μ M hipoxantin-triciklánó jelenlétében felvett adenzin E/c görbe (Ado+HT görbe) a bal pitvaron 1 mM adenzin koncentrációnál szignifikánsan különbözött a natív adenzin E/c görbétől (Ado görbe), még hozzá úgy, hogy az Ado+HT görbe adott nagyobb negatív inotrop választ mutatott.

3.1.2. *Chronotrop hatások*

Az inotropiához hasonló módon alakult a chronotrop válasz is. Adenzin markáns negatív chronotrop választ váltott ki a spontán működő jobb pitvarokon, ami a negatív inotrop válaszhoz képest kisebb adenzin koncentrációnál gyengébb volt, később viszont felerősödött.

A CPX jelentősen csökkentette az adenzin kiváltotta negatív chronotrop hatást. A hipoxantin-triciklánó gyenge pozitív chronotrop hatást váltott ki a jobb pitvaron, ami szignifikánsan különbözött az adenzin negatív chronotrop hatásától. A hipoxantin-

triciklánó hatását valamelyest csökkentette a CPX, ez viszont statisztikailag nem volt szignifikáns. Az adenzin chronotrop hatását nem változtatta meg jelentősen, ha 411 μM hipoxantin-triciklánó is jelen volt.

3.2. *In silico* eredmények

3.2.1. *Bonyolultabb vs. egyszerűbb RRM modellek*

A 3. RRM modell (egyszerű és $\log c_x$ -et tartalmaz) szolgáltatta a legjobb eredményeket, a 2. RRM modell (egyszerű, de c_x -et tartalmaz) ennél rosszabbnak bizonyult, míg a leggyengébb eredményeket az 1. RRM modell (bonyolult és c_x -et tartalmaz) adta. Az algebrai egyszerűség előnyét az 1. és a 2. RRM modell összehasonlítása mutatta.

3.2.2. *Log c_x vs. c_x az RRM modellben*

A torzító koncentráció meghatározását célzó c_x logaritmusként való szerepeltetése az RRM modelljében ($\log c_x$) jobb eredményeket biztosított, mint a c_x maga. A logaritmikus forma előnyét a 2. és a 3. RRM modell összehasonlítása mutatta.

3.2.3. *Individuális vs. egymodelles globális vs. kétmodelles globális illesztés*

A legkörülményesebb kivitelezésű individuális regresszió volt a legpontosabb, ezt szorosan követte a közepesen kényelmes kétmodelles globális regresszió, majd a könnyen végrehajtható egymodelles globális regresszió. A kétmodelles globális illesztés volt ugyanakkor a legprecízebb, ezt szorosan követte az individuális regresszió és csak távolról az egymodelles globális illesztés.

3.2.4. *Mindent-egyszerre típusú vs. páronkénti illesztés (E/c görbecsalád esetében)*

Egynél több torzult E/c görbe (és természetesen az elmaradhatatlan natív E/c görbe) egyszerre történő illesztése szerencsés esetben ugyanolyan, kevésbé szerencsés esetben rosszabb, akár lényegesen rosszabb eredményekre vezetett, mint a páronkénti

regresszió, amikor csak egy torzult E/c görbét illesztünk egyszerre egy natív E/c görbével. Ily módon bár a mindet-egyszerre típusú illesztés kényelmesebb volt, de sokszor kevésbé volt pontos és precíz is, mint a páronkénti illesztés.

3.2.5. *Hagyományos (ordinary least-squares) vs. robusztus illesztés*

A regresszió hagyományos vagy robusztus módja alig befolyásolta a pontosságot és egyáltalán nem érintette az illesztés kényelmét. A precizitásra való hatást nem lehetett megítélni, mivel robusztus regresszió esetén a görbeillesztő szoftver nem határozott meg konfidencia intervallumokat, valamint konfidencia és előrejelzési sávokat.

4. Megbeszélés

4.1. *Ex vivo* következtetések

A jelen értekezést megalapozó *ex vivo* vizsgálatunk célja az volt, hogy feltárjuk a hipoxantin-triciklánó potenciális inotrop és chronotrop hatásait patkány bal és jobb pitvaron. Eredményeink alapján a hipoxantin-triciklánó gyenge pozitív inotrop és még gyengébb pozitív chronotrop hatással rendelkezik. A szelektív, ortosztérikus és reverzibilis A₁ receptor antagonistá CPX-el mind a pozitív inotrop, mind a pozitív chronotrop hatást gátolható volt, azonban mivel a relatíve kis hatásokhoz jelentős szórás társult, a gátlás nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét.

