

**Húgyhólyag kontraktilitás szabályozása egészséges és kóros körülmények
között**

Ph.D. Tézisek

2006

Dr. Széll Enikő Ágnes

Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum,
Gyermecklinika

Bevezetés

Általános megfontolások

A húgyhólyagműködés zavarainak vizsgálata nem tartozik az intenzíven tanulmányozott szakterületek közé a magyar orvostudományban, pedig a különböző életkorokban előbb-utóbb nagyon sokan szembesülnek azzal, hogy a húgyhólyagműködésben bekövetkező zavarok mennyire befolyásolják és megnehezítik az életvitelt. Elég csak a gyermekkorban jelentkező éjszakai ágybavizelésre, a terhesség kapcsán jelentkező vizelettartási problémákra, a férfiakban prosztatata hyperplasia melléktüneteként jelentkező sürgető vizeletürítésre, vagy az alsó húgyutak gyulladásakor megjelenő panaszokra gondolnunk. Mindezek miatt még inkább érthetetlennek tűnik a terület elhanyagolt volta. Napjainkban azonban -leginkább az amerikai és a nyugat-európai területeken- kezd megváltozni a helyzet. Egyre több gyógyszeripari cég, leginkább a prosztatabetegségek, valamint az impotencia kezelése miatt, ösztönözni kezdte a húgyhólyaggal kapcsolatos kutatásokat. A fellendülő experimentális innováció maga után vonta a húgyhólyaggal kapcsolatos élettani és farmakológiai ismeretanyag robbanásszerű növekedését, és többek között olyan érdekes dolgokra világított rá az utóbbi néhány évben, mint a húgyhólyag simaizomzatának régió-függő módosulása, illetve az uroepithelium és a simaizomzat közötti információcsere. Az egyre bővülő tudásunk pedig lehetőséget teremthet a húgyhólyagbetegségek etiológiájának megértésére, illetve az oki terápia kidolgozására is.

Munkám során a patkányhúgyhólyagot, mint állatkísérletes modellt használtam különböző élettani, farmakológiai és terápiás hatások tanulmányozására. Vizsgáltam az adrenerg receptorok altípusait és funkcióit a húgyhólyagkontrakciók szabályozásában, a húgyhólyag spontán kontraktilitásának az életkor szerinti és a húgyhólyagterület-függő módosulásait, valamint egy lehetséges terápiás beavatkozás, a cryoinjury (fagyasztás) hatását.

Kapcsolat a humán húgyhólyag és a patkány húgyhólyag működése között

Az általam vizsgálni kívánt húgyhólyagfunkciók és életkorfüggő változások humán húgyhólyagon történő kivitelezésének nehézségei indokolták, hogy ezen folyamatokat állatmodellen vizsgáljam meg. Napjainkban a két leginkább elfogadott állatmodell a húgyhólyagbetegségek tanulmányozására a patkány és a macska húgyhólyagja. Mivel az életkorfüggő változások sokkal egyszerűbben és olcsóbban tanulmányozhatók patkányokban, ezért ezt a rágcsálót választottam kísérleteim alanyául. Patkány esetén az újszülött állatokban a postnatalis élet korai szakaszában, a vizeletürítést egy somato-visceralis reflex szabályozza. Ez akkor aktiválódik, amikor az anya megnyalja az újszülött perinealis testtájékát. A postnatalis fejlődés során ez a primitív reflex kicserélődik egy akaratlagosan szabályozott vizeletürítést biztosító supraspinalis mechanizmusra, amelynek az alapját egy húgyhólyag eredetű viscerovisceralis reflex jelenti. Patkányokban ez a vizeletürítési reflexben bekövetkező módosulás időben ugyanakkor következik be, amikor a neurotransmisszióban, valamint a húgyhólyag simaizomsejtjeiben is jelentős változások zajlanak. Tudjuk, hogy az egyedfejlődés során mind a serkentő, mind a gátló idegrendszeri mechanizmusok megváltoznak. Míg az egy-kéthetes patkányok húgyhólyagműködését a kolinerg mechanizmusok, addig az idősebb állatok húgyhólyagkontrakcióit leginkább a purinerg folyamatok szabályozzák, amelyeket ráadásul az adrenerg és egyéb hatások (pl. szerotoninerg) is befolyásolhatnak, módosíthatnak.

Fiziológias körülmények között az újszülött patkányokból izolált húgyhólyag képes nagy amplitúdójú, szabályos kontrakciókat létrehozni, amelyek arra utalnak, hogy a húgyhólyag pacemaker aktivitással rendelkezik. Ez azt is jelenti, hogy a húgyhólyag képes a létrehozott elektromos jelet a szerv egészére, rendszerezetten elvezetni. Ez az aktivitás biztosítja, hogy a fejlődésben lévő, központi kontrollal egyelőre még nem rendelkező húgyhólyagban is organizált kontrakciók, és ezáltal a szerv szintjén szabályozott vizeletürítés jöjjön létre. Ezzel szemben a kifejlett állatokból kivett húgyhólyag minimális

amplitúdójú, szabálytalannak tetsző intrinsic aktivitást mutat. Ez a spontán aktivitás típus hozzájárul a húgyhólyag tárolóképességének kifejlődéséhez, és ezáltal az idegi mechanizmusok által szabályozott tökéletes vizeletürítés kialakulásához.

Fontos kiemelni, hogy a patkány húgyhólyag a korai postnatalis élet során az ún. „túlstimulált, overaktív” vagy „fokozott aktivitással bíró, instabil” húgyhólyag (overactive bladder, OAB) képét mutatja. Ez az elváltozás emberben igen gyakran megfigyelhető, fiziológiásan gyermekkorban a húgyhólyag fokozott érzékenysége miatt, esetleg húgyúti-infekció következtében, édesanyákban szülés után, férfiakban prosztatabetegségek kapcsán és harántlézió szövődményeként. Mindezek következtében a patkány húgyhólyag szabályozási folyamatainak feltérképezése, mint állatmodell, alapvető jelentőségű lehet az emberekben kialakuló „túlstimulált” húgyhólyag mechanizmusának megismerésében, és terápiájának továbbfejlesztésében.

Gyermekkorban, az OAB-ben kialakuló akaratlan izomösszehúzódnások az urethra funkciók instabilitásával is együtt járnak, ezért gyakran a gyermekkori OAB-t, mint instabil húgyhólyagműködést írják le. A gyermekkorban megjelenő OAB három egymástól különböző pathológiai okra vezethető vissza: neurológiai, anatómiai és funkcionális.

