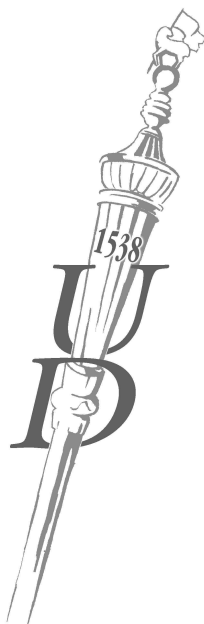


EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**Az inzulin rezisztencia hatása a citosztatikumok okozta
csontvelőtoxicitásra obez és inzulinrezisztens állatmodellekben**

Géresi Krisztina

Témavezető: Dr. Benkő Ilona



DEBRECENI EGYETEM

GYÓGYSZERÉSZETI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2015

Az inzulin rezisztencia hatása a citosztatikumok okozta csontvelőtoxicitásra obez és inzulinrezisztens állatmodellekben

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
a gyógyszerészeti tudományok tudományágban

Írta: Géresi Krisztina, okleveles molekuláris biológus

Készült a Debreceni Egyetem Gyógyszerészeti Tudományok doktori iskolája
(Farmakológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Benkő Ilona, PhD

A doktori szigorlati bizottság:

elnök: Prof. Dr. Tósaki Árpád, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Kiss Attila, PhD
Dr. Kiss Emese, az MTA doktora

A doktori szigorlat időpontja: Debreceni Egyetem GYTK, Gyógyszerhatástani Tanszék
Könyvtára (Elméleti tömb 5. emelet)
2015. február 20., 11 óra

Az értekezés bírálói:

Prof. Dr. Kiss István, az MTA doktora
Dr. Csiki Zoltán, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Tósaki Árpád, az MTA doktora
tagok: Prof. Dr. Kiss István, az MTA doktora
Prof. Dr. Kiss Attila, PhD
Dr. Kiss Emese, az MTA doktora
Dr. Csiki Zoltán, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK, Belgyógyászati Intézet „A”
épület tanterme

2015. február 20., 13 óra

1. BEVEZETÉS

Az elhízás korunk egyik legnagyobb népegészségügyi problémájának tekinthető. Az obesitas gyakorisága 1980 óta megháromszorozódott, az Egészségügyi Világszervezet adatai szerint Földünkön jelenleg 1,1 milliárd túlsúlyos ember él, és legalább 310 millióan súlyosan elhízottak. Az elhízás alapvető befolyással bír az emberek életminőségére és az élettartamára. Az obesitas nem önmagában káros, hanem a legfőbb veszélye abban rejlik, hogy hajlamosít több súlyos betegségekre. A rosszindulatú daganatos megbetegedések a szív- és érrendszeri kórképekkel együtt világszerte vezető haláloki tényezők. Mindkét betegségcsoport kialakulása multikauzális, így a genetikai háttér mellett, számos környezeti tényező is szerepet játszik létrejöttükben. Az utóbbi években figyeltek fel arra, hogy összefüggés van a karcinogenezis és bizonyos kóros metabolikus folyamatok között. Gyarapodnak a bizonyítékok azzal kapcsolatban, hogy a 2-es típusú diabetes mellitus és, a metabolikus szindróma, valamint számos rosszindulatú daganat kialakulása között szoros ok-okozati kapcsolat van. A daganatos megbetegedések halálozása magas, a modern társadalmak halálozási listáján, a kardiovaszkuláris betegségek mögött, a második helyet foglalják el. A magas halálozási ráta ma nem az alapbetegségnek köszönhető, hanem a szövődmények, elsősorban a neutropéniás időszakban kialakuló infekciók tehetők felelőssé érte. Ez a daganatos betegségek vezető haláloka. A csontvelőtoxicitás a kemo- és radioterápia legsúlyosabb, dózislimitáló mellékhatása. A kemoterápiás kezelésben részt vevő betegek 60-70%-ában jelentkezik myelotoxicitás. A betegek 40%-ában az életet veszélyeztető neutropéniával találkozunk, a csontvelő vérképzésének károsodása miatt. Mindezek a myeloprotektív mechanizmusok vizsgálatának fontosságát, és myeloprotektív hatású anyagok klinikai gyakorlatban való alkalmazásának szükségességét mutatják.

Munkacsoportunk korábbi vizsgálatok során, új hatásmechanizmusú myeloprotektív anyagok kutatása közben, igazolta, hogy a roziglitazon, egy inzulin-érzékenyítő vegyület képes mérsékelni az 5-fluorouracil nevű citosztatikum csontvelőkárosító hatását, a későbbiekben bebizonyosodott, hogy ebben az inzulinérzékenyítő mechanizmusoknak van szerepe. Az inzulin vérképzésben betöltött szerepét korábban nem vizsgálták, ugyanis az inzulin hemopoézisre gyakorolt hatását az élő szervezetben számos tényező elfedi, akár helyettesítheti is, azonban a csontvelőt ért károsodás során a szerepe felértékelődhet, és túlélési szignált jelenthet a csontvelőben lévő őssejtek számára. Ha a hemopoetikus őssejtek számára az inzulin hatásának amplifikálása segíti őket a toxikus hatások kivédésében,

elképzелhető, hogy az inzulin rezisztenciával járó kórállapotok kedvezőtlenül befolyásolhatják a regenerációs kapacitásukat.

2. CÉLKITŰZÉSEK

1. Munkám során arra kerestem válaszokat, hogy az obesitas és az elhízáshoz leggyakrabban társult anyagcserezavar, az inzulin rezisztencia hogyan befolyásolja a csontvelői vérképzést fiziológiás körülmények között és befolyásolja-e a carboplatin a citosztatikumok myelotoxicitását, *in vivo*.
2. Vizsgáltam, hogy az ismert farmakokinetikai eltéréseken kívül, farmakodinámiás különbségek lehetnek-e a klasszikus citosztatikumok toxicitásában, vannak-e a célsejtek működésében eltérések obesitasban vagy inzulin rezisztens állapotokban.
3. Arra is kerestem a válaszokat munkám során, hogy az ismert inzulinérzékenyítő vegyület, a roziglitazon, befolyásolja-e a vérképzést normál testsúlyú állatok, illetve elhízott és inzulinrezisztens vagy sovány, de inzulin rezisztens állatmodellekben. Az inzulin rezisztencia rendezésével javítható-e az esetleges csontvelő károsodás mértéke daganatellenes kemoterápia során?
4. új hatásmechanizmusú daganatellenes szerek kutatása, melyek myelotoxicitása a klasszikus citosztatikumokéhoz viszonyítva esetleg kisebb elhízott betegekben.
5. az UD29 (4-tio-uridin-monofoszfát) hatásainak vizsgálata human akut limfocitás leukémia állatmodellben, SCID egerekben *in vivo*.
6. az UD29 terápiás indexének meghatározása a csontvelő granulocita-makrofág progenitor sejteire gyakorolt toxicitást vizsgálva.
7. az UD29 toxikus hatásainak összehasonlítása obesez *db/db* egerek és sovány kontroll párjaik csontvelői granulocita-makrofág progenitor sejtjei esetében.