Mivel egy receptor ortosztérikus kötőhelyéhez való kapcsolódás révén kifejtett hatás legfontosabb farmakológiai bizonyítéka az adott hatásnak egy szelektív, ortosztérikus antagonistával való gátolhatósága, nem állíthatjuk teljes bizonyossággal, hogy a hipoxantin-triciklánó pozitív inotrop hatásait az A₁ receptor ortosztérikus kötőhelyéhez kötődve váltja ki. Amennyiben mégis így van, a hipoxantin-triciklánó az A₁ receptor ortosztérikus inverz agonistája (mivel az endogén agonista adenzin negatív inotrop hatásokat mediál).

Az A₁ receptor inverz agonizmusa egyébként ritkán megfigyelt jelenség. Amikor eddig egy A₁ receptor ligand esetében inverz agonista viselkedést tapasztaltak, az jellemzően gyenge hatásokat foglalt magába. Más receptorok esetében is relatíve későn azonosították az inverz agonistáit, mivel ezeket sok kísérleti rendszerben nehéz elkülöníteni az antagonistáktól.

A hipoxantin-triciklánó jelenlétében felvett adenzin E/c görbék hasonló lefutást mutattak, mint az önmagukban felvett adenzin E/c görbék. Feltételezve, hogy a hipoxantin-triciklánó általunk megfigyelt hatásait az A₁ receptor mediálja, valószínűsíthetjük, hogy számottevően kisebb affinitással képes kötődni az A₁ receptorhoz, mint az adenzin, ezért könnyen leszorítható a receptorról. Kiemelendő továbbá, hogy a hipoxantin-triciklánó valamelyest fokozta az adenzin negatív inotrop hatását (ami a bal pitvaron statisztikailag is szignifikáns volt). Ezt a jelenséget végiggondolva logikusan adódik, hogy a pozitív inotrop hipoxantin-triciklánó megnövelte az adenzin által csökkenthető kontrakciós erőt, ami nagyobb negatív inotrop választ tett lehetővé az adenzin (nagyobb koncentrációi) számára.

Alternatívaként felvethető, hogy a hipoxantin-triciklánó nem kizárólag az A_1 receptoron keresztül fejti ki pozitív trop hatásait, hanem rendelkezik egy ettől független szignalizációs (esetleg metabolikus) útvonallal is. Ez az alternatív útvonal magyarázatot nyújtana arra is, hogy a CPX miért csak részben tudta gátolni a hipoxantin-triciklánó szupraventrikuláris myocardiumon megfigyelt hatásait.

Habár a kétféle pitvaron az inotrop hatások nagyon hasonlóak voltak, a jobb pitvari mérési adatok nagyobb szórást mutattak, mint a bal pitvariak. Ez rámutat arra, hogy az inotropia szempontjából az állandó frekvencián ingerelt bal pitvar megbízhatóbb modellt kínál, mint a spontán működő jobb pitvar.

Összegezve a fentieket megállapíthatjuk, hogy a hipoxantin-triciklánó gyenge pozitív ino- és chronotrop hatásokkal rendelkezik bal és jobb patkány pitvaron. Eredményeink alapján a hipoxantin-triciklánó vélhetően kis affinitású, ortosztérikus, reverzibilis, gyenge inverz agonistája az A_1 receptornak, a hatásai hátterében azonban nem zárható ki ezen kívüli mechanizmusok létezése sem.

4.2. *In silico* következtetések

Eredményeink alapján, nagy vonalakban, az RRM elfogadhatóan pontosnak bizonyult a regressziós lehetőségek minden alkalmazott kombinációja esetén. Ez alól a három legfontosabb kivétel:

- 1) az 1. RRM modell (nem egyszerűsített és c_x -et tartalmaz) egymodelles globális illesztése;
- 2) a 2. RRM modell (egyszerűsített és c_x -et tartalmaz) az intakt E/c görbékre való egymodelles globális illesztése;
- 3) az E/c görbecsaládok legkisebb torzító koncentrációjának meghatározása mindet-egyszerre technikával való globális illesztéssel.