A gyermekkori OAB hátterében leginkább a húgyhólyagürítés dysfunctioi állnak. Az anatómiai elváltozás nélküli *funkcionális eredetű* problémák, mint például vizeletelvezető rendszer visszatérő infekciói, ugyancsak fokozzák a húgyhólyag aktivitását azáltal, hogy a gyulladás a húgyhólyagfalban kialakuló spontán kontrakciók frekvenciáját és erejét megnöveli. Az akaratlagos vizeletürítésben bekövetkező viselkedésbeli változások, úgymint a személyes vagy családi stresszhelyzetek, egyaránt vezethetnek nappali és/vagy éjszakai akaratlan vizeletürítéshez. Akár OAB-t is létrehozhatnak, csakúgy, mint minden olyan folyamat, amely a húgyhólyag nem megfelelő kiürülésével jár együtt. Ez utóbbi esetekben a húgyhólyagban visszamaradó vizelet visszatérő húgyúti fertőzésekhez, illetve a detrusor izomzat fokozott aktivitásához vezethet.

Célkitűzések

1. Jól ismert a phenylephrin (PE) húgyhólyagkontrakciót fokozó hatása. Ez úgy alakulhat ki, hogy a PE serkenti a prejunctionalis neuronális acetilkolin-(ACh) felszabadulást, vagy fokozza a felszabadított ACh postjunctionalis hatásait a receptoron. Az is ismert, hogy a patkány húgyhólyagban α_{1A} , α_{1B} és α_{1D} adrenerg receptorok egyaránt kimutathatók és farmakológiai módszerekkel azonosíthatók. Az α_{1A} receptor leginkább 5 methyl-urapidil-ra (5-MU), az α_{1D} elsősorban BMY (7378)-ra érzékeny, míg a chloroethylclonidin (CEC) egyaránt hatékony az α_{1B} és a α_{1D} receptoron. Arról azonban nem volt információnk, hogy a PE pre- és postjunctionalis hatásai, többek között az ACh-felszabadulásra kifejtett hatás, mely receptor altípuson alakul ki. Mindezek alapján célunk volt *az adrenerg receptor altípusok lokalizációjának vizsgálata a pre- és a postjunctionalis membránban különböző szubszelektív receptorantagonisták felhasználásával.*

2. A patkányoknál a korai postnatalis korban a spontán húgyhólyagkontrakciók igen érdekes és változatos képet mutatnak. Mint már korábban említettem, a néhány napos állatokban kezdetben még nincs kimutatható spontán aktivitás, majd egy reguláris, alacsony frekvenciájú húgyhólyagkontrakciós hullám mutatható ki. A néhány hetes állatokban már egy sokkal kaotikusabb, rendszertelenebb, kis amplitúdójú és nagyobb frekvenciájú spontán kontrakciók figyelhetők meg. Ezeknek a változásoknak a hátterét valószínűleg a szerv fejlődésében kell keresnünk. Célunk volt ezért, hogy *a spontán húgyhólyagkontrakciók megváltozásának életkor szerinti és húgyhólyagterület-függését feltérképezzük a korai postnatalis korban.*

3. A húgyhólyagműködés vizsgálatához nem létezett olyan reprodukálható kísérletes modell, amely lehetővé tette a csökkent működésű húgyhólyagaktivitás vizsgálatát. Munkacsoportunk egy olyan akut, invazív

módszer kidolgozását tűzte ki célul, ami a húgyhólyagfal rövid ideig tartó fagyasztással létrehozott sérülését jelentette (cryoinjury). Experimentális körülmények között a fagyasztáson átesett húgyhólyag kontrakciói reprodukálható módon megváltoztak, egy funkciójában csökkent húgyhólyagműködést idézve elő. Ez a módszer az experimentális felhasználhatóságon túl terápiás lehetőséget is jelenthet, hiszen az alkalmazandó kezelés detrusor izomzatra kifejtett hatása közvetlenül lemerhetővé vált a módszer segítségével. A fagyasztás ilyen jellegű felhasználása már korábban bevezetésre került, hiszen kimutatták a módszer hatékonyságát a myocardialis infarctuson átesett betegek myoblast transzplantációs terápiájának tesztelésében. A fagyasztásos sérülés alkalmazhatóságát különböző vázizombetegségek esetén is igazolták. *Kísérleteinkben arra kerestünk választ, vajon a módszer alkalmazható-e a simaizom kontraktilitás kontrollált megváltoztatására.*

Módszerek

Kísérleti állatok

Minden bemutatásra kerülő kísérletben Sprague-Dawley patkányokat használtunk. A receptortipizáló kísérletekhez legalább 7 hónapos (350-450 g), a spontán kontrakciós mérésekhez 3-35 napos, míg a fagyasztásos kísérletekhez hozzávetőleg 4-5 hónapos (250-350 g) állatokból izoláltuk a húgyhólyagokat.

A patkányhúgyhólyag izolálása

A hasfal megnyitását követően a húgyhólyagokat kiemeltük, és ezekből izomgyűrűket (2-4 db) készítettünk a szerv horizontális átmetszésével. A spontán kontrakciós méréseknél különösen ügyeltünk arra, hogy a húgyhólyag alsó (továbbiakban bázis) és felső (továbbiakban kupola) részéből elkészített izomgyűrű közel azonos nagyságú legyen. Legvégül az izomgyűrűk saggitalis átmetszésével izomcsíkokat állítottunk elő, amiket egy 5 ml térfogatú duplafalú mérőkádban 37°C-on tartott Krebs-oldatba (mM-ban: 113 NaCl; 4,7 KCl; 1,25 CaCl₂; 1,2 MgSO₄; 25 NaHCO₃; 1,2 KH₂PO₄; 11,5 glukóz) helyeztünk, és 5% CO₂-t tartalmazó oxigénnel folyamatosan buborékoltattuk.

Fagyasztás

A patkányokat tiszta oxigénben oldott 2 %-os halothánnal elaltatva a hasfalat a kismedencénél a középvonalban átmetszettük. A szövetkárosítás egy -40 °C-ra lehűtött 8 mm átmérőjű alumínium pálcával történt oly módon, hogy azt az 1 ml fiziológiás sóoldattal feltöltött húgyhólyag szerózus felszínén tartottuk 30 másodpercig. A beavatkozást követően öt nappal elvégzett kísérletekhez két állatcsoportot használtunk: (1) fagyasztáson átesett, valamint (2) sham operált (kontroll) állatokat.

Kontraktilitás mérés és kísérleti protokollok

A Krebs-oldatban lévő izomcsíkok kezdeti feszülését 10 mN-ra állítottuk be. Az egyensúlyhoz szükséges negyven percnél hosszabb várakozás után az izometriás kontrakciók jelét transzduceren keresztül egy számítógépes program segítségével regisztráltuk (Windaq, DATAQ Instruments Inc, Akron, OH, U.S.A). Az elektromos téringerlést Grass 88 stimulátorral (Grass, ASTROMED, RI, U.S.A.) idéztük elő. A stimulátorhoz kapcsolt platinaelektrodákat a mérőkád alsó és felső szájadékán keresztül juttattuk a mérőkád üregébe, ahol az elektróda távolságot 4 cm-re állítottuk be. Minden kísérlet kezdetén egy ingerintenzitásválasz görbét vettünk fel (20 Hz és 0,25 ms pulzusszélesség), majd a maximális választ létrehozó intenzitás 50%-át használtuk a kísérletekben különböző ingerlési frekvencia és ütésszám mellett. A mintavételezési gyakoriság 20-100 Hz volt. A görbék kiértékelését a WindaqEx (DATAQ Instruments Inc, Akron, OH, U.S.A) program segítségével végeztük, és az eredményeket izomtömeg egységre korrigáltuk. A spontán kontrakciók tanulmányozásakor a kezdeti, viszonyítási alapként vett kontroll kontrakciók regisztrálása után carbacholt (CCh) alkalmaztuk 30-40 percen keresztül. Ezután a szert kimostuk, és a spontán kontrakciók visszatérése után vagy tetrodotoxint (TTX), vagy atropint alkalmaztunk.