3. METODIKÁK (ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK)

3.1. Kísérleti állatok

Kísérleteinket az Európai Közösség laboratóriumi állatok tartására vonatkozó útmutatásainak betartásával végeztük. A kísérleti protokollokat a Debreceni Egyetem Állatkísérletes Etikai Bizottsága jóváhagyta (1/2009. DEMÁB).

Kísérleteinkhez 12 hetes hím kontroll ($24,9 \pm 2,5$ g) (C57BLKS/J-*mLep*^{db/+}) és leptin receptor-hiányos *db/db* (C57BLKS/J-*mLep*^{db/mLep}^{db}) ($45,2 \pm 2,7$ g) egereket használtunk fel (Janvier, S.A.S., Le Genest Saint Isle, France). Továbbá a Debreceni Egyetem Klinikai Központ Bőrklinika állatházában steril körülmények között tartott 19-20 hetes nőstény SCID egerek ($23,6 \pm 2,4$ g) felhasználásával történt meg a leukémiás egérmodell kialakítása (Charles River Kft; Budapest, Magyarország). További kísérleteink során a Charles River Kft-től (Budapest, Magyarország) vásárolt, 11-12 hetes hím Wistar (362 ± 19 g), Zucker (428 ± 24 g) és Goto-Kakizaki (305 ± 13 g) patkányokat használtunk fel.

3.2. Humán minták

A Debreceni Egyetem Klinikai Központ II. sz. Belklinikáján, a Hematológiai osztályon fekvő 2 felnőtt beteg- akinél nem a granulopoézist érintő hematológiai betegség gyanúja miatt történt diagnosztikus csontvelő punkció- csontvelő mintájának egy része jelentette a forrást. A betegek beleegyező nyilatkozata esetén a megfelelő mennyiségben nyert diagnosztikus csontvelő mintából a Helsinki Deklarációt betartva kaptunk vizsgálatra csontvelői sejteket.

3.3. JY sejtvonal

A JY sejtvonal a humán B-sejtes limfoid leukémiát reprezentálja. Ennek felhasználásával lehetőség adódott arra, hogy mind *in vivo* SCID egerekbe transzplantálva, mind *in vitro* körülmények között vizsgáljuk a mononukleotid hatását a leukémia stem sejtek kolóniaképző képességére.

3.4. Csontvelő minták

- Humán csontvelő minták kinyerése

A steril körülmények között nyert csontvelőből tartósítószer-mentes heparinnal McCoy's 5A táptalajt 1:1 (v/v) arányban alkalmazva szuszpenziót készítettünk. Ezt a hígított mintát óvatosan Ficoll-ra (specifikus sűrűség= 1,077 g/ml) rétegeztük és a csontvelőt 1000 g

gyorsulást alkalmazva 15 perces gradiens centrifugálással szeparáltuk, elválasztva egymástól a vörösvértesteket és a granulocitákat. A 10% újszülött borjúsvót (Foetal Bovine Serum-FBS) tartalmazó McCoy's 5A táptalajjal a leukocita rétegből óvatosan leszívott, a mononukleáris sejteket (MNC) tartalmazó frakciót centrifugálás közbeiktatásával kétszer mostuk. Mindvégig lamináris fülkében dolgoztunk, ügyelve a steril munkavégzésre.

- Csontvelő minták kinyerése egerekből:

Az állatokat cervikális diszlokációval extermináltuk és a femurt aszeptikus körülmények között eltávolítottuk. A csontvelősejteket steril fecskendő segítségével kimostuk. Vékony tűvel többször áthúзва egy sejtsuszpenziót készítettünk. Az egyedi sejteket McCoy's 5A táptalajban szuszpendáltuk. Mindvégig lamináris boxban dolgoztunk, ügyelve a steril munkavégzésre.

- Csontvelő minták kinyerése patkányokból:

A csontvelősejteket steril fecskendő segítségével kimostuk. A vékony tűt többször áthúзва a combcsonton és átmosva a femurt, egy sejtsuszpenziót készítettünk. Az egyedi sejteket McCoy's 5A táptalajban szuszpendáltuk. Ezt a sejtsuszpenziót óvatosan Ficoll-ra (specifikus sűrűség= 1,077 g/ml) rétegeztük és a csontvelőt 1000 g gyorsulást alkalmazva 15 perces gradiens centrifugálással szeparáltuk, elválasztva egymástól a vörösvértesteket és a granulocitákat. A 10% FBS-t tartalmazó McCoy's 5A táptalajjal a leukocita rétegből óvatosan leszívott, az MNC tartalmazó frakciót centrifugálás közbeiktatásával kétszer mostuk. Mindvégig lamináris fülkében dolgoztunk, ügyelve a steril munkavégzésre.

3.5. Elhízott, inzulinrezisztens állatmodelljeink

Kísérleteinkhez egyrészt a 2-es típusú diabétesz genetikai egérmodelljét használtuk fel. A *db/db* egerekben a 4-es kromoszómán található mutáció meggátolja a leptin receptor expresszióját. A működőképes leptin receptor hiányában a táplálkozási idő megnyúlik a homozigóta egerekben (*db/db*), és a fokozott táplálékbevitel miatt a 2-es típusú diabéteszre jellemző elváltozások alakulnak ki már az állatok 8 hetes korára. Ezek az elváltozások tovább progrediálnak az állat 12-14 hetes koráig, amely életkorban a kísérleteinket elvégeztük.

További kísérleteinkben különböző patkány törzseket használtunk fel. A Zucker obese patkányok az 5-ös kromoszómán levő leptin receptor gén autoszomális recesszív mutációja miatt az inzulin rezisztenciával társuló obezitás megfelelő modelljei. 4-5 hetes korukra elhízhatnak és a humán obezitással társuló 2-es típusú diabetes mellitus minden tünetét, például

inzulin rezisztencia, hiperfágia, hiperlipidémia, hiperkoleszterolémia, izom atrofia, hiperinzulinémia produkálják. A Goto-Kakizaki patkányok a non-obez inzulinrezisztens, nem-inzulin függő diabetes mellitus modelljei, az inzulin szekréció és a glükóz tolerancia génjeiben lévő mutáció miatt. Sovány és nem-inzulinrezisztens kontrollként Wistar patkányokat használtunk.