Ezekből három fő (lentebb részletezett) tanulság vonható le:

- 1) az egyszerűsített modell előnyösebb az RRM számára, még a c_x -el való osztásból fakadó elméleti aggályok ellenére is (egy olyan paraméter esetében, ami nulla is kell, hogy lehessen);
- 2) a c_x az RRM modelljében ($\log c_x$ helyett) inkább hátrány, mint előny;

3) a kis torzító koncentráció kihívást jelent az RRM számára, különösen, ha egy E/c görbecsalád mindet-egyszerre technikájú globális illesztésével kívánják meghatározni.

Ad 1) Törekedni kell a lehető legegyszerűbb RRM modell használatára. Minél bonyolultabb ugyanis egy regressziós modell, annál nagyobb mértékű korreláció léphet fel a modell paramétereinek között.

Ad 2) A c_x használata az RRM modelljében nem javította sem a pontosságot, sem a precizitást. Sőt, egyes esetekben a c_x rontotta a precizitást azáltal, hogy növelte a korrelációt az egyes paraméterek között, az 1. RRM modell (ami nincs egyszerűsítve és c_x -et tartalmaz, ami tehát matematikai szempontból szabadon lehet nulla) egymodelles globális illesztése pedig egyenesen lehetetlenné tette a meghatározást. Ez az eredményünk rávilágított arra, hogy munkacsoportunk korábban tévesen feltételezte, hogy a $\log c_x$ -et tartalmazó RRM modell egymodelles globális illesztése azért teljesített várakozáson alul, mert az intakt E/c görbék esetében a c_x nem tudott nulla értéket felvenni. Leszűrhetjük, hogy az RRM hiányosságai nem a $\log c_x$ használatából erednek. Ezt a jelen *in silico* vizsgálat egy másik eredménye is megerősítette, miszerint a kétmodelles globális illesztés (melynél az RRM modell nem kerül kapcsolatba az intakt E/c görbékkel) nem javította az RRM pontosságát az egymodelles globális illesztéshez képest (mármint ahol ez utóbbi elfogadható becsléseket adott), noha a legprecízebbnek bizonyult.

Ad 3) Korábbi *in silico* eredményeinkkel összhangban a jelen *in silico* vizsgálat is megerősítette, hogy a túl kicsi vagy túl nagy koncentrációkat az RRM jellemzően csak számottevő pontatlansággal tudja meghatározni. Egy torzító koncentráció akkor tekinthető kicsinek vagy nagynak, ha a hatása kicsi vagy nagy az E/c görbékhez használt agonista maximális hatásához képest. E/c görbecsaládok esetében ugyanakkor a globális regresszió pontossága (kis koncentráció meghatározásakor) és precizitása (minden esetben) jelentősen javítható volt páronkénti technika alkalmazásával. Ebből következően nem javasoljuk kettőnél több E/c görbe globális illesztését az RRM alkalmazásakor, annak ellenére sem, hogy kényelmes és a legtöbb esetben jó becslést ad. Ennek megfelelően a továbbiakban a globális regresszió eredményei közül azokra utalok, amelyeket páronkénti technikával kaptunk (ha nem, azt külön jelzem).

Ami a további regressziós lehetőségeket illeti, pontosság tekintetében az individuális illesztés bizonyult a legjobbnak, melyet szorosan követ a ($\log c_x$ -el

alkalmazott) globális regresszió, függetlenül a modellek számától. Ami a precizitást (vagyis a becslések megbízhatóságát) illeti, a kétmodelles globális regresszió teljesített a legjobban, ezt szorosán követte az individuális illesztés, majd messze lemaradva az egymodelles globális regresszió. A használat kényelme szempontjából a legjobb az egymodelles globális regresszió volt, ezt követte a kétmodelles globális illesztés, majd a meglehetősen körülményes individuális regresszió.

Itt bemutatott *in silico* vizsgálatunkban az RRM különböző kivitelezési módjai között a legtöbb különbséget a precizitás és a használat kényelme terén találtuk. Ezzel összhangban a regresszió hagyományos és robusztus módja között kevés különbséget tapasztalhattunk, hiszen a robusztus illesztés nem ad meg konfidencia intervallumokat, illetve konfidencia és előrejelzési sávokat. Ami a görbeillesztés kényelmét illeti, ezt a regresszió hagyományos vagy robusztus volta egyáltalán nem befolyásolja.