Acetil-kolin-felszabadulás mérése

A szövetdarabokat 1 ml 5 μ Ci/ml rádióaktivitással bíró ³H-kolin-t tartalmazó 37 °C-os Krebs-oldatba helyeztük, és folyamatosan 5%-os CO₂-t tartalmazó oxigénnel buborékolattuk. Az inkubáció után az izomdarabokat oxigenizált Krebs-oldattal 60 percen keresztül, 0,3 ml/min sebességgel folyamatosan perfundáltattuk. Ezután a kifolyó folyadékot 3 percen keresztül gyűjtöttük a kontroll érték meghatározásához. Az összes alkalmazott farmakont, a CEC kivételével, 15 perccel az ingerlés megkezdése előtt adtuk a perfúziós oldathoz, és a kísérlet végéig benne is tartottuk. A CEC-et tartalmazó kísérleteknél a szert az ingerlés megkezdése előtt 30 perccel kezdtük el

alkalmazni, és 15 perc elteltével kimostuk. Amikor PE-t is alkalmaztunk, akkor azt a CEC kimosása után adtuk az oldathoz. Az elektromos téringerlést (10 Hz, 100 ütés, 100 V, 0,25 ms pulzusszélesség) ugyancsak Grass S-88 stimulátorral végeztük. Az izomdarabokat egyszer (WB 4101 kísérletek) vagy kétszer (CEC kísérletek) ingereltük ezekkel a paraméterekkel. Amikor kettős ingerlést alkalmaztunk, akkor a két ingerlés között eltelt idő 50 perc volt. A lecsurgó folyadék rádióaktivitását Optifluor szcintillációs reagens (Packard Industries) és Beckman Spectrometer (Model 5801) segítségével határoztuk meg. A rádióaktivitás teljes mennyiségének meghatározását a kísérlet befejezése után végeztük el. A minták rádióaktivitását a szövet százalékában adtuk meg. Az ingerlés hatására felszabaduló ACh mennyiséget a nem ingerelt szövetben mérhető ACh-felszabadulással korrigáltuk. A farmakonok hatását a farmakon alkalmazása utáni ingerlést követő rádióaktivitás és az adagolást megelőző ingerlés alatt mért rádióaktivitás hányadosaként értelmeztük.

A spontán kontrakciók analízise

Az izomdarabok spontán kontrakcióit a 1) gyors Fourier-transzformációs algoritmussal, 2) nemlineáris kereszt-predikációs teszttel (NLCP), 3) renormalizált Shannon-entropiával, és 4) az approximált entropia teszttel (ApEn) vizsgáltuk. Az adatok kiértékeléséhez a WindaqEx, a Microsoft Excel, a Microcal Origin, valamint saját készítésű (Bondarenko és Barta-által készített) programokat alkalmaztuk. A frekvenciaanalízishez a FFT hanning változatát használtuk. Minden analízisnél a görbék frekvenciamegoszlási diagramjait 16384 adatpontból határoztuk meg.

A kontrakciós görbék regularitásának vizsgálatához három nemlineáris matematikai analízist alkalmaztunk: az NLCP-t, a renormalizált Shannon-entropiát, valamint az ApEn-t, amelyekhez véletlenszerűen kiválasztott, egymást követő 4500 adatpontot használtunk fel. A rendszer komplexitásának megváltozását korrelációs fraktál-dimenzió algoritmus segítségével határoztuk meg. A lineáris, nem-lineáris, valamint az alacsony dimenziójú kaotikus

folyamatok közötti differenciáláshoz egy új matematikai modellt, a NLCP tesztet alkalmaztuk. Ennél a módszernél a sorozat predikcióját (*pred*), valamint az amplitúdó (*ama*) és a frekvencia (*tir*) aszimmetriákat vettük figyelembe. A vizsgált paraméterek közül az *ama* és a *tir* esetében a nagyobb érték a kevésbé rendezett folyamatra utal, míg a *pred* alkalmazásakor minél rendezettebb egy folyamat annál közelebb van a predikció értéke az egyhez, a hipotetikus maximumhoz. Mivel az NLCP analízist korábban nem használták fel biológiai rendszerek vizsgálatánál, ezért az adatokat egy tradicionálisabb módszerrel az amplitúdótól független Shannon-entrópiával is megvizsgáltuk, amelyet már kardiológiai és neurológiai adatok kiértékelésénél korábban is alkalmaztak. A folyamat entrópiáját ugyancsak ellenőriztük egy másik analízis, az ApEn segítségével, amely módszer ugyancsak használatos a biológiai rendszerek entrópiájának meghatározásához.

Statisztikai módszerek

A bemutatásra kerülő adatoknál az átlag és standard hiba értékeiket, valamint az esetszámot tüntettük fel. A kísérletek eredményeinek kiértékelésénél vagy varianciaanalízist vagy Student-féle t-próbát, (Graphpad, San Diego, CA, U.S.A. és Microcal Origin) alkalmaztunk. Minden esetben a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikáns eltérésnek.

Eredmények

Az adrenerg receptorok vizsgálata

A phenylephrin válasz időfüggése

Mivel a PE kumulatív dózis-hatás görbe vizsgálatához a szer tartós (1-2 óra) adagolása volt szükséges, ezért először az elnyújtott PE adagolás által kiváltott hatások stabil voltát vizsgáltuk meg mind a téringerléssel előidézett hólyagkontrakciók esetében, mind pedig a bazális izomtónusnál. A 7 percenként kiváltott izomkontrakciókat rövid (10 inger, 20 Hz), vagy hosszú (100 inger, 20 Hz) stimulációval idéztük elő. A kontroll válaszok regisztrálása után 8 μM PE-t adtunk az izomhoz, aminek következményeként a kiváltott kontrakciók amplitúdói 30-50 %-kal növekedtek, miközben a bazális tónus 3-6 mN-ra emelkedett. Az izomdarabokat PE jelenlétében további 125 percen keresztül ingereltük. Az idő előrehaladásával egyre csökkent az izmok kezdetben megemelkedett bazális tónusa, azonban a téringerléssel (100 inger, 20 Hz) kiváltott kontrakciók változatlanok maradtak.