3.5.1. A vérképzés vizsgálata fiziológias körülmények között az elhízott, inzulinrezisztens állatmodellekben és a kontroll csoportokban

A csontvelő funkciója meghatározható a femorális csontvelő össz-sejttartalmával és a GM-CFU progenitor sejtek kolóniaszámaival. Mindkét paraméter érzékeny a csontvelőt érő károsodásokkal szemben, csökkenésük informatívan mutatja a myelotoxicitás mértékét. Kísérletünkben 10 darab kontroll és 10 darab elhízott, inzulinrezisztens *db/db* egeret dolgoztunk fel. Továbbá 10 darab Wistar, 10 darab elhízott, inzulinrezisztens Zucker és 10 darab nem-elhízott, de inzulinrezisztens Goto-Kakizaki patkányt dolgoztunk fel. Exterminációt követően steril körülmények között eltávolítottuk a femurt és a kimosott csontvelőből sejtsuszpenziót készítettünk. Meghatároztuk a csontvelő össz-sejtszámát, a fagocita sejtek utánpótlását biztosító, granulocita-makrofág progenitorok előfordulási gyakoriságát, és a csontvelő teljes GM-CFU tartalmát. A csontvelőben a granulocita-makrofág progenitorok gyakoriságát a speciális lágy-gél tenyészetekben tudtuk vizsgálni. A tenyésztő táptalaj a növekedési faktorokkal együtt elősegíti a sejtsuszpenzióból a GM-CFU progenitorok proliferálódását és a speciális fél-folyékony tenyésztő közeg, pedig összetartja a progenitor sejteket a leánysejtjeikkel együtt. A tenyésztési idő elteltével inverz mikroszkóp alatt megszámoltuk a GM-CFU progenitor sejtek kolóniáinak számát.

3.5.2. Egyszeri, nagy dózisú carboplatin hatása a perifériás fehérvérsejt számra, az abszolút neutrofil számra és a csontvelői funkcióra

10 darab elhízott, inzulinrezisztens *db/db* egér, illetve 10 darab kontroll egyed kapott egyszeri, nagy dózisú (100 mg/ttkg) carboplatin injekciót intraperitoneálisan. Az oltást követően, 48 óra elteltével perifériás vérből és vérkenetből meghatároztuk a fehérvérsejt számot és az abszolút neutrofil granulociták számát. Majd vizsgáltuk meg a femorális csontvelő funkcióját mindkét csoportban. Meghatároztuk a csontvelő össz-sejtszámát, a GM-CFU progenitor sejtek gyakoriságát és a csontvelő teljes GM-CFU tartalmát.

3.5.3. Carboplatin, doxorubicin és 5-fluorouracil közvetlen hatásai a csontvelői GM-CFU progenitor sejtekre db/db egerekben, kontroll párjaikban és Wistar, Zucker, Goto-Kakizaki patkányokban

10-10 db/db és kontroll egér, továbbá 10-10 darab Zucker és Goto-Kakizaki patkány, valamint 10 darab kontroll, Wistar patkány exterminációját követően, a csontvelőt steril körülmények között eltávolítottuk és minden egyes állat csontvelő szuszpenziójából speciális lágy-gél tenyészeteket készítettünk. A tenyészetekben vizsgáltuk a db/db egerek, Zucker és Goto-Kakizaki patkányok és a kontroll egyedek GM-CFU progenitor sejtjeinek citosztatikum érzékenységét. A csontvelő mintákhoz növekvő koncentrációban, 0,1-10 mg/L koncentrációtartományban adtuk hozzá a carboplatint, 0,001-1 mg/L koncentrációban a doxorubicint és szintén 0,001-1 mg/L koncentrációban az 5-fluorouracilt.

3.5.4. Roziglitazon előkezelés hatása Goto-Kakizaki patkányok inzulin érzékenységére

Kísérletünkben 8 darab Goto-Kakizaki patkány kapott roziglitazon előkezelést. Az állatokat 3 mg/ttkg dózisú roziglitazonnal kezeltük per os, 14 egymás követő napon keresztül. Az előkezelés végén az állatokat 50 mg/ttkg tiopentál injekcióval elaltattunk, majd elvégeztük rajtuk a gyors inzulin érzékenységi tesztet (Rapid Insulin Sensitivity Test- RIST) az inzulin érzékenység meghatározására.

3.5.5. Roziglitazon előkezelés hatása nem-elhízott, de inzulinrezisztens Goto-Kakizaki patkányok GM-CFU sejtjeinek citosztatikum érzékenységére

Kísérleteink során 10 darab nem-elhízott, de inzulinrezisztens Goto-Kakizaki patkány, illetve 10 darab kontroll, Wistar patkány kapott egy inzulinérzékenyítő szert, roziglitazont, 3 mg/testsúly kilogramm dózisban, per os, 14 egymást követő napon keresztül. Az előkezelés végén az állatokat nagy dózisú (100 mg/ttkg) tiopentál injekcióval extermináltuk, majd meghatároztuk a csontvelői GM-CFU sejtek citosztatikum érzékenységét, carboplatin, doxorubicin és 5-fluorouracil jelenlétében lágy-gél kolóniatenyészetekben. A csontvelő mintákhoz növekvő koncentrációban, 0,1-10 mg/L koncentrációtartományban adtuk hozzá a carboplatint, 0,001-1 mg/L koncentrációban a doxorubicint és szintén 0,001-1 mg/L koncentrációban az 5-fluorouracilt.

3.5.6. Carboplatin, doxorubicin és 5-fluorouracil hatásai Wistar patkányokból származó csontvelőtenyészetekben roziglitazon előkezelést követően

Vizsgáltuk, hogy a roziglitazon hogyan befolyásolja a GM-CFU sejtek citosztatikum érzékenységét normál metabolizmusú, kontroll patkányokban. 10-10 darab állatot kezeltünk elő, majd a roziglitazon előkezelés után az állatokat extermináltuk, csontvelő sejtuszpenziót készítettünk steril körülmények között, majd ezekből lágy-gél tenyészeteket csináltunk. A lágy-gél tenyészetekhez adtuk hozzá a citosztatikumokat növekvő koncentrációban, a korábban leírt koncentráció tartományokban.

