

A nociceptin-nocistatin rendszer
szabályozó szerepe és
szabályozottsága: kapcsolat a
biogénamin rendszerrel

A doktori értekezés tézisei

Dr. Tekes Kornélia

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A nociceptinerg rendszer felfedezése az 1994-1995-ben közölt vizsgálatokra nyúlik vissza, melyekben a δ -opioid receptor klónozása során, a homológia vizsgálatok egy olyan új, opioid-szerű receptor létét igazolták (Mollereau et al. 1994, Chen et al. 1994), melyhez az ismert opioid receptor ligandok nem kötődtek. Ez az „árva”, „orphan” receptor akkor vált különösen érdekessé farmakológiai/élettani szempontból, amikor két munkacsoport is, egymástól függetlenül és gyakorlatilag egyidőben nociceptin (Meunier et al. 1995) ill. orphanin FQ (Reinscheid et al. 1995) néven izolálta a receptor endogén agonistáját. Maga a receptor kezdetben „opioid-receptor like 1”, (ORL1), néven vált ismertté, de az IUPHAR receptor-nevezéktani besorolása szerint 2000 óta NOP receptor a neve.

A NOP receptor

Emberben a NOP receptor génje a 20. kromoszóma q13.2-13.3 régiójában található. A NOP a klasszikus opioid receptorokhoz hasonlóan hét transzmembrán egységgel rendelkezik és kristályszerkezete is megállapítást nyert (Thompson et al. 2012). Jellegzetessége, hogy naloxonnal nem antagonizálható és a klasszikus μ -, κ - és δ -opioid-receptorok agonistáit gyakorlatilag nem köti, hatását a sejt belseje felé Gi/G_o fehérje közvetíti. Aktivációja gátolja a cAMP felhalmozódást (Reinscheid et al. 1995) fokozza a foszfolipáz C aktivitást és a mitogén-aktiválta protein kinázt (New and Wong 2002, Buzas et al. 2002), gátolja a feszültségfüggő Ca²⁺-csatornák aktivációját (Connor et al. 1996), és fokozza a sejtbe irányuló K⁺ áramot (Nicol et al. 1996). A ¹²⁵I-[Tyr¹⁴]NC receptorkötési vizsgálatok alapján felmerült a NOP receptor két különböző konformációs állapotának, ill. két NOP receptor létezésének lehetősége is (Mogil and Pasternak 2001). A NOP receptorok döntő többsége posztzinaptikusan található, de több szövetben is preszinaptikus NOP receptor jelenléte nyert igazolást. (Yamazaki et al. 2001, Tallent et al. 2001, Hou et al. 2003, Pennock et al. 2012)

A NOP receptor a központi idegrendszerben és a perifériás szövetekben egyaránt jellegzetes eloszlást mutat. Patkányagy NOP-receptor eloszlását (Darland et al. 1998) foglalta össze. Egészséges emberi agy NOP receptor eloszlása PET

vizsgálatok alapján ¹¹C-NOP-1A (NOP receptor antagonist) alkalmazásával történt (Lohith et al. 2012).

A NOP receptor a perifériás idegrendszerben és különböző szövetekben is kimutatást nyert, így patkány vesében (Hadrup et al. 2007) gyomorban (Grandi et al. 2007), vékony-, és vastagbélben, májban, ovariumban, herében (Wei et al. 1999), az epidermisben (Andoh et al. 2004), a lépben, vaszkuláris endothél-sejtekben, valamint a lymphocytákban (Nothacker et al. 1996, Arjomand et al. 2002). Az emberi perifériás szövetekben a NOP receptor sűrűséget PET módszerrel, a ¹¹C-NOP-1A beadása után eltelt idő függvényében (Lohith et al. 2012) vizsgálta.