Az α_{1A} adrenerg receptorok specifikus gátlószereinek hatása a phenylephrin-által serkentett idegi kontrakciókra, valamint a bazális tónusra

Elsőként megvizsgáltuk a PE hatását a téringerléssel kiváltott izomkontrakciókon (20 Hz, 10 ütés, koncentráció tartomány 0,5-32 μM), illetve meghatároztuk a PE kumulatív dózis-hatás görbáját. Ezután a kísérletet megismételtük az α_{1A} adrenerg receptor szelektív gátlószereinek (5-methylurapidil (5-MU); Rec15/2739 és WB-410) jelenlétében is. A PE dózis-hatás görbéje az 5-MU koncentrációjától függően jobbra tolódott el. Az általunk is alkalmazott három szer hatása a PE dózis-hatás görbéjére az irodalmi adatok szerint különböző: Rec15/2739 a leghatékonyabb, az 5-MU a legkevésbé hatékony. Az irodalmi adatoktól eltérően, méréseink alapján a PE által kiváltott

kontrakciókra kifejtett hatásukban nem találtunk lényeges különbséget, ami a hatás kompetitív voltára utalhat. A PE által kiváltott bazális tónus emelkedést az 5-MU meggátolta, az IC_{50} értéke $48 \pm 12,5$ nM (n=6) volt. A PE mediálta elektromos ingerrel kiváltott kontrakcióknál az 5-MU hatása még ennél is alacsonyabb értéknél következett be, az IC_{50} értéke $10 \pm 1,5$ nM (n=8; $P < 0,05$) volt.

A chloroethylclonidin hatása a pre- és postjunctionalis phenylephrin válaszra

A kísérletek következő fázisában a húgyhólyag darabokat 30 percen keresztül különböző koncentrációjú (2,5-50 μ M) CEC oldatban kezeltük elő, majd kimostuk a szervkádból, mivel a CEC egy irreverzibilis α adrenerg receptor gátlószer, amelynek a hatása kifejezettebb az $\alpha_{1B/1D}$ receptorokon, míg az α_{1A} receptorokon a szernek nincs számottevő hatása. A CEC kezelést követően a PE által serkentett idegi kontrakciókban nem találtunk csökkenést, míg CEC alkalmazásakor a PE által fokozott bazális tónus emelkedés 90%-al csökkent.

A CEC 2,5-20 μ M-os koncentrációtartományban ugyancsak koncentráció függő módon növelte a téringerléssel kiváltott kontrakciók amplitúdóját ($47,2 \pm 8,4$ %; n=8, 20 μ M-os CEC koncentrációnál) és a görbe alatti területet (261 ± 33 %; n=8, 20 μ M-os CEC koncentrációnál). A muscarinos ACh-receptor gátló atropin (1 μ M) csökkentette a CEC kezelt preparátumokban a téringerléssel kiváltott kontrakciók amplitúdóját és a görbe alatti területet is. Az atropin hatása sokkal kifejezettebb volt a CEC kezelt preparátumon, mint a kezeletleneken. A 15 perccel a CEC adagolás előtt alkalmazott 5-MU (10-100 nM) nem befolyásolta a CEC által fokozott kontrakciókat, ami arra utal, hogy a CEC által fokozott kontrakció független a prejunctionalis α_{1A} receptorok aktivációjától.

Az α_{1A} és $\alpha_{1B/1D}$ receptorok gátlásának hatása a phenylephrin által fokozott acetilkolin-felszabadulásra

Korábbi adatokból ismert, hogy az α adrenerg receptorok serkentése növeli a neuronális ACh-felszabadulást. A PE indukált ACh-felszabadulást az $\alpha_{1B/D}$ gátló CEC (20 μ M) és az α_{1A} inhibitor WB-4101 (100 nM) jelenlétében is megvizsgáltuk. A CEC esetében az eddigiektől különböző ingerlési mintázatot alkalmaztunk: a szerhatás vizsgálatához az izomdarabokat kétszer ingereltük (S1 és S2), azonban a második ingerlés előtt az oldathoz CEC-t adtunk és 30 percen keresztül benne tartottuk. CEC kimosása után PE-t (2 μ M) adtunk a perfúziós oldathoz. Egyrészt az ACh-felszabadulás CEC hatására tovább emelkedett ($P < 0,05$), ami jó összhangban van a kontraktilis eredményekkel. Másrészt, egy α_{1A} adrenerg receptor gátlószer, a WB-4101 (100 nM), ami bár önmagában nem befolyásolta az ACh-felszabadulást, azonban képes volt gátolni a PE által serkentett neuronális ACh-felszabadulást.

A spontán kontrakciók vizsgálata

Az újszülött patkány húgyhólyag spontán kontrakciók amplitúdó és frekvencia értékeinek vizsgálata

Az 1-5 napos állatokból izolált húgyhólyagdarabokban a spontán izomaktivitás nem volt kimutatható. Ezzel szemben a 6-7 napos állatok húgyhólyagdarabjainak felében egy alacsony amplitúdójú, lassú spontán aktivitást lehetett kimutatni ($n=4$). Ezen húgyhólyagkontrakciók amplitúdója (0,1-2 mN) és frekvenciája teljesen szabálytalan volt. Sokkal szabályosabb és nagyobb amplitúdójú (0,1-4 mN) spontán húgyhólyagaktivitás mutatható ki a 2 hetes állatokban ($n=15$).

A továbbiakban a kontrakciós görbékből a gyors Fourier-transzformáció (FFT) felhasználásával elkészítettük a görbék FFT spektrumát, ezáltal meghatároztuk a kontrakciós hullámok domináns frekvenciáját, illetve

frekvenciáit. A 2 hetes állatokból izolált húgyhólyagdarabkák esetén csupán egyetlen domináns frekvenciát sikerült kimutatni, ami azonban szignifikánsan ($P < 0,05$) gyorsabb volt a húgyhólyag bázison ($0,21 \pm 0,03$ Hz), mint a kupola területén ($0,08 \pm 0,01$ Hz). A 3-4 hetes állatok ($n=14$) húgyhólyagdarabkái nagyon érdekesen viselkedtek. Már a regisztrált görbéken is látható, hogy két egymástól különböző görbe összegződéseként alakultak ki. A kontrakciós görbe egyrészt egy alacsonyabb amplitúdójú ($< 0,5$ mN) és nagyobb frekvenciájú (*gyors komponens*, $0,43 \pm 0,07$ és $0,41 \pm 0,05$ Hz, bázis és kupola, $P > 0,05$), másrészt pedig egy nagyobb amplitúdójú (2-7 mN), de alacsonyabb frekvenciájú (*lassú komponens*, $0,14 \pm 0,03$ és $0,1 \pm 0,01$ Hz, bázis és kupola, $P > 0,05$) görbe összegeként jött létre. A gyors komponens a bázis izomdarabkák 70 %-ánál, illetve a kupola izomdarabok 20 %-ánál volt kimutatható.