3.6. UD29 (4-tio-uridin-monofoszfát) mononukleotid hatásának és toxicitásának vizsgálata in vitro és in vivo kísérletekben

3.6.1. Leukémiás egérmodell

A SCID egerekből 4 csoportot képeztünk. Az első és második csoport 10-10 darab állata vehikulumot (PBS) kapott intravénásan a leukémiás JY sejtek helyett. A második csoport intraperitoneálisan 20 napon keresztül naponta egyszer 250 mg/ttkg UD29 anyagot, míg az első csoport állatai e helyett 0,3 ml PBS puffer oldatot kaptak. A 3. és 4. csoport 10-10 darab SCID egereit transzplantáltuk 2×10^7 számú JY tumor sejtuszpenzióval, ezekben az immundeficiens egerekben kifejlődött a humán B-sejtes leukémia. A kontrollként alkalmazott 3. csoportban az állatokat a vizsgálati anyag helyett PBS-sel kezeltük. A 4. csoport egerei naponta voltak kezelve intraperitoneálisan 250mg/ttkg UD29 anyaggal. Az első két csoportba tartozó egereken vizsgáltuk a vegyület hatását a normál hemopoetikus sejtek kolóniaképző képességére. Mivel ezeknek az állatoknak nem történt meg a megbetegítése tumor sejtekkel, így lehetőség nyílt a mononukleotid hatását *in vivo* vizsgálni egészséges csontvelőre. A kezelés végén az állatokat extermináltuk és a combcsontot steril körülmények között eltávolítottuk. A femur teljes csontvelő tartalmát kimosva meghatároztuk annak teljes sejt tartalmát, lágy-gél kultúrákban pedig vizsgáltuk a GM-CFU kolóniaszámot és a teljes GM-CFU tartalmat.

3.6.2. UD29 mononukleotid antiproliferatív hatásának vizsgálata human B-sejtes leukémia, JY sejtvonalon

A JY sejtenyészetből 1×10^4 /ml sejtszám felhasználásával készítettünk lágy-gél tenyészeteket. A tenyésztés során a vizsgálati anyag emelkedő koncentrációsorát alkalmaztuk. A vizsgálati anyag adott koncentrációját tartalmazó tenyészetekből 3-3 párhuzamos tenyészetet indítottunk. A tenyésztési idő letelte után a vizsgálati anyagot nem tartalmazó kontroll tenyészetek kolóniaszámát 100%-nak véve, ehhez viszonyítjuk a vizsgálati anyag jelenlétében nőtt kolóniák számát.

3.6.3. UD29 hatásai a normál granulocita-makrofág sejtpopuláció kolóniaképző képességére egészséges, human csontvelő tenyészetekben

Az egészséges emberektől nyert human csontvelőmintákból lágy-gél sejtenyészeteket készítettünk. Ezek a tenyészetek tartalmazták a vizsgálati anyagot növekvő koncentrációban. A vizsgálati anyag adott koncentrációját tartalmazó tenyészetekből 3-3 párhuzamos tenyészetet indítottunk. A tenyésztési idő letelte után a vizsgálati anyagot nem tartalmazó kontroll tenyészetek kolóniaszámát 100%-nak véve, ehhez viszonyítjuk a vizsgálati anyag jelenlétében nőtt kolóniák számát.

3.6.4. UD29 hatása a GM-CFU progenitor sejtek kolóniaképzésére elhízott, inzulinrezisztens db/db egerek csontvelőtenyészeteiben

10-10 db/db, illetve kontroll egér exterminációját követően, a csontvelőt steril körülmények között eltávolítottuk és minden egyes állat csontvelő szuszpenziójából speciális lágy-gél tenyészeteket készítettünk. A tenyészetekben vizsgáltuk a db/db egerek és a kontroll egyedek GM-CFU progenitor sejteinek kolóniaképző képességét UD29 mononukleotid jelenlétében. A csontvelő mintákhoz növekvő koncentrációban adtuk hozzá a vizsgált anyagot.

3.7. Statisztikai kiértékelés

A statisztikai analízist GraphPad Prism szoftverrel végeztük (GraphPad Software Inc, La Jolla, CA, USA). Az egyedi egerekből kapott adatokat használtuk a statisztikai analízishez. A statisztikai analízist páratlan t-próba alapján végeztük. A különbségeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, ha $P < 0,05$.

A továbbiakban az egyedi patkányokból kapott adatokat használtuk a statisztikai analízishez. ANOVA analízis után, ha a csoportok adatai szignifikáns inhomogenitást mutattak, a statisztikai analízist a Bonferroni-féle módosított t-teszt alapján folytattuk, mely több csoportot egyszerre analizál egymáshoz képest. A különbségeket statisztikailag szignifikánsnak tekintettük, ha $P < 0,05$.

A koncentráció-hatás adatokra GraphPad Prism szoftverrel 4-paraméteres logisztikus-variable slope görbét illesztettünk.

4. EREDMÉNYEK

4.1. Hemopoézis vizsgálata obez, inzulinrezisztens állatmodelleken citosztatikumok alkalmazása nélkül

Kísérleteink során megállapítottuk, hogy nincs különbség a csontvelő cellularitásában az obez, inzulinrezisztens *db/db* egerek és kontroll párjaik között. Ugyancsak nincs különbség a csontvelő cellularitásában az obez, inzulinrezisztens Zucker, a sovány, de inzulinrezisztens Goto-Kakizaki és a kontroll, Wistar patkányok között.

Eredményeink alapján a két egér törzsben nincs különbség a GM-CFU progenitorok számában normál tenyésztési feltételek között. További vizsgálataink alapján elmondható, hogy a 3 patkány törzsben sem volt kimutatható különbség a GM-CFU progenitor sejtek kolóniaszámában fizioiógias körülmények között. Látszólag a vérképzés ép az elhízott, inzulinrezisztens állatokban.

4.2. A perifériás fehérvérsejt szám, az abszolút neutrofil szám, és a csontvelő funkcionális paramétereinek meghatározása *db/db* egerekben és kontroll párjaikban egyszeri, nagy dózisú carboplatin beadása után

Egyszeri, nagy dózisú (100 mg/ttkg) carboplatin beadásával idéztünk elő súlyos csontvelőkárosodást a *db/db* egerekben és a kontroll csoportban. Eredményeink alapján megállapítható, hogy a 100 mg/ttkg carboplatin dózis mindkét csoportban károsította a csontvelői funkciókat, azonban az elhízott, inzulinrezisztens *db/db* egerekben nagyobb volt a csontvelő károsodásának mértéke. Mind a cellularitás, mind a GM-CFU kolóniaszám és a teljes femorális GM-CFU tartalom is szignifikánsan alacsonyabb a *db/db* egerek csoportjában összehasonlítva a kontroll csoporttal, ennek következtében a *db/db* egerekben a csontvelőnek alacsonyabb a regenerációs képessége, hogy helyreállítsa a funkcióit a carboplatin okozta károsodást követően.