A NOP receptor aktiválása rendkívül széleskörű hatásokat eredményez; i.c.v. adva hiperalgéziát, a gerincvelőben és a periférián fájdalomcsillapító hatást közvetít, módosítja a stressz kiváltotta viselkedési mintázatot, bradycardizál, csökkenti a vérnyomást, vazodilatációt eredményez, fokozza a diurézist, csökkenti a nátrium-kiválasztást, növeli a húgyhólyag kapacitását, gátolja a vizelési reflexet, gátolja a morfin-, a cocain- és az alkohol-kiváltotta jutalmazó („rewarding”) hatást, immundepresszív, gátolja a bronchus-kontrakciót, gátolja a gyomor- béltraktus motilitását, fokozza a táplálékfelvételt, gátolja a tanulást és a memóriát, valamint az erektilis funkciót (Lambert 2008, Mustazza and Bastanzio 2011).

A NOP receptoron megvalósuló rendkívül sokoldalú hatások alapján a NOP receptor agonistáinak, ill. antagonistáinak potenciális gyógyszerként számos terápiás felhasználása körvonalazódik (1. ábra).

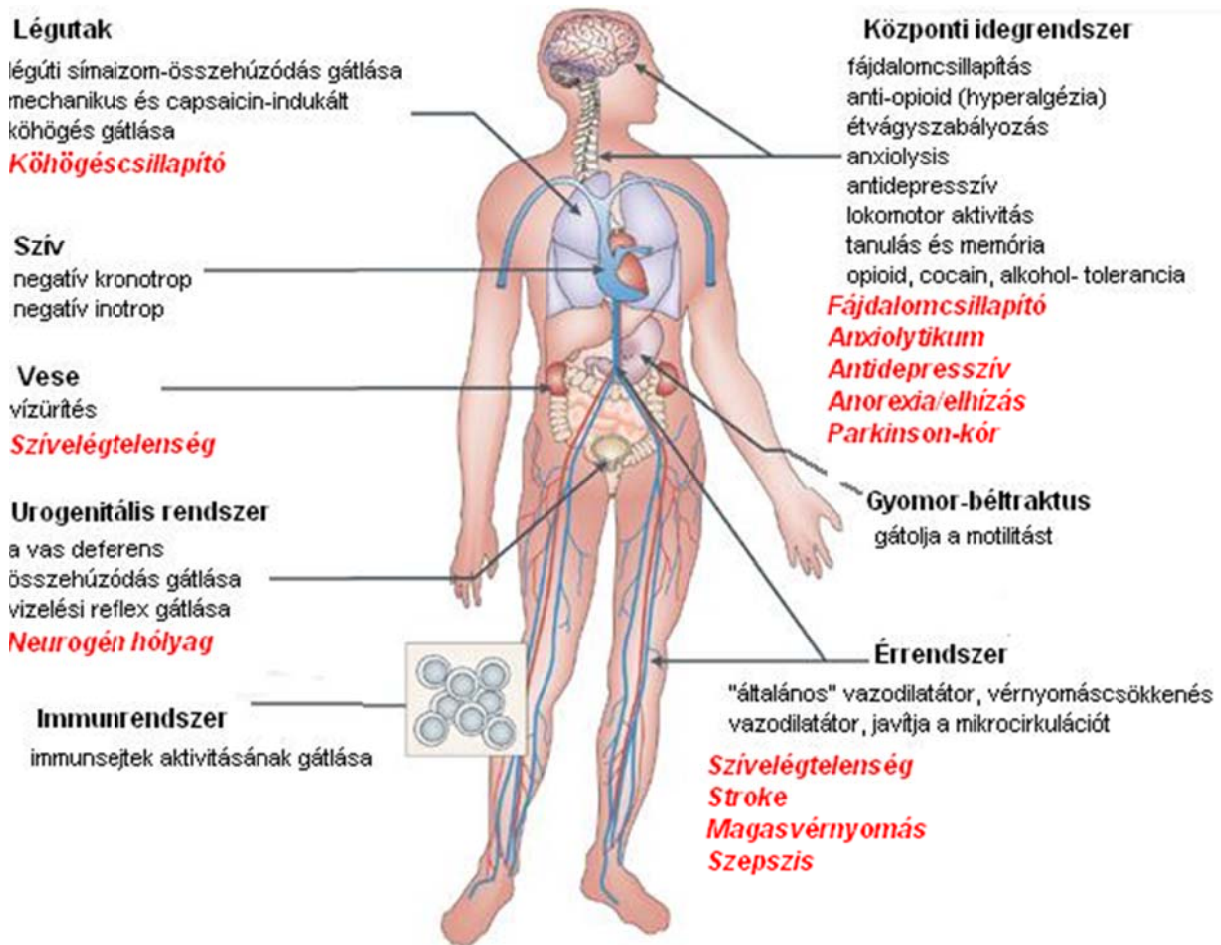
A NOP receptor szintetikus peptid és nem-peptid ligandjai