Mivel a 3 és a 4 hetes állatok spontán kontrakcióiban nem találtunk különbséget, így a továbbiakban négy állatcsoportot különböztettünk meg: 1 hetes (3-7 napos), 2 hetes (8-15 napos), 3-4 hetes (16-28 napos), illetve 5 hetes (29-35 napos) patkányokat. Az 5 hetes állatokból ($n=13$) származó húgyhólyagdarabok több mint 70%-ánál szintén kimutatható volt mind a gyors, mind a lassú komponens, azonban ez utóbbi amplitúdója 1-2 mN-ra csökkent. A kontrakciós görbe FFT spektrumán a lassú komponens magnitúdója csökkent, és a gyors komponens vált dominánssá.

A tetrodotoxin és az atropin hatása a patkány húgyhólyag spontán kontrakcióinak amplitúdó és frekvencia értékeire

A továbbiakban megvizsgáltuk, hogy kimutatható-e kapcsolat a spontán kontrakciók és a húgyhólyagot beidegző neuronális rendszer között. Ezt legegyszerűbben az idegsejtek TTX-el ($1 \mu\text{M}$) történő gátlásával lehetett tanulmányozni. Az alkalmazott TTX-nek egyik életkorban sem volt kimutatható hatása a húgyhólyag darabok spontán kontrakcióinak amplitúdó és frekvencia értékeire ($n = 6$, a 2-3 hetes patkánycsoportnál, $n = 9$, a 4-5 hetes patkánycsoport esetén).

További kérdésként adódott az is, hogy bár az előzőekben bemutatott kísérletek alapján a neuronális rendszernek nincs számottevő hatása a spontán kontrakciókra, de vajon az ACh, mint neurotranszmitter képes-e befolyásolni a spontán húgyhólyagaktivitást.

Jól ismert az atropin azon hatása, hogy képes gátolni az ACh hatását a muscarinos acetilkolin receptoron. A regisztrált kontrakciós görbén is megfigyelhető már az atropin (1 μ M) hatására bekövetkező amplitúdó csökkenés, ami a 2-3 hetes patkányokban átlagosan 65 ± 8 %-os volt a kupola és 39 ± 15 %-os a bázis területén (n = 9). Az atropin sokkal kevésbé volt hatásos a spontán kontrakciókra a 4-5 hetes állatokból származó húgyhólyagdarabok esetén, mivel az amplitúdó csökkenés átlagosan 23 ± 6 %-os volt a bázis és mindössze 8 ± 3 %-os a kupola területén (n = 11), amely azonban szignifikáns eltérést ($P < 0,05$) jelent a két húgyhólyagterület között.

Az atropin csökkentette az izmok bazális tónusát is. Ez a hatás ugyancsak kifejezettebb volt a 2-3 hetes állatok esetén (63 ± 10 %, 58 ± 9 %, kupola és bázis) a 4-5 hetes állatokon kapott értékekhez hasonlítva (22 ± 6 %, 44 ± 5 %, kupola és bázis).

Carbachol hatása a patkány húgyhólyag spontán kontrakcióinak amplitúdó és frekvencia értékeire

A kolinerg receptor agonista CCh (1 μ M) alkalmazásakor először a húgyhólyagizomzat nagyfokú tónusos kontrakciója alakult ki minden vizsgált életkorban, majd ezt követően a spontán kontrakció amplitúdójának és frekvenciájának változása is kimutatható volt.

Az 1 hetes állatokból származó húgyhólyagdarabok 60%-ában a CCh facilitálta a spontán kontrakciók kialakulását. A kontrakciók lassú komponensének csúcshékvenciája szignifikánsan ($P < 0,05$) magasabb volt (minden vizsgált életkorban) a húgyhólyagbázis izomdarabokon ($0,21 \pm 0,03$ Hz-től $0,41 \pm 0,08$ Hz-ig) a kupola izomdarabokon meghatározott értékekhez viszonyítva ($0,08 \pm 0,01$ -től $0,23 \pm 0,03$ Hz-ig). A kontrakciók gyors

komponense CCh alkalmazását követően kimutathatóvá vált már az 1-2 hetes állatok esetében is a húgyhólyagbázis izomzatán, viszont továbbra sem volt kimutatható a kupola izomzaton. Carbachol alkalmazásakor, a CCh mentes értékekhez hasonlóan szignifikánsan ($P < 0,05$) nagyobb volt a lassú komponens frekvenciája a húgyhólyagbázis izmokban a kupolaizomzathoz viszonyítva.

A 2 hetes állatokban a CCh növelte a lassú komponens frekvenciáját a húgyhólyagbázis izomdarabokon, de hatástalan volt a kupola területéről származó izmokon. Az 1-2 hetes állatokban a CCh növelte a gyors komponens frekvenciáját is a bázis izomdarabokon, de nem volt hatása a kupola izomdarabokra. A 3-4 hetes patkányok esetén a CCh ugyancsak szignifikánsan fokozta a lassú komponens frekvenciáját a bázis izmokon, míg hatástalan volt a kupola területén. Az 5 hetes patkányoknál a szer nem befolyásolta a lassú komponens frekvenciáját egyik területről származó izmokon sem ($0,19 \pm 0,04$ és $0,16 \pm 0,04$ Hz, bázis és kupola, $P > 0,05$). A 3-4, valamint 5 hetes patkányok húgyhólyagdarabjainál alkalmazott CCh növelte a gyors komponens frekvenciáját, ráadásul szignifikánsan különböző gyors komponens hozott létre a bázis és a kupola izomdarabjain ($0,75 \pm 0,08$ és $0,58 \pm 0,07$ Hz, bázis és kupola, $P < 0,05$). Ez a különbség a CCh-al nem kezelt húgyhólyagban nem volt kimutatható.

A spontán kontrakciók nemlineáris analízise

A húgyhólyag spontán kontrakciós aktivitásának mintázatát NLCP teszt segítségével vizsgáltuk meg a különböző életkorú patkányok esetében. Az 1 hetes állatcsoport 13 egyedet tartalmazott, azonban a spontán izomkontrakciók csak 3 patkány esetében voltak észlelhetőek (5-7 napos patkányok). Az alacsony esetszám miatt az 1 hetes állatcsoport NLCP értékei az ábrán nem kerültek bemutatásra, azonban a kontrakciók jól láthatóan szabályosak voltak, amit az individuális görbék NLCP analízise is alátámasztott, hiszen az *ama* és *tir* értékek nullához közeli értékeket mutattak, miközben a predikciós szám (*pred*) közel 1 volt, ami reguláris kontrakcióra utalt. A 2 hetes húgyhólyagok esetén a *pred*