48 órával a 100 mg/ttkg dózisban beadott carboplatin injekció után meghatározva a perifériás vérben a fehérvérsejtszámot, azt tapasztaltuk, hogy a fehérvérsejtszám szignifikánsan lecsökkent a *db/db* egerek csoportjában a kontroll állatokhoz képest, ez a csökkenés elsősorban a perifériás vérben keringő neutrofil granulociták pusztulását jelentette. Az abszolút neutrofil szám a carboplatin kezelést követően kétszer olyan magas volt a kontroll egerekben, mint az elhízott, diabetikus *db/db* egerekben ($1,35 \pm 0,09 \times 10^9/L$), miközben a carboplatin kezelést nem kapott kontroll csoporthoz képest nem volt kimutatható

szignifikáns különbség a kontroll csoportban a carboplatin beadása után 48 órával. A *db/db* egerek csoportjában olyan nagymértékű volt a carboplatin myelotoxikus hatása, hogy a csontvelő károsodása már a periférián is megjelenik. Ezek az állatok a korai neutropénia tüneteit mutatják.

4.3. In vitro a csontvelői granulocita-makofág progenitor sejtek (GM-CFU) carboplatinnal, doxorubicinnel, 5-fluorouracillal szembeni érzékenysége elhízott állatmodellekben és kontroll párjaikban

A kolónia esszé módszerrel lehetőségünk volt a citosztatikumok közvetlen hatásait vizsgálni a csontvelő GM-CFU progenitor sejt populációjára.

A carboplatin csökkentette a GM-CFU progenitor sejtek kolóniaképző képességét mind az elhízott, inzulinrezisztens állatokban, mind a sovány, de inzulinrezisztens Goto-Kakizaki patkányokban és a kontroll párjaik esetében is. Azonban összehasonlítva a kontroll csoporttal a GM-CFU kolóniaszám csökkenés szignifikánsan magasabb a *db/db* egerek, Zucker és Goto-Kakizaki patkányok esetében. Ezeknek az állatoknak a GM-CFU progenitor sejtjei érzékenyebbek voltak a carboplatin toxikus hatásaira.

A doxorubicin szintén csökkentette a kolóniaképző képességét mind a kontroll, mind az elhízott, inzulinrezisztens egyedek GM-CFU progenitorainak. Azonban ebben az esetben is a *db/db* egerek, Zucker és Goto-Kakizaki patkányok esetében szignifikánsan nagyobb volt a kolóniaszám csökkenés a kontroll egyedekhez képest.

A másik két citosztatikumhoz hasonlóan, 5-fluorouracil hatására is csökkent a GM-CFU kolóniaszám a kontroll csoportok és a *db/db* egerek, Zucker, Goto-Kakizaki patkányok csontvelő tenyészeiben. Azonban a GM-CFU kolóniaszám csökkenés szignifikánsan magasabb volt az elhízott, inzulinrezisztens állatok esetében, összehasonlítva a kontroll csoporttal őket.

A *db/db* egerek, a Zucker patkányok és a Goto-Kakizaki patkányok GM-CFU progenitor sejtjei is érzékenyebbek voltak a citosztatikumok toxikus hatásaira, mint a kontroll csoportok progenitor sejtjei.

4.4. Roziglitazon előkezelés hatása a Goto-Kakizaki patkányok inzulin érzékenységére, majd előkezelést követően a GM-CFU progenitorok kolóniaképző képességének változása citosztatikumok jelenlétében

Eredményeink azt mutatják, hogy a roziglitazonnal történt előkezelést követően megnőtt az inzulinérzékenység az előkezelt csoportokban, az előkezelt állatok

inzulinérzékenysége majdnem eléri a kontroll csoportét. Míg a kezelést nem kapott Goto-Kakizaki patkányokban szignifikánsan alacsonyabb az inzulinérzékenység a Wistar és a roziglitazon előkezelt csoportokhoz képest.

A roziglitazon előkezelést követően, az előkezelt csoportokban csökkent a GM-CFU progenitor sejtek érzékenysége a carboplatin, a doxorubicin és az 5-fluoruracil szemben. Roziglitazon előkezelés után a GM-CFU progenitor sejtek megnövekedett életképességét mutattuk az előkezelt csoportokban összehasonlítva a kezetlen Goto-Kakizaki patkányokkal. A roziglitazon előkezelést követően nőtt az állatok inzulinérzékenysége, amivel párhuzamosan csökkent a femorális GM-CFU progenitor sejtek érzékenysége a citosztatikumok csontvelő károsító hatásaival szemben. Az alkalmazott citosztatikumok dózis-hatás görbéi eltolódtak a normál tartomány felé.

4.5. In vitro a csontvelői GM-CFU progenitor sejtek citosztatikum érzékenysége kezetlen Wistar és roziglitazonnal előkezelt Wistar patkányokban

Vizsgáltuk, hogy a roziglitazon előkezelés befolyásolja-e a normál testsúlyú, normál metabolizmusú Wistar patkányok kolóniaképző képességét citosztatikumok jelenlétében. A roziglitazon előkezelést követően kissé emelkedett a GM-CFU kolóniaszám a speciális lágygél tenyészteteinkben, amelyek a korábbiakban leírt koncentrációban tartalmazták a carboplatint, a doxorubicint és az 5-FU-t. Tehát, kimutatható volt egy enyhe emelkedés a progenitor sejtek kolóniaképző képességében a citosztatikumokkal szemben, de ezek a legtöbb koncentrációpontban nem voltak szignifikánsak. Ezek az eredmények megegyeznek munkacsoportunk korábbi megfigyeléseivel, amikor nem tudtunk kimutatni a roziglitazonnak és az inzulinnek szignifikáns hatásait egészséges csontvelőre 5 napos előkezelést követően.

4.6. UD29 (4-tio-uridin-monofoszfát) mononukleotiddal végzett vizsgálataink eredményei

4.6.1. Az UD29 mononukleotid hatása in vitro JY sejtvonal stem sejtjeinek, és egészséges humán GM-CFU progenitor sejteknek a kolóniaképző képességére

Az UD29 mononukleotid dózisfüggően csökkentette a JY leukémia stem sejtek kolóniaképző képességét *in vitro*. Ugyanakkor a vizsgálati anyag még magasabb koncentráció tartományban sem gátolta jelentős mértékben a normál granulocita-makrofág progenitor sejtek kolóniaképződését egészséges humán csontvelő tenyészetekben.

4.6.2. UD29 hatásai in vivo leukémiával transzplantált, és JY leukémia sejtekkel nem oltott SCID egerekben

In vivo SCID egerekben a JY sejttel transzplantált csoportokban az UD29 szignifikánsan csökkentette a tumor sejtekkel elárasztott csontvelő össz-sejttartalmát. Ezzel szemben a JY sejtranszplantációt nem kapott csoportban nem csökkent a csontvelő össz-sejtszáma az UD29 kezelést kapott csoportokban, összehasonlítva a kezeletlen csoporttal.