A NOP receptor szintetikus ligandjai közül több mint 600 ismert. A peptid szerkezetű agonista és antagonistá ligandokat elsősorban a receptor szerkezetének, kötőhelyeinek kutatásában alkalmazzák (Mustazza and Bastanzio 2011, Zaveri 2003, Chiou et al. 2007). Magyarországon is jelentős NOP receptor szelektív ligand-kutatás folyik (Bojnik et al. 2009, Gunduz et al. 2006).

A nem-peptid ligandok sokasága kémiai szerkezetük szerint a morfinán-vázis, a 4-arylpiperidin, a 3-arylnortropán, a 4-heterociklussal szubsztituált piperidinek, a 2-heterociklussal szubsztituált kinolizidinek, a spiropiperidinek, a spironotropánok, a 4-

aminokinolinek, a kinazolinek, a 6-piperazinil-benzimidazolonok, a 2-(1,2,4-oxadiazolil)-indolonok, a pyrrolpiridinek csoportjaiba sorolhatók (Mustazza and Bastanzio 2011).

Klinikai vizsgálatban az antagonisták JTC-801 fájdalomcsillapítóként, az antagonisták SB-612111 antiparkinson-szerként, a parciális agonisták ZP-120 akut szívelégtelenségben diuretikumként, az antagonisták TRK-820 viszketéscsillapítóként szerepel.



1. ábra

A NOP receptor agonisták és antagonisták potenciális terápiás felhasználása
 (Lambert 2008)

A NOP receptor endogén agonistája: a nociceptin

A NOP receptor felismerése után azonnal hatalmas erővel indult meg az új receptor és endogén agonistájának (nociceptin, NC, orphaninFQ) kutatása. Jelenleg csak a

PubMed adatbázis szerint több mint 1530 közlemény foglalkozik a nociceptinerg rendszerrel.

A 17 aminosavból álló nociceptin a klasszikus opioid peptidektől abban mutat alapvető különbözőséget, hogy az N-terminális első négy aminosavja közül (a message domain) az első aminosav nem tiramin, hanem fenilalanin, ami a receptor-kötődés és az élettani hatások szempontjából meghatározó jelentőségű.

A nociceptin a 176 aminosavból álló prepronociceptinből (ppNC, ppOFQ) proteolitikus enzim hatására hasad ki, mely ppNC génje emberben a 8. kromoszóma 8p21 régiójában található (Mollereau et al. 1996) és más biológiailag aktív szekvenciákat (nocistatin, NCII és NCIII) is tartalmaz

Kimutatást nyert, hogy mind a ppNC mind a NC a gesztációs periódus korai szakaszától megjelenik az agyban és különösen kifejezett a fájdalom-érzéssel, ill. a stressz-reakciókkal kapcsolatos agyterületeken (Neal et al. 2001).

A felnőtt emberi agy egyes területeinek nociceptin-szintjei kvantitatíve is meghatározásra került (Witta et al. 2004). A ppNC, a NC és receptorának megjelenését a fejlődő emberi agyban a 16. gesztációs héten már igen kifejezett (Neal et al. 2001).

A nociceptin metabolizmusa

A nociceptin metabolikus inaktivációjáért két cink-metallopeptidáz, a membrán-kötött aminopeptidáz-N (APN) és a főként a citoszolban elhelyezkedő, a nociceptinre specifikus, endopeptidáz 24.15 (EP24.15) enzim a felelős. A heptadekapeptid nociceptint az APN, ill. az EP 24.15 négy kritikus helyen hasítja és az így keletkezett metabolitok inaktívak a NOP receptoron, mert a NOP aktiválásához szükséges minimális szekvenciát, a nociceptin (1-13)-at már nem tartalmazzák.