értékében a bázis izomdaraboknál ($0,93 \pm 0,03$) nem tapasztaltunk számottevő változást az 1 hetes értékekhez viszonyítva. Ezzel szemben a *pred* csökkent a kupola izomdarabok esetén ($0,75 \pm 0,04$) utalva a regularitás csökkenésére. Az irregularitás növekedésére az *ama* és a *tir* analízis adott választ, miszerint az egyedi kontrakciók amplitúdó és frekvencia variabilitása sokkal kifejezettebb a kupola izmokban (*ama*: $0,27 \pm 0,07$, *tir*: $0,074 \pm 0,015$) mint a bázisizomzatban (*ama*, $0,15 \pm 0,03$, *tir*, $0,037 \pm 0,017$). A 3 hetes állatokban az amplitúdó variabilitás tovább csökkent (*ama*, $0,13 \pm 0,03$ és $0,1 \pm 0,04$, kupola és bázis), a frekvencia variabilitás viszont növekedett. Az *ama* további csökkenése és a *tir* emelkedése volt kimutatható a 4-5 hetes állatok esetében is, de a *tir* növekedés sokkal kifejezettebbnek bizonyult a kupola izomzat kontrakcióin. Az 5 hetes állatokból izolált húgyhólyagdarabok esetén a kontrakció regularitását leíró *pred* paraméter csökkent a kupola izmokon, ami fokozott irregularitásra utal. Ennek az oka az, hogy a kontrakciók közötti időintervallumok variabilitása szignifikánsan ($P < 0,05$) növekedett ($0,07 \pm 0,02$ a 2 hetes húgyhólyagokban, míg $0,15 \pm 0,024$ az 5 hetes húgyhólyagokban). További érdekes megfigyelés volt az, hogy a regularitásban megfigyelt különbségek a kupola és a húgyhólyagbázis között megszűntek 1 μM CCh alkalmazását követően.

Az adatokat egy sokkal tradicionálisabb módszerrel, a Shannon-entrópia analízissel is megvizsgáltuk. Ennek a módszernek az amplitúdótól független formáját, a renormalizált-Shannon-entrópiát használtuk. A húgyhólyagdarabok kontrakcióinak frekvencia függő komplexitása regulárisabb volt az 1 hetes patkányokban. A renormalizált Shannon-entrópia értéke mind a kupola, mind a húgyhólyagbázis izomdarabkáinak kontrakciójánál kisebbnek adódott 2-nél. Tudjuk, hogy a renormalizált Shannon-entrópia esetén a nagyobb entrópia értékek jelentik a kevésbé szabályos folyamatokat. Az idősebb állatokból származó izomdaraboknál a Shannon-entrópia értéke szignifikánsan növekedett utalva arra, hogy az alacsony komplexitású szinkron izomaktivitás eltűnt és a 3-5 hetes patkány húgyhólyagokban egy komplex, aszinkron izomaktivitás alakult ki. Ebben az életkorban az entrópia értéke elérte a 3-t. További érdekesség, hogy

nem volt szignifikáns az eltérés a kupola és a bázis entrópiák tekintetében egyik életkorban sem. Az entrópia értékek életkorfüggése azonban megszűnt 1 μM CCh alkalmazásakor. Hasonló eredményt kaptunk akkor is, amikor egy új entrópia módszert, az ApEn-t használtunk a görbék analíziséhez.

A fagyasztás hatása a húgyhólyag funkciójára

A fagyasztás hatása a teljes húgyhólyag működésére

A fagyasztást követően öt nappal a beavatkozás helyén hegképződést tudtunk kimutatni. A makroszkópos kép és a peritonealis letapadás alapján a húgyhólyag gyulladását valószínűsítettük. Mindezt alátámasztotta a mikroszkópos kép is, hiszen az érintett területen fibrózist és fehérvérsejt infiltrációt láttunk. Azok az izomszövet darabok, amelyek a fagyasztott területről származtak, nem voltak ingerelhetők sem elektromosan, sem a purinoreceptorokat serkentő α - β -metilén-ATP (α - β -mATP) adagolása által. Ezzel szemben azon izomdarabok, amelyek 2-3 mm-re a sérüléstől helyezkedtek el, már képesek voltak összehúzódnival.

A különböző ingerfrekvenciák hatása az ép és a fagyasztást elszenvedett húgyhólyagban

A húgyhólyagból izolált izomdarabokat különböző frekvenciájú (1-40 Hz) és ütésszámú (10 és 80) ingerekkel stimuláltuk. Ahogy a korábbiakban is megfigyelhető volt a kolinerg kontrakciók sokkal kifejezettebbek voltak a purinerg kontrakciókhoz viszonyítva akkor, amikor hosszabb ingerlést (80 inger) használtunk. A sérült húgyhólyagdarabok szignifikánsan alacsonyabb kontrakciós erőt tudtak kialakítani, mind a rövid, mind a hosszú ingerlés hatására. Rövid ingerlést (10 inger) alkalmazva 10 és 40 Hz közötti stimuláció esetén az erő kifejtésben bekövetkezett különbség állandó volt az ép és a fagyasztott húgyhólyagdarabok között. Ezzel ellentétben hosszú ingerlés esetén

(80 ütés) a két húgyhólyagpopuláció kontrakciós ereje közötti különbség frekvencia függően növekedett.

A maximális kontrakció és relaxáció az ép és a fagyasztást elszenvedett húgyhólyagban

A kontrakció kialakulás sebességének csúcsértékét az erőgörbék idő szerinti első deriváltjának ($\text{mN/g} \cdot \text{dt}$) pozitív csúcsából, míg a relaxáció sebességét a derivált negatív csúcsából határoztuk meg. Mind a kontrakció, mind a relaxáció csökkent, valamint a hozzájuk tartozó sebesség értékek lelassultak a sértett húgyhólyagban. Megfigyelhető, hogy ezek a változások függetlenek voltak az ingerlés paramétereitől.

Az atropin hatása a kontrakcióra az ép és a fagyasztást elszenvedett húgyhólyagban

A muscarinos receptor gátló atropin ($1 \mu\text{M}$) téringerléssel kiváltott (20 Hz, 80 stimulus) neuronális kontrakciókra kifejtett hatásait 15 perccel a szer adagolásának elkezdése után teszteltük. Bár az atropin mind az egészséges, mind a fagyasztáson átesett húgyhólyagdarabokban gátolta a neuronális kontrakciókat, a hatás sokkal kifejezettebb volt a sértett húgyhólyagok esetén.

Az α - β -mATP hatása a kontrakcióra az ép és a fagyasztáson átesett húgyhólyagban

Lehetőségünk volt a purinerg kontrakciók vizsgálatára is, melyek során az atropin adagolását α - β -mATP-vel is kiegészítettük. Az α - β -mATP sokkal effektívebben csökkentette a sértett húgyhólyagok kontrakciós paramétereit a kontroll értékekhez viszonyítva.

Összefoglalás

Az α_1 adrenerg receptorok altípusainak feltérképezése a patkány húgyhólyagban

Patkány húgyhólyagból készített izomdarabokban vizsgáltuk az elektromos téringerléssel kiváltott neuronális izomkontrakciókat, valamint a 3H-ACh-felszabadulást. Az α_1 agonista phenylephrin (PE) fokozta az idegingerléssel kiváltott kontrakciók amplitúdóját, serkentette az ACh-felszabadulást, valamint növelte a húgyhólyagdarabok bazális tónusát. Az alacsony koncentrációban alkalmazott specifikus α_{1A} antagonisták, 5-methylurapidil (5-MU), REC15/2739 és a WB-4101 kompetitíven gátolta a PE-által fokozott kontrakciókat. A WB-4101 (100 mM) gátolta a PE-által fokozott ACh-felszabadulást. Az irreverzibilis α_{1B} antagonistá chloroethyl-clonidin (CEC) csökkentette a PE-által fokozott bazális tónus növekedést, azonban hatástalan volt a PE-által megnövelt kontrakciókra és az ACh-felszabadulásra. A CEC növelte az idegingerléssel kiváltott kontrakciók amplitúdóját és a kontrakciós görbe alatti területet. Az atropin szignifikánsan gátolta a CEC ezen hatásait, utalva arra, hogy a CEC fokozza az idegingerléssel kiváltott kolinerg válaszreakciót.