Az UD29 előkezelést követően a csontvelőben a leukémia stem sejt kolóniaszám nem csökkent a kontroll csoporthoz képest, ami arra utal, hogy az UD29 nem kizárólag a tumor sejtpopuláció stem sejtjeit, hanem a tumor többi sejttypusát is pusztítja. A JY tumor sejttel nem transzplantált csoportokban az UD29 előkezelést követően nem csökkent szignifikánsan a GM-CFU kolóniaszám, a kezeletlen csoporthoz viszonyítva.

Összehasonlítva a kontroll csoporttal, a mononukleotiddal kezelt csoportban szignifikánsan csökkent az össz-tumor stem sejt tartalom és következésképpen a leukémiás sejtpopuláció. Ezzel szemben a JY sejttel nem transzplantált csoportokban a teljes femorális GM-CFU tartalom nem csökkent szignifikánsan a kezelt csoportban a kontrollhoz viszonyítva.

4.6.3. In vitro UD29 mononukleotid hatása a csontvelői GM-CFU progenitor sejtek kolóniaképző képességére elhízott, inzulinrezisztens db/db egerekben és kontroll párjaikban

Kísérleteinkben az elhízott, inzulinrezisztens db/db egerek GM-CFU progenitor sejtjei érzékenyebbek voltak a citosztatikumok toxikus hatásaira, összehasonlítva a kontroll párjaikban kapott eredményekkel. A természetes immunválasz kialakításában fontos szerepet játszó, és a citosztatikumok csontvelőkárosító hatására leginkább fogékony sejtpopuláció tehát nagyobb mértékben pusztult el a citosztatikumok jelenlétében az elhízott, inzulinrezisztens állatokban, mint a kontroll párjaikban.

Ezek után vizsgáltuk, hogy az UD29 vajon mennyire toxikus a db/db egerek GM-CFU tenyészeiben és összehasonlítottuk a kolóniaképződés 50%-os gátló koncentráció értékét a korábban vizsgált citosztatikumok jelenlétében meghatározott IC₅₀ értékekkel a db/db egerek esetében és a kontroll csoportban.

Az UD29 mononukleotid in vitro lágy-gél tenyészetekben dózisfüggően csökkentette a GM-CFU kolóniaszámot, mind a db/db egerek, mind a kontroll párjaik tenyészeiben. A kolóniaszám csökkenés szignifikánsan nagyobb volt az elhízott, inzulinrezisztens egerek esetén, mint a kontroll csoportban. Viszont összehasonlítva a korábban vizsgált

carboplatin, doxorubicin és 5-fluorouracil, megállapítható, hogy UD29 esetében a kolóniaképzés 50%-os gátló koncentráció értéke lényegesen magasabb volt a kontroll és a *db/db* egerek tenyésztésében egyaránt. A vizsgált anyag tehát kevésbé károsítja a GM-CFU progenitor sejteket, mint a carboplatin, doxorubicin és 5-fluorouracil.

5. MEGBESZÉLÉS

Tudományos munkámban célul tűztem ki, hogy különböző elhízott, inzulinrezisztens, vagy sovány, de inzulin rezisztencia tüneteit mutató állatmodellekben vizsgáljam meg a csontvelői granulocita-makrofág progenitor sejtpopuláció működését fiziológiás körülmények között, és citosztatikumok okozta myelotoxikus hatások mellett. További célom volt, egy új fejlesztésű, korábbi vizsgálatok alapján anti-HIV és anti-tumor hatást mutató vegyület, a 4-tio-uridin-monofoszfát vizsgálata, mely egy ígéretes terápiás ágens lehet a tumorelles kemoterápiában.

A csontvelő funkciójának károsodásra jellemző, hogy lecsökken a csontvelőben az össz-sejtszám, a stem és progenitor sejtek előfordulási gyakorisága és a teljes femorális stem és progenitor sejt tartalom. A vérképző progenitor sejtek között a granulocita-makrofág sejtek képezik a legfontosabb populációt. Elsősorban ezeknek a sejteknek a pusztulása vezet a súlyos myelotoxikus állapot kialakulásához. Így munkánk során elsődleges volt annak tisztázása, hogy fiziológiás körülmények között vajon van-e különbség a csontvelő működésében és a célsejtek funkcióiban az elhízott, inzulinrezisztens állatokban és kontroll párjaikban. Sem a *db/db* egerekkel végzett vizsgálatainkban, sem a Zucker és Goto-Kakizaki patkányokkal végzett kísérleteinkben nem tudtunk kimutatni eltérést a csontvelő működésében a kontroll csoporthoz képest, normál tenyésztési feltételek mellett. Sem a csontvelő össz-sejtszáma, sem a GM-CFU progenitor sejt kolóniák száma nem különbözött szignifikánsan a kontroll mintákhoz képest.

A 100 mg/testsúlykilogramm dózisban beadott carboplatin mindkét csoportban károsította a csontvelő funkciókat a carboplatin nem kezelt kontrollhoz képest, azonban az elhízott, inzulinrezisztens *db/db* egerekben nagyobb volt a csontvelő károsodásának mértéke, aminek következtében a *db/db* egerekben a csontvelőnek alacsonyabb a regenerációs képessége, hogy helyreállítsa a funkcióit a carboplatin okozta myelotoxicitást követően. Mindez arra utal, hogy a carboplatin súlyosabb károsodást idézett elő a *db/db* egerek csontvelői tenyésztésében, mint a kontroll csoport mintáiban, ezek az elhízott,

inzulinrezisztens állatok fogékonyabbnak bizonyultak az *in vivo* beadott citosztatikum csontvelőkárosító hatásaira.

Annak érdekében, hogy közvetlenül tudjuk mérni a citosztatikumok csontvelői GM-CFU progenitor sejtekre gyakorolt hatásait, illetve a progenitor sejtfunkciókat citosztatikumok jelenlétében, kidolgoztunk egy *in vitro* kísérleti elrendezést. A kísérleti állatok csontvelői sejtjeit speciális lágy-gél közegben tenyésztettük. A megfelelő tenyésztő médiummal és a kolóniastimuláló faktorokkal ideális feltételeket biztosítottunk a csontvelő granulocita-makrofág sejtpopulációjának a proliferációhoz. A tenyészetekhez adtuk hozzá a vizsgált citosztatikumokat, növekvő koncentrációkban. Ezzel a módszerrel tudtuk mérni a citosztatikumok közvetlen hatásait GM-CFU progenitor sejtekre, kizárva más, nem-specifikus hatásokat. A carboplatin, a doxorubicin és az 5-fluorouracil is csökkentette a GM-CFU progenitor sejtek kolóniaképző képességét mind az elhízott, inzulinrezisztens *db/db* egerek, mind a kontroll párjaik esetében. Azonban összehasonlítva a kontroll csoporttal a GM-CFU kolóniaszám csökkenés szignifikánsan magasabb a *db/db* egerek esetében.