A prepronociceptin egyéb biológiai aktivitású szekvenciái: a nocistatin, a NCII és a NCIII.

A nocistatin

A ppNC bPNP3 szekvenciájának biológiai aktivitását, a különböző állatfajokban fellelhető szerkezetét és a nociceptin-kiváltotta hyperalgéziát és allodyniát gátló hatását elsőként Okuda-Ashitaka et al.(1998) írták le. A ppNC-ből a prohormon-konvertáz II hatására keletkező nocistatin számos hatásában a nociceptin funkcionális antagonistájaként viselkedik (Mogil and Pasternak 2001, Chen et al. 2010). Bizonyítást nyert, hogy a nocistatin-hatásért a különböző állatfajokban és emberben is a konzervatív C-terminális a felelős (Crescenzi et al. 2000), de szerepének feltárását nagyban gátolja, hogy receptora a mai napig sem ismert (Johnson and Connor 2007). A legújabb közlések szerint a NIPSNAP1 fehérjéhez kötődik nagy affinitással és specifikusan (Okuda-Ashitaka et al. 2012). A nocistatin (NS) önálló, $G_{i/o}$ -fehérje kötött receptorának létét in vitro Zeilhofer et al. (2000) és in vivo Inoue et al. (2003) vizsgálatai vetették fel. A nocistatin jelenlétét az emberi agyban és liquorban Lee et al. (1999) bizonyította, a felnőtt emberi agyban megtalálható két formájának (NST-17 és NST-30) felismerése (Joseph et al. 2006) nevéhez fűződik.

A nocistatin élettani szerepét kezdetben a bovin NS hatásainak vizsgálatával kutatták. Megállapították, hogy egérben visszafordítja a scopolamin-kiváltotta tanulási és memória-deficitet (Hiramatsu and Inoue 1999), fájdalomcsillapító a formalin-teszt I. fázisában (Yamamoto and Sakashita 1999), patkánynak i.c.v. adva gátolja a gyulladássos hyperalgéziát (Nakagawa et al. 1999), a thalamus gátló neuronjainak gátlásával dysinhibitoros hatást fejt ki (Albrecht et al. 2001), gátolja a morfinra kialakuló akut és krónikus toleranciát (Sun et al. 2001b). Saját vizsgálatainkban igazoltuk, hogy az i.c.v. adott NS hatékonyan (1 nmol) gátolja az alkohol-kiváltotta akut gyomor-mucosa károsodást (Zadori et al. 2008).

Molekuláris hatásmódjára vonatkozóan az első adatok azt bizonyították, hogy $G_{i/o}$ fehérje-kapcsolt útvonalon gátolja a szerotonin felszabadulást egér neocortex preparátumon (Fantin et al. 2007). A legújabb adatok szerint (a nociceptinnel ellentétben) depolarizálja a centrális amygdala-PAG útvonal neuronjait megnyitva a receptor-aktiválta nem-szelektív (TRPC) kation csatornákat (Chen et al. 2009).

A NCII és NCIII

A NCII a ppNC-ban található heptadekapeptid szekvencia, mely rágcsálókban és emberben azonos. Szerkezetét (Amodeo et al. 2000) vizsgálta és hatékony

fájdalomcsillapítónak találták. Más vizsgálatok szerint fájdalomcsillapító hatására vonatkozó adatok ellentmondásosak (Mogil and Pasternak 2001). A NCIII a NCII-Arg-Arg-Arg szerkezettel rendelkezik. A vegyület nem kötődik a NOP receptorhoz és biológiai hatásával kevés vizsgálat foglalkozott idáig (Florin et al. 1999).