Összefoglalva, azt találtuk, hogy az α_{1A} és az $\alpha_{1B/1D}$ adrenerg receptorok a húgyhólyag különböző területein található meg patkány húgyhólyagban. Az α_{1A} adrenerg receptorok a kolinerg idegvégződésben a prejunctionalis facilitációban játszanak szerepet, míg az α_{1B} vagy α_{1D} adrenerg receptorok közvetlenül a simaizomkontrakciókat szabályozzák. Ezek a hatások sokkal kifejezettebbek az idősebb állatokban. A humán húgyhólyagban α_{1A} és α_{1D} adrenerg receptorok ugyancsak kimutathatóak. Mivel egyes elképzelések szerint az 1 típusú α adrenerg receptorok szignifikáns szerepet játszhatnak az obstruktív, valamint a neurogén húgyhólyagban kialakuló hyperaktivitásban, ezért a receptorok lokalizálása, a húgyhólyagkontrakciós folyamatban, valamint

a prejunctionalis és postjunctionalis folyamatokban játszott szerepének tisztázása elengedhetetlen az élettani, valamint patofiziológiai történések megértéséhez. Ugyancsak fontos a receptorok pontos helyének feltérképezése a prejunctionalis α_{1A} és postjunctionalis α_{1B} és α_{1D} receptorokon ható antagonisták szerepének kifejtéséhez, hiszen más-más esetben alkalmazható terápiás szer fejleszthető ki a receptor-altípusok lokalizációjának és funkciójának ismeretében.

A húgyhólyagban kialakuló spontán kontrakciók vizsgálata

A húgyhólyag spontán működésének postnatalis változását vizsgáltuk 1-5 hetes patkányokból származó húgyhólyag alsó (bázis) és felső (dóm) izomdarabokon. Az izomaktivitást gyors Fourier-transzformáció, valamint nemlineáris tesztek felhasználásával vizsgáltuk. A spontán izomkontrakciók nem voltak kimutathatók az 1-5 napos állatok esetén, míg a 6-7 napos állatok 50%-ában már kimutathatókká váltak. A FFT analízis egy frekvenciacsúcsot mutatott, ami azonban szignifikánsan nagyobb volt a bázis esetében. Egy második csúcs jelent meg a 3–5 hetes állatoknál. Az atropin csökkentette, miközben a TTX nem változtatta meg a spontán kontrakciók amplitúdóját. Ezzel szemben a muscarinos agonista CCh serkentette a spontán izomaktivitást. A bemutatott adatok arra utalnak, hogy a korai postnatalis életben regisztrált spontán aktivitás kezdetben lassú. Ennek a folyamatnak a hátterében azok a pacemaker központok koordinált működése áll, amelyek vagy a bázison, vagy a dómon találhatóak meg. Az idősebb állatokból származó húgyhólyagdarabokon megfigyelt gyorsabb aktivitás esetleg arra utal, hogy több egymástól független pacemaker központ fejlődött ki, amelyek lerontva egymás hatását növelik a húgyhólyag vizelettároló kapacitását.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy az újszülött patkány húgyhólyagban ideg ingerlés hiányában nagy amplitúdójú koordinált kontrakciók alakulnak ki, amelyeket modulál a kolinerg idegvégződésekből felszabaduló ACh. FFT analízis azt bizonyította, hogy a húgyhólyagbázison szignifikánsan nagyobb a

spontán kontrakciós aktivitás a kupolához viszonyítva, utalva arra, hogy a nagyobb aktivitás elősegíti a húgyhólyag urethra felőli területének záródását, ily módon megakadályozva a vizelet elfolyását. A kapott eredmények ugyancsak felvetették annak a lehetőségét is, hogy a teljes húgyhólyag kontrakciós válaszában szerepet játszó pacemaker központok leginkább a bázison találhatóak, és az ingerület innen terjed rá a húgyhólyag egészére.

A koordinált, nagy amplitúdójú, alacsony frekvenciájú kontrakciós aktivitás fokozatosan csökken az idősebb állatok esetén, és a kontrakciót felváltja egy alacsony amplitúdójú, nagy frekvenciájú, irreguláris aktivitás, ami a sok pacemaker központ együttes jelenlétére és működésére is utalhat. Ez az intrinsic kontrakciós aktivitásban életkor előrehaladásával kialakuló változás időben akkor következik be, amikor a vizelet ürítése akaratlagossá válik a kísérletes állatokban. A sejtek intrinsic tulajdonságaiban bekövetkező módosulások azt a célt szolgálják, hogy a szervben megjelenjen az érett vizelet tároló-ürítő funkció.

A fagyasztás hatása a húgyhólyag funkciójára

Az altatott patkányok hasfalát megnyitottuk és a húgyhólyag szerózus falán fagyasztásos sérülést hoztunk létre. A beavatkozás után öt nappal a húgyhólyagokat eltávolítottuk és a kimetszett izomdarabokon megvizsgáltuk az idegingerléssel, valamint az α - β -mATP-vel kiváltott kontrakciókat mind a húgyhólyag-operált, mind a „sham” operált állatok esetén. A fagyasztott húgyhólyag esetében csökkent a kontrakciós erő, ami a nagyobb frekvenciájú ingerlés esetén kifejezettebb volt. Az α - β -mATP-vel kiváltott kontrakciós erő szintén csökkent a fagyasztott húgyhólyagnál. Kiegészítésként megemlíthető, hogy az alkalmazott atropin sokkal effektívebben gátolta az idegingerléssel kiváltott húgyhólyag kontrakciókat a fagyasztott húgyhólyag esetében, ami a kolinerg folyamatok dominanciájának növekedésére utal fagyasztást követően. Mindezek alapján megállapítható, hogy a fagyasztás egy olyan reprodukálható eljárás, amely megváltoztatja a húgyhólyag kontraktilitását, beleértve a kolinerg

regulációt is. Ezáltal a módszer egy megfelelő modell, amellyel tanulmányozhatók a megváltozott kontrakciós paraméterek pl. szövetbeültetést követően.