Az elhízott, inzulinrezisztens Zucker patkányok csontvelőtenyészteiben is megvizsgáltuk a carboplatin, doxorubicin és 5-FU GM-CFU kolóniaképzésre gyakorolt hatásait. Hasonlóan a *db/db* egereken látott eredményekhez, a carboplatin, a doxorubicin és az 5-fluorouracil is dóziszfüggően csökkentette a GM-CFU progenitor sejtek kolóniaképző képességét mind az elhízott, inzulinrezisztens Zucker patkányokban, mind a kontroll párjaikban. Azonban összehasonlítva a kontroll csoporttal a GM-CFU kolóniaszám csökkenés szignifikánsan magasabb a Zucker patkányok esetében.

Azért, hogy az obezitást, mint myelotoxicitást befolyásoló tényezőt kizárhassuk olyan állatmodellt választottunk, amely normál testsúlyú, viszont inzulinrezisztens, ilyenek a Goto-Kakizaki patkányok.

Az előbbi eredményekhez hasonlóan a carboplatin, a doxorubicin és az 5-FU is dóziszfüggően csökkentette a GM-CFU progenitor sejtek kolóniaképző képességét a sovány, de inzulinrezisztens Goto-Kakizaki patkányokban, és a kontroll, Wistar patkányokban is. Azonban a kontroll csoporthoz képest a GM-CFU kolóniaszám csökkenés szignifikánsan magasabb a Goto-Kakizaki patkányok esetében.

Roziglitazon előkezelést követően meghatároztuk az inzulinérzékenységet gyors inzulinérzékenységi teszttel az előkezelt, a kezeletlen Goto-Kakizaki és a Wistar patkányokban. Eredményeink azt mutatják, hogy a roziglitazonnal történt előkezelést követően megnőtt az inzulinérzékenység az előkezelt csoportokban, az előkezelt állatok

inzulinérzékenysége majdnem eléri a kontroll csoportét. Míg a kezelést nem kapott Goto-Kakizaki patkányokban szignifikánsan alacsonyabb az inzulinérzékenység a Wistar és a roziglitazon előkezelt csoportokhoz képest.

A roziglitazonnal előkezelt csoportokban csökkent a GM-CFU progenitor sejtek érzékenysége a carboplatin, a doxorubicin és az 5-fluorouracillal szemben. Roziglitazon előkezelés után a GM-CFU progenitor sejtek megnövekedett életképességét mutattuk az előkezelt csoportokban összehasonlítva a kezeletlen Goto-Kakizaki patkányokkal. A roziglitazon előkezelést követően csökkent az állatok inzulinrezisztenciája, amivel párhuzamosan csökkent a femorális GM-CFU progenitor sejtek érzékenysége a citosztatikumok csontvelő károsító hatásaival szemben.

További kísérleteinkben megállapítottuk, hogy a roziglitazon előkezelést követően kissé emelkedett a GM-CFU kolóniaszám az előkezelt Wistar patkányok tenyészetében, amelyek a korábbiakban leírt koncentrációban tartalmazták a carboplatint, a doxorubicint és az 5-FU-t. Kimutatható volt egy enyhe emelkedés a progenitor sejtek kolóniaképző képességében a citosztatikumokkal szemben, de ezek a legtöbb koncentrációpontban nem voltak szignifikánsak. Ezek az eredmények megegyeznek munkacsoportunk korábbi megfigyeléseivel, amikor nem tudtunk kimutatni a roziglitazonnak és az inzulinnek szignifikáns hatásait egészséges csontvelőre 5 napos előkezelést követően.

Az UD29 mononukleotid *in vitro* JY sejtvonalon csökkentette a leukémia stem sejt kolóniaszámot. *In vivo* leukémiás SCID egerekben a kezelést követően szintén csökkent a leukémia stem sejt tartalom.

A vizsgált vegyület toxicitási vizsgálatait *in vitro* egészséges humán csontvelő mintákon, illetve *in vivo* JY tumor sejttel nem transzplantált SCID egereken végeztük el. A vizsgált UD29 sem *in vitro*, sem *in vivo* körülmények között nem gátolta jelentős mértékben a normál granulocita-macrophag kolóniaképződést.

Az UD29 mononukleotid *in vitro* tenyészetekben dóziszfüggően csökkentette a GM-CFU kolóniaszámot, mind a *db/db* egerek, mind a kontroll csoport tenyészetében. A kolóniaszám csökkenés szignifikánsan nagyobb volt az elhízott, inzulinrezisztens egerek esetén. Viszont összehasonlítva a korábban vizsgált carboplatin, doxorubicin és 5-fluorouracillal, látható, hogy az UD29 esetében a kolóniaképzés 50%-os gátló koncentráció értéke lényegesen magasabb volt a kontroll és a *db/db* egerek tenyészetében egyaránt. A vizsgált anyag tehát kevésbé károsítja a GM-CFU progenitor sejteket, mint a carboplatin, doxorubicin és 5-fluorouracil.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Eredményeink jelentősége, hogy rámutat arra, hogy bár kvantitatív eltérések nincsenek, a csontvelői vérképző progenitorok termelődése hasonló mértékű, de funkcionális zavar kimutatható elhízott, inzulinrezisztens állatok vérképzésében. Kísérleteinkben a citosztatikumokkal szembeni érzékenység és a toxicitás növekedése nem valamilyen specifikus, a hatásmechanizmusnak megfelelő útvonal molekuláin keresztül érvényesül. A három különböző hatásmechanizmusú citosztatikum esetében hasonló mértékű volt a toxicitás fokozódása az elhízott, inzulinrezisztens állatokban. Nem volt erre hatással az, hogy a carboplatin a DNS-sel komplexet képezve, az alkiláló mechanizmushoz hasonló mértékű károsodást okoz a sejtekben, vagy a doxorubicin hatásai között az interkalálódás a DNS bázispárjai közé, a szabadgyök képzés és a topoizomeráz enzim gátlás egyaránt szerepet játszik, vagy az 5-FU antimetabolitként az RNS és DNS szintézist is gátolja. A toxicitás az inzulin rezisztencia mértékével volt arányos és jelentősen mérséklődött a roziglitazon előkezelés után, mellyel normalizáltuk az állatok inzulinérzékenységét. A funkcionális eltérés, legalábbis részben az inzulin rezisztencia miatti anyagcserezavarra vezethető vissza és a toxikus hatásokkal szemben érzékenyebbé teszi a granulocita-makrofág progenitor sejteket, ami a citosztatikumok alkalmazásakor fokozott pusztulásukhoz és következményesen súlyosabb neutropéniához vezethet. Ezt érdemes figyelembe venni inzulinrezisztens kórállapotokban a kemoterápia megtervezésénél. Az inzulin rezisztencia kezelése, mérséklése csökkentheti a myelotoxiciás kialakulásának veszélyét.