Összefoglalva az eddigieket, az RRM kivitelezését a következőképpen javasoljuk:

- a $\log c_x$ -et tartalmazó egyszerűsített modellel (3. RRM modell);
- páronkénti technikával végzett kétmodelles globális regresszióval, esetleg individuális regresszióval (vagy az ellenőrzés kedvéért mindkettővel)
- hagyományos (ordinary least-squares) regresszióval, esetleg – pontatlan adatok esetén – robusztus illesztéssel (vagy ellenőrzésképpen mindkettővel).

5. Az új eredmények összefoglalása

Ex vivo vizsgálatunkban a hipoxantin-triciklánó inotrop és chronotrop hatását vizsgáltuk patkány pitvari myocardiumra. Eredményeink szerint a hipoxantin-triciklánó gyenge pozitív inotrop hatást fejtett ki mind a bal, mind a jobb pitvaron, amellett – ezzel összhangban – a jobb pitvaron gyenge pozitív chronotrop hatása volt. CPX (szelektív A_1 adenzin receptor antagonist) jelenléte enyhén (és a statisztikai szignifikancia szintjét el nem érően) gátolta a hipoxantin-triciklánó inotrop és chronotrop hatásait. A hipoxantin-triciklánó hatásai adenzinnal könnyen áttörhetőek voltak. A fentiekből arra következtettünk, hogy a hipoxantin-triciklánó az A_1 receptor gyenge (low-efficacy), reverzibilis, ortoszterikus, kis affinitású (low-affinity) és inverz agonistája. Emellett nem zárható ki, hogy a hipoxantin-triciklánó A_1 receptortól független útvonalon is hat.

In silico vizsgálatunkban a receptorális válaszkészség módszer (RRM) különböző kivitelezési lehetőségeit hasonlítottuk össze a becslés pontossága, az eljárás precizitása (megbízhatósága) és kényelme alapján. A következő regressziós lehetőségeket kombináltuk: **1.)** bonyolultabb vs. egyszerűbb (de algebrailag ekvivalens) RRM modellek; **2.)** logaritmusos ($\log c_x$) vs. nemlogaritmusos (c_x) fő paraméter az RRM modellben; **3.)** individuális (lokális) vs. egymodelles globális vs. kétmodelles globális illesztés; **4.)** görbecsalád (kettőnél több összetartozó adatsor) globális regressziója esetén mindet egyszerre vs. páronkénti illesztés; **5.)** hagyományos (ordinary least-squares) vs. robusztus regresszió. Eredményeink szerint: **1.)** az egyszerűbb modell jobb, mint a bonyolult (még ha az egyszerűsítés elméleti szempontból kifogásolható is); **2.)** a fő paramétert jobb logaritmusként ($\log c_x$) használni; **3.)** az individuális illesztés a legpontosabb (emellett elég precíz), a kétmodelles globális regresszió a legprecízebb (emellett elég pontos), ugyanakkor a kétmodelles globális regresszió kényelmesebb, mint az individuális; **4.)** görbecsaládok esetén a kétmodelles globális illesztés csak páronként végezve elég pontos és precíz; **5.)** a hagyományos és a robusztus regresszió egyaránt megfelelő, pontos adatokhoz azonban hagyományos regressziót érdemes választani (hogy a precizitás megítélhető legyen), míg pontatlan adatoknál érdemes ellenőrzésképpen a robusztus illesztést is elvégezni. Tehát az RRM-hez páronkénti technikával végzett kétmodelles globális regresszió ajánlott (esetleg ellenőrzésként individuális illesztéssel együtt), a $\log c_x$ -et tartalmazó egyszerűbb modell használatával, hagyományos módon (pontatlan adatok esetén robusztus illesztéssel kiegészítve).

6. Köszönetnyilvánítás

Köszönöm Dr. Szilvássy Zoltán egyetemi tanárnak, intézetünk igazgatójának, egyetemünk rektorának, hogy lehetővé tette munkám elvégzését a DE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben.

Köszönöm témavezetőm, Dr. Gesztelyi Rudolf egyetemi tanár segítőkészségét és baráti támogatását munkám során.

Köszönetet mondok munkacsoportom tagjainak is a sok segítségért: Dr. Erdei Tamás és Dr. Viczján Gábor tudományos segédmunkatársaknak, valamint Juhászné Oláh Ildikó és Dávid Anna Mária asszisztenseknek.