A nociceptinerg rendszer és a biogénamin neurotranszmisszió kapcsolata

A nociceptin és a hisztamin

A nociceptin-hatások vizsgálatának kezdeti időszakában az exogén nociceptinnek a klasszikus opioidokkal azonos, ill. különböző hatásait igyekeztek feltárni. A vizsgálatok tervezését jelentősen hátráltatta, hogy az endogén nociceptin-szintek nem voltak ismertek. Bizonyítást nyert, hogy a morfinnal ellentétben a NC dóziszfüggően és reverzibilisen (posztzinaptikus NOP receptoron keresztül) hiperpolarizálva a patkány tuberomamilláris neuronjait gátolja a hisztamin-felszabadulást. A nociceptin gátolja az opioid-kiváltotta hisztamin-felszabadulást, mely a fájdalomcsillapító hatásában fontos elem (Eriksson et al. 2000).

A nociceptin NOP receptoron keresztül gátolja a hízósejt degranuláló peptid-(MCDP), és a bradykinin- kiváltotta plazma extravazációt, de nincs hatással se a szerotoninnal se a hisztaminnal kiváltott plazma extravazációra (Nemeth et al. 1998, Moriyama et al. 2009). Az intradermálisan alkalmazott NC érpermeabilitást fokozó hatású, fokozza a gyulladós reakciókat a hízósejtekből felszabadított hisztamin révén (Kimura et al. 2000). Az akut gyulladás helyén megemelkedő nociceptin szint feltételezhetően a leukocitákból származik. A NC neurogén gyulladást csökkentő hatása a szenzoros idegvégződésekből a SP és a CGRP felszabadulásának gátlásával magyarázható (Helyes et al. 1997).

A NC vérnyomáscsökkenést és értágulatot okozó hatását (Brookes et al. 2007) *in vivo* kísérletekben a hízósejtekből felszabaduló hisztamin hatásával magyarázzák és a NC-NOP rendszert a gyulladós mikrocirkuláció fontos szabályozójának tartják.

Az intratekálisan. adott NC jellegzetes nociceptív viselkedés-mintázatot okoz, melyet a GABA_A és a GABA_B receptor agonisták gátolnak. A NOP receptoron megvalósuló NC hatás a hisztaminerg neuronok dezinhibícióját eredményezi, ami a SP-t

tartalmazó gerincvelői neuronokon a H₁ receptorok aktiválását idézi elő (Sakurada et al. 2004).

A nociceptin és a szerotonin

A raphe magvak, melyekben a központi idegrendszeri szerotonin szintézis folyik, rendkívül gazdagok NOP receptorban és a nociceptint is nagy mennyiségben tartalmazzák. E területek magas NC koncentrációja arra enged következtetni, hogy a szerotonerg rendszerre hatva a fájdalomérzés supraspinalis kontrolljában játszik fontos szerepet. Az adatok egyértelműen igazolják, hogy a nociceptin a szerotonin-felszabadulás egyik legfontosabb preszinaptikus modulátora és arra engednek következtetni, hogy a nociceptinerg rendszernek fontos szerepe van a központi idegrendszeri szerotonin-mediált biológiai funkciók szabályozásában.

Patkány nucleus raphe dorsalisban és a nucleus accumbensben valamint cortex-ben a nociceptin dóziszfüggően gátolja a szerotonin effluxot, mely a NOP receptor antagonist [Nphe¹]nociceptin(1-13)NH₂ -nel gátolható (Siniscalchi et al. 1999, Tao et al. 2007).

Patkány cortex szinaptoszóma szuperfuzátumon nyert igazolást, hogy a NC NOP receptoron hatva gátolja mind a spontán mind a K⁺-kiváltotta szerotonin effluxot (Sbrenna et al. 2000), mely hatással sem a szelektív δ- receptor agonista deltorphin I sem a szelektív μ-receptor agonista endomorfín I nem rendelkezik. A NC a preszinaptikus NOP receptor aktiváció révén a központi idegrendszeri szerotonerg funkciók egyik legfontosabb modulátora (Sbrenna et al. 2000).