Az általunk vizsgált UD29 mononukleotid hatásosan gátolja a leukémia stem sejtek kolóniaképző képességét. Ez *in vivo* SCID egerekben illetve *in vitro* JY sejtenyészetekben végzett kísérletekben is bebizonyosodott. Emellett a vegyület terápiás indexe ígéretes a terápiás felhasználás szempontjából.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Kiemelt köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Benkő Ilonának, aki széleskörű elméleti és gyakorlati ismereteivel, valamint céltudatos iránymutatásával lehetővé tette számomra, hogy sikeresen kivitelezsem a tudományos munkámat és megírhasam doktori disszertációm.

Szeretnék köszönetet mondani. Szilvássy Zoltán Professzor Úrnak, a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet igazgatójának, hogy lehetővé tette számomra az intézetben végzett munkát.

Külön köszönettel tartozom Dr. Megyeri Attilának, aki szakmai tanácsaival, logikus érveléseivel folyamatosan támogatott a munkám során.

Köszönöm Dr. Aradi Jánosnak, Dr. Peitl Barnának és Dr. Németh Józsefnek, hogy munkájukkal hozzájárultak a kísérleteink elvégzéséhez.

Külön köszönettel tartozom Ungvári Évának, aki sok gyakorlati segítséget nyújtott munkám során, valamint a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet valamennyi dolgozójának.

Hálával tartozom továbbá Családomnak, akik szeretetükkel végig támogattak céljaim elérésében.

8. FÜGGELÉK



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR
PUBLIKÁCIÓK



Iktatószám: DEENK/5/2015. PL
Tételszám:
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Géresi Krisztina
Neptun kód: HSX711
Doktori Iskola: Gyógyszerészeti Tudományok Doktori Iskola
Mtm azonosító: 10047765

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Géresi, K.**, Megyeri, A., Szabó, B., Szabó, Z., Aradi, J., Németh, J., Benkő, I.: Myelotoxicity of carboplatin is increased in vivo in db/db mice, the animal model of obesity-associated diabetes mellitus.
Cancer Chemother. Pharmacol. "Accepted by Publisher" (2015)
IF:2.571 (2013)
2. **Géresi, K.**, Benkő, K., Szabó, B., Megyeri, A., Peitl, B., Szilvássy, Z., Benkő, I.: Toxicity of cytotoxic agents to granulocyte-macrophage progenitors is increased in obese Zucker and non-obese but insulin resistant Goto-Kakizaki rats.
Eur. J. Pharmacol. 696 (1-3), 172-178, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2012.09.018>
IF:2.592
3. Berényi, E., Benkő, I., Vámosi, G., **Géresi, K.**, Tárkányi, I., Szegedi, I., Lukács, L., Juhász, I., Kiss, C., Fésüs, L., Aradi, J.: In vitro and in vivo activity of 4-thio-uridyate against JY cells, a model for human acute lymphoid leukemia.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 410 (3), 682-687, 2011.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.056>
IF:2.484



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. □ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 45. □ Tel.: (52) 518-600
E-mail publikaciok@lib.unideb.hu □ Honlap: lib.unideb.hu



További Közlemények

4. Miszti-Blasius, K., Felszeghy, S., Kiss, C., Benkő, I., **Géresi, K.**, Megyeri, A., Hevessy, Z., Kappelmayer, J.: P-selectin glycoprotein ligand-1 deficiency augments G-CSF induced myeloid cell mobilization.
Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 387 (2), 109-118, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00210-013-0913-9>
IF:2.36 (2013)
5. Benkő, I., Rajta, I., Csik, A., Tóth, J., Benkő, K., **Géresi, K.**, Ungvári, É., Szabó, B., Sarkadi, G., Paripás, B., Takács, I., Tőkési, K.: Major and trace elements in mouse bone measured by surface and bulk sensitive methods.
Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B. 279, 223-226, 2012.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nimb.2011.10.059>
IF:1.266

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 11,273

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapján szolgáló közleményekre):
7,647

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, 2015.01.13.



Az értekezés témájában bemutatott posterek:

- 1. Géresi K.,** Szegedi I., Megyeri A., Aradi J., Kiss Cs., Benkő I.
Thiouridilát tumor ellenes hatásának *in vitro* és *in vivo* vizsgálata.
IX. Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság Kongresszusa, Debrecen, 2007.
- 2. Géresi K.,** Szegedi I., Megyeri A., Aradi J., Kiss Cs., Benkő I.
Effect of thiouridilate (UD29) on colony forming capability of leukemia tumor stem cells (*in vitro* and *in vivo* investigations).
Sanofi-Aventis ösztöndíjas Ph.D. hallgatók konferenciája, Budapest, 2008.
- 3. Géresi K.,** Szegedi I., Megyeri A., Aradi J., Kiss Cs., Benkő I.
Effect of thiouridilate (UD29) on colony forming capability of leukemic tumor stem cells (*in vitro* and *in vivo* investigations).
1st Central and Eastern European Laboratory Animal Conference Budapest, 2009.
- 4. Géresi K.,** Benkő K., Megyeri A., Szabó B., Ungvári É., Peitl B., Szilvássy Z., Benkő I.
Toxicity of cytostatic agents to granulocyte-macrophage progenitors (CFU-GM) increased in Zucker obese rats.
WorldPharma (16th IUPHAR World Congress of Basis and Clinical Pharmacology) Copenhagen, Denmark, 2010.

Konferencián elhangzott előadások:

- 1. Géresi K.,** Szegedi I., Megyeri A. Aradi J., Kiss Cs., Benkő I.
Effect of thiouridilate (UD29) on the colony forming capability of leukemia tumour stem cells (*in vitro* and *in vivo* investigations).
Immunfarmakonok és biológiai hatóanyagok gyógyszerterana című konferencia, Debrecen, 2007.
- 2. Géresi K.,** Szegedi I., Megyeri A. Aradi J., Kiss Cs., Benkő I.
Effect of thiouridilate (UD29) on colony forming capability of leukemic tumor stem cells (*in vitro* and *in vivo* investigations).
Sanofi-Aventis ösztöndíjas Ph.D. hallgatók konferenciája, Budapest, 2009.
- 3. Géresi K.,** Benkő K., Megyeri A., Szabó B., Ungvári É., Peitl B., Szilvássy Z., Benkő I.
Study on factors influencing myelotoxicity of cytotoxic drugs in obese animal models.
Sanofi-Aventis ösztöndíjas Ph.D. hallgatók konferenciája, Budapest, 2010.