Összefoglalva, a fagyasztás a húgyhólyagkontrakciós rendszerben több változást hozott létre, többek között megváltoztatta a kolinerg és purinerg komponensek arányát az ideg ingerléssel kiváltott kontrakciók tekintetében. Az eredményeink és megfigyeléseink alapján úgy tűnik, hogy a beavatkozás egy reprodukálható és állandó elváltozást hoz létre a húgyhólyagban, ezáltal megfelelő kísérleti háttérrel biztosít a megváltozott húgyhólyag-kontrakciók vizsgálatához, és a megfelelő terápia kifejlesztéséhez.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani a Pittsburghi Egyetem Gyógyszertani Intézet társprofesszorának, Dr. de Groat professzor úrnak, aki lehetőséget biztosított számomra, hogy betekintést nyerhessek a kutatómunka sajtószerű, izgalmas világába, és aki személyisége varázsaival, a számomra olyannyira megtisztelő elnyert barátságával örökre meghatározta életemet. Szeretnék továbbá köszönetet mondani szerzőtársaimnak, akik nélkül nem készülhetek volna el az adott kéziratok. Kiemelném Somogyi professzor úr szerepét, aki bevezetett a húgyhólyag farmakológia rejtélyeibe, valamint Chancellor professzor urat, akinek a személyében egy kiváló urológust ismerhettem meg.

Szeretném megköszönni Oláh professzor asszony türelmét, hiszen hosszas távollétem alatt nélkülözni tudta munkámat, továbbá segítségét. Javasolataival, érdemi megjegyzéseivel lehetővé tette az egyetemi doktori értekezésem megírását.

Végül, de nem utolsó sorban szeretnék köszönetet mondani a családomnak, leginkább gyermekeimnek, akik elviselték, hogy a megnövekedett munka miatt kevesebb figyelmem jutott rájuk. Legvégül ajánlom ezt a Ph.D. értekezést édesanyámnak, akit a kézirat készítése alatt veszítettem el.

Közleménylista

A tézisekhez kapcsolódó *in extenso* dolgozatok (IF az ISI 2005 alapján)

Szell EA, Yamamoto T, de Groat WC and Somogyi GT: Smooth muscle and parasympathetic nerve terminals in the rat urinary bladder have different subtypes of α_1 adrenoceptors. *Br. J. Pharmacol.* 130: 1685-91, 2000. **IF: 3,410 Cit: 25**

Somogyi GT, Yokoyama T, **Szell EA**, Smith CP, de Groat WC, Huard J, Chancellor MB. Effect of cryoinjury on the contractile parameters of bladder strips: a model of impaired detrusor contractility. *Brain Res. Bull.* 59: 23-8, 2002. **IF: 2,481 Cit: 2**

Szell EA, Somogyi GT, de Groat WC, Szigeti GP. Developmental changes in spontaneous smooth muscle activity in the neonatal rat urinary bladder. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 285: R809-16, 2003. **IF: 3,802 Cit: 6**

Szigeti GP, Somogyi GT, Csernoch L, **Szell EA**. Age-dependence of the spontaneous activity of the rat urinary bladder. *J. Muscle. Res. Cell M.* 26(1): 23-9, 2005. **IF: 1,338 Cit: 0**

Összes impakt faktor: 11,031

Összes független citáció: 33

A tézisekhez kapcsolódó idézhető absztraktok

Somogyi GT, **Szell EA**, Yamamoto T, and de Groat WC: The function of alpha-1 adrenoceptors in the bladders of adult and neonatal rats. *Fundam. Clin. Pharm.* 13/Suppl. 1.: 164S, 1999. **IF: 1,717**

Somogyi GT, **Szell EA**, Yamamoto T, and de Groat WC: Smooth muscle and parasympathetic nerve terminals have different subtypes of α_1

adrenoceptors in the rat urinary bladder. *Neurosci. Abstr.* 25: 1170, 1999. **IF: 3,410**

Szell EA, Somogyi GT, de Groat WC and Szigeti GP: Developmental changes in smooth muscle spontaneous activity in the neonatal rat urinary bladder. *Biophysical J.* 78: 671Pos, 2000. **IF: 4,507**

Szigeti GP, Somogyi GT, Csernoch L, **Szell EA**. Age-dependence of cholinergic and purinergic receptors in urinary bladder. *J. Muscle. Res. Cell M.* 26(1): 2005. **IF: 1,338**

Összes Impakt Faktor: 10,972

A tézisek témakörében tartott előadások

Somogyi GT, **Szell EA**, Yamamoto T, and de Groat WC: The function of alpha-1 adrenoceptors in the bladders of adult and neonatal rats. *2nd European Congress of Pharmacology*, Budapest, 1999.

Somogyi GT, **Szell EA**, Yamamoto T, and de Groat WC: Smooth muscle and parasympathetic nerve terminals have different subtypes of $\alpha 1$ adrenoceptors in the rat urinary bladder. *29th Annual Meeting, Society for Neuroscience*, Miami Beach, USA, 1999.

Szell EA, Somogyi GT, de Groat WC and Szigeti GP: Developmental changes in smooth muscle spontaneous activity in the neonatal rat urinary bladder. *Annual Meeting, Biophysical Society*, New Orleans, USA, 2000.

A tézisekhez nem kapcsolódó, egyéb *in extenso* dolgozatok

Bánk J., **Széll E.**, Bedő G., Gesztelyi G., Nagy V.: Transcranial Doppler measurements in migraine and tension type headache. *Clin. Neurology* 48, 173-176, 1995. **IF: 0**

A tézisekhez nem kapcsolódó, egyéb idézhető absztraktok

Jenes A, Ruzsnavszky F, **Szell EA**, Varga A, Somogyi GT, Csernoch L, Szigeti GP. The role of the cholinergic and purinergic interaction in the contraction of the cultured human and rat urinary bladder smooth muscle cells. *J. Muscle. Res. Cell M.* 27(5-7): 2006. **IF: 1,338**

A tézisekhez nem kapcsolódó, egyéb előadások

Széll E, Frank M, Jenes Á, Somogyi GT, Szigeti GP. Patkány húgyhólyag kolinerg és purinerg mechanizmusainak korfüggése. *Magyar Élettani Társaság 69. vándorgyűlése*, Budapest, 2005.

Szigeti GP, Somogyi GT, Csernoch L, **Szell EA**. Age-dependence of cholinergic and purinergic receptors in urinary bladder. (felkért előadás) *XXXIV. European Muscle Conference*, Hortobágy, 2005.

Szigeti GP, Jenes Á, Ruzsnavszky F, **Széll E**, Varga A, Csernoch L. A felnőtt patkány hólyag-kontrakcióinak szabályozása, és modellként való felhasználása. *Magyar Élettani Társaság 70. vándorgyűlése*, Szeged, 2006.

Jenes Á, Ruzsnavszky F, **Széll E**, Varga A, Csernoch L, Szigeti GP. A patkány húgyhólyagműködés szabályozásának életkor- és hólyagterület-függése. *Magyar Élettani Társaság 70. vándorgyűlése*, Szeged, 2006.

Jenes A, Ruzsnavszky F, **Szell EA**, Varga A, Somogyi GT, Csernoch L, Szigeti GP. The role of the cholinergic and purinergic interaction in the contraction of the cultured human and rat urinary bladder smooth muscle cells. *XXXV. European Muscle Conference*, Heidelberg, Germany, 2006.