A PAG-ból induló gerincvelői leszálló fájdalom-pálya működésében a szerotoninnak fontos szerepe van (Furst 1999). A PAG ventrolaterális részébe injektált NC igen erősen gátolja a szerotoninon kívül a noradrenalin és a GABA felszabadulását is, míg a glutamát felszabadulását serkenti a gerincvelő hátsó szarvában. Nociceptin hatására a fájdalom-pálya kitüntetett szerepű nucl. raphe magnus-ában szintén erősen gátolt a szerotonin és a noradrenalin-felszabadulás, de érdekes módon a GABA felszabadulás fokozódását és a glutamát-felszabadulás gátlását lehetett tapasztalni. A szintén kitüntetett szerepű nucl. reticularis gigantocellularis-ban a szerotonin- és a glutamin- felszabadulás fokozódása és a noradrenalin- valamint a

GABA-felszabadulás gátlása alakult ki. Az adatok további bizonyítékát adják a nociceptinerg rendszer szerepének a fájdalomérzés szabályozásában (Lu et al. 2010).

A kis dózisú nociceptin anxiolítikus hatású, míg nagy dózis anxiogén. Nocistatin előkezelés szignifikánsan csökkentette a NC hatását, de önmagában nem befolyásolta a felderítő viselkedést. Az anxiolítikus dózisú NC a hippocampusban fokozta a szerotonin turnover-t, míg az anxiogén dózis csökkentette a szerotonin-turnover-t az amygdalában (Kamei et al. 2004).

Stressz-hatásnak kitett patkányokban a NC szerotonin-felszabadulásra gyakorolt gátló hatása méginkább kifejezett. Az adatok felvetik a stressz-kiváltotta kórképekben a NOP-receptoron ható vegyületek potenciális terápiás alkalmazhatóságát (Nazzaro et al. 2009).

Az agykérgi preszinaptikus NOP receptor közvetítette 5HT felszabadulást gátló hatás egérben jelentősebb mértékű, mint patkányokban, ami az egyes állatfajokon mért adatok összehasonlíthatóságának korlátaira hívják fel a figyelmet (Sbrenna et al. 2000, Mela et al. 2004).

Humán neocorticalis agyszeleteken a nociceptin már igen alacsony koncentrációban gátolja a szerotonin felszabadulást, amit a NOP receptor antagonist J-113397 előkezelés gátolni képes (Berger et al. 2006).

A nociceptin és a dopamin

A NOP receptor jelentős mértékű expresszációja a patkány és az emberi substantia nigra-ban és a ventrális tegmentális areában arra utal, hogy a nociceptinerg rendszer hatással van a mozgás-koordináció, a motiváció, a hangulat és a gondolkodás dopaminerg szabályozására (Maidment et al. 2002, Norton et al. 2002).

A NOP receptort a substantia nigra pars compacta (SNc) területén a dopaminerg neuronok mintegy 50%-a expresszálja. A nociceptin mRNS-e legnagyobb mennyiségben a GABA-erg neuronokban, míg a NOP receptor mRNS-e a dopaminerg neuronokban van (Norton et al. 2002).

Több állatfajon is igazolást nyert, hogy a NC a NOP receptor izgatása révén hatékonyan gátolja a striatumban, az eminencia mediana-ban, a hypothalamus paraventricularis magjában a dopamin felszabadulását és hatással van a metabolizmusára (Flau et al. 2002, Shieh and Pan 2001).

A dopamin-transzportert expresszáló CHO sejteken és patkány striatum szinaptoszóma preparátumon a NC-t hatékony dopamin-visszavétel-gátlónak találták. A NC a GABA-transzportert is gátolja in vitro kísérletekben, és dóziszfüggően gátolja a dopamin és a GABA- felszabadulást, de a glutamáterg transzmisszióra nincs hatással (Murphy et al. 2004); a NC közvetett és közvetlen hatással egyaránt képes a dopaminerg neurotranszmissziót befolyásolni (Liu et al. 2001

A NOP receptor szelektív peptid (UFP-101) és nem-peptid (J-113397) antagonistái serkentőleg hatnak a nigrostriatalis dopaminerg transzmisszióra és a motoros funkciókra (Calo et al. 2002), és gátolják a substantia nigra pars reticulataban a glutamát felszabadulást. A NOP receptor antagonisták a Parkinson kór kezelésében új gyógyszer-targetként szerepelnek (Marti et al. 2005, Marti et al. 2010).