Köszönöm intézetünk többi dolgozójának is a segítségét, különösen Dr. Juhász Béla egyetemi tanárnak, Dr. Kiss Rita egyetemi adjunktusnak, Kerekes Judit és Demján Krisztina titkárnőknek, Szalai Andrea doktori iskola adminisztrátornak, továbbá Dr. Bernát Brigitta, Dr. Szekeres Réka, Pelles-Taskó Beáta, Dr. Takács Barbara és Dr. Tarjányi Vera PhD hallgatóknak.

Köszönöm családomnak, hogy mindvégig mellettem álltak és támogattak, feleségemnek és gyermekünknek, édesanyámnak, édesapámnak és testvéreimnek.

PhD munkám anyagi feltételeit az alábbi pályázatok biztosították: TKP2020-NKA-04; TKP2021-EGA-18; ÚNKP-23-3-II-DE-85; GINOP-2.3.4-15-2016-00002; Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar (tudományfinanszírozás).



Nyilvántartási szám: DEENK/427/2024.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Óvári Ignác

Doktori Iskola: Táplálkozás- és Élelmiszertudományi Doktori Iskola. Táplálkozástudományi Doktori Program

MTMT azonosító: 10083856

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Óvári, I.**, Viczján, G., Bege, M., Borbás, A., Herczegh, P., Zsuga, J., Papp, Z., Szilvássy, Z., Juhász, B., Gesztelyi, R., Erdei, T. D.: The ex vivo effects of hypoxanthine-tricyclano, a synthetic adenosine analogue, on rat left and right atria.
Gen. Physiol. Biophys. "Accepted by Publisher", 2024.
IF: 1.3 (2023)
2. **Óvári, I.**, Viczján, G., Erdei, T. D., Takács, B., Tarjányi, V., Zsuga, J., Szűcs, M., Szilvássy, Z., Juhász, B., Gesztelyi, R.: The influence of the way of regression on the results obtained by the receptorial responsiveness method (RRM), a procedure to estimate a change in the concentration of a pharmacological agonist near the receptor.
Front. Pharmacol. 15, 1-18, 2024.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2024.1375955>
IF: 4.4 (2023)

További közlemények

3. Viczján, G., **Óvári, I.**, Erdei, T. D.: A kannabidiol és az adenozinerg rendszer kapcsolata.
Eü. Innov. Szle. 2 (2), 8-13, 2023.
4. **Óvári, I.**, Szilágyi, V., Viczján, G., Lampé, N., Bege, M., Borbás, A., Herczeg, P., Juhász, B., Gesztelyi, R., Erdei, T. D.: Egy újonnan szintetizált adenosin analóg, a hipoxantin-triciklánó hatása izolált patkány bal és jobb pitvaron.
Eü. Innov. Szle. 1 (1), 9-16, 2022.





5. Viczján, G., Szilágyi, A. T., Takács, B., **Óvári, I.**, Szekeres, R., Tarjányi, V., Erdei, T. D., Teleki, V., Zsuga, J., Szilvássy, Z., Juhász, B., Varga, B., Gesztelyi, R.: The effect of a long-term treatment with cannabidiol-rich hemp extract oil on the adenosinergic system of the Zucker Diabetic Fatty (ZDF) rat atrium.
Front. Pharmacol. 13, 1-12, 2022.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2022.1043275>
IF: 5.6
6. Viczján, G., Erdei, T. D., **Óvári, I.**, Lampé, N., Szekeres, R., Bombicz, M., Takács, B., Szilágyi, A. T., Zsuga, J., Szilvássy, Z., Juhász, B., Gesztelyi, R.: A Body of Circumstantial Evidence for the Irreversible Ectonucleotidase Inhibitory Action of FSCPX, an Agent Known as a Selective Irreversible A1 Adenosine Receptor Antagonist So Far.
Int. J. Mol. Sci. 22 (18), 1-21, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22189831>
IF: 6.208
7. Pleszkó, A., Pauleczki, A., **Óvári, I.**, Óvári, J., Hauser, P.: Isolated Hallucination as a Consequence of SARS-CoV-2 Infection in a 10-year-old Child.
Clin Child Psychol Psychiatry. 27 (1), 238-243, 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1177/13591045211061805>

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 17,508

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 5,7

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2024.08.22.