A ventrális tegmentális areába juttatott NC átmeneti gátlás után erősen fokozza a dopamin-felszabadulást és érzékenyíti a sejteket a cocain-hatás iránt (Narayanan and Maidment 1999), gátolja a morfin-, az alkohol-, és az amfetamin-származékok okozta dependenciát (Zaveri 2011). A cocain-dependencia okozta hatásokat nemcsak gátolja, de vissza is fordítja (Bebawy et al. 2010). A NOP receptor nem-peptid agonistái (pl. a Ro 64-6198) a drogfüggőség kezelésére klinikai vizsgálat alatt állnak (Zaveri 2011).

A nociceptin és a noradrenalin

A nociceptinerg és a noradrenerg rendszer kapcsolata a nociceptinnek a fájdalomérzést, a szorongást, a félelem-érzést, a stressz-tűrést, a tanulást és a memóriát valamint az opioid dependenciát és toleranciát befolyásoló hatása alapján már a nociceptin-kutatás kezdeti időszakában felmerült (Mogil and Pasternak 2001).

A nociceptin a preszinaptikusan/prejuncionálisan elhelyezkedő NOP receptor izgatásával közvetett módon, az α_2 -adrenoreceptorok izgatását váltja ki, mely

következményesen és dóziszfüggően gátolja a noradrenalin felszabadulást. (Siniscalchi et al. 2002, Rominger et al. 2002)).

A szelektív NOP receptor antagonistá J-113397 csökkenti a nociceptin noradrenalin felszabadulást gátló hatását, ezért a NOP antagonistákat a drogfüggőség kezelésére alkalmas vegyületekként fejlesztik (Ciccocioppo et al. 2000, Ueda et al. 2000, Koob 2008).

Az amygdala basolateralis complexében, mely kitüntetett szerepű az érzelemmel motivált tanulási és memória-funkcióban, a nociceptin a noradrenerg rendszeren keresztül hatékonyan befolyásolja a memóriát (Roosendaal et al. 2007).

A periférián nociceptin szív- és ér-hatásait, az adrenerg rendszerrel való együttműködését elsőként Malinowska et al. (2002) foglalta össze.

A NC az artériákon és a vénákon egyaránt hatékony értágító és jelentős bradycardizáló hatású (Abdelrahman and Pang 2002). A legújabb vizsgálatok a NC bradycardizáló hatásában a ggl. stellatum Ca^{2+} -csatornáinak gátlását fontos tényezőnek találták, mely a $G\beta_2$ and $G\beta_4$ fehérjéken valósul meg (Mahmoud et al. 2012).

Kimutatást nyert, hogy a perifériás nociceptin és a perifériás noradrenalin-szint között negatív korreláció van (Hashiba et al. 2003). Egészséges felnőttekben terhelés hatására a perifériás nociceptin-szint emelkedés mértéke az adrenerg tónus nagyságától függ (Fontana et al. 2010).

A NOP agonista ZP 120, mint hatékony értágító és nátrium-spóroló aquaretikus diuretikum (Simonsen et al. 2008), a fokozott adrenerg tónussal járó kardiovaszkuláris kórképekben klinikai vizsgálat alatt áll (Mustazza and Bastanzio 2011).

CÉLKITŰZÉSEK

Vizsgálatainkat a nociceptin-kutatásnak abban a kezdeti időszakában indítottuk, amikor a nociceptinerg rendszer élettani/farmakológiai szerepéről kevés adat állt rendelkezésre, ill. klinikai jelentősége még nem körvonalazódott.

Célul tűztük ki:

- 1. Annak vizsgálatát, hogy mely klinikai kórképekben van szerepe a perifériás nociceptin-szint elváltozásoknak**
 - 1.1 Vizsgálni kívántuk, hogy a genetikai determináltságú Wilson kór-nak van-e hatása a perifériás nociceptin-szintre, ill. a NOP receptor aktivitására
 - 1.2 Vizsgálni kívántuk, hogy az autoimmun eredetű primer biliáris cirrhosis hatással van-e a perifériás nociceptinerg anyagcsere
 - 1.3 Vizsgálni kívántuk, hogy a hepatocelluláris carcinoma, ill. más daganatos betegségek hatással vannak-e a perifériás nociceptinerg anyagcsere
 - 1.4 Vizsgálni kívántuk, hogy a primer fejfájás-betegségekben érintett-e a perifériás nociceptinerg anyagcsere
 - 1.5 Vizsgálni kívántuk, hogy akut ischémiás stroke valamint krónikus ischémiás kardio-vaszkuláris kórképekben változik-e a perifériás nociceptinerg anyagcsere
- 2. Annak vizsgálatát, hogy a streptozotocinnal kiváltott krónikus diabetes, mint neuropathiás fájdalom-modell hatással van-e a központi idegrendszeri, ill. a perifériás nociceptinerg valamint a nocistatin anyagcsere**
- 3. Annak állatkísérletes vizsgálatát, hogy a központi idegrendszeri nociceptinerg és hisztaminerg anyagcsere kapcsolatban áll- e**
- 4. Annak állatkísérletes vizsgálatát, hogy az újszülöttkori nociceptin, ill. nocistatin –kezelés rendelkezik-e hormonális imprinting aktivitással, ill. befolyással van-e a központi idegrendszer felnőttkori szerotonin és dopamin anyagcserejére**
- 5. Annak állatkísérletes vizsgálatát, hogy az acetilkolieszteráz reaktivátor K27 és K203 hatással van-e a központi idegrendszeri szerotonin, ill. dopamin anyagcsere**

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Állatmodellek

Vizsgálatainkat Wistar (Charles River, Budapest, ill. Toxicop, Budapest) patkányokon végeztük. Az állatok standard körülmények között tartottuk. A mintákat éter narkózis alkalmazása mellett (az állatvédelmi szabályok betartásával, engedélyszám:1806/007/2004), a belső szemzugon át elvégeztettük és a *foramen occipitale magnum*-on át vettük a liquorot. Az agyrészleteket jéghideg alumínium lapon preparáltuk (Glowinski and Iversen 1966) módszere szerint.

A kálium-etiléndiamin-tetraecetsavval (K_2 -EDTA) alvadásgátolt vérhez azonnal 0,6 TIU/ml aprotinint adtunk proteáz inhibitorként. A vért centrifugáltuk és a plazmát valamint a liquor mintákat közvetlenül alkalmaztuk a mérésekhez. A mintákat a felhasználásig -80°C -on tároltuk.

Krónikus diabetes, mint neuropathiás fájdalom-modell

A streptozotocinnal kiváltott krónikus diabetes-t a neuropathiás fájdalom metabolikus modelljeként alkalmaztuk (Courteix et al. 1993) .A diabetest a pentobarbitállal (50mg/ttkg i.p.) altatott állatok (n=50) vena femoralisába adott streptozotocinnal (60mg/ttkg, 0,1ml/100g) indukáltuk. A kontroll csoportba tartozó állatok (n=35) fiziológiás sóoldatot kaptak. A diabetes indukciója után, hetenként ellenőriztük a testtömeg és a vércukorszint alakulását. A vércukor-szintet GOD-POD (Reanal Diagnosztika) spektrofotometriás módszerrel mértük (Hitachi U-200, Tokyo, Japán). Azokat az állatokat tekintettük diabéteszeseknek, melyek vércukorszintje a normál vércukorszintnek legalább a háromszorosára emelkedett ($>18\text{mmol/l}$).

A diabétesz kialakulása után 2, 4, 8, 12 és 16 héttel az állatok egy-egy csoportjából (n=7) vér- és liquor- mintát vettünk, melyeket a további feldolgozásig -80°C -on tároltunk.

Exogén nociceptin hatásának vizsgálata a hisztamin és a szerotonin anyagcserére

Vizsgálatainkban a nociceptint 5,5nmol/állat, a substance P-t (SP) 50nmol/állat, a Compound 48/80-at 100µg/kg és a cromolynt 1mg/kg dózisban adtuk. A vegyületek mindegyikét fiziológiás sóoldatban *ex tempore* oldva, i.c.v. 20µl térfogatban alkalmaztuk. A kontroll csoport azonos térfogatú, oldószert kapott. Vér- és liquor mintát vettünk 1 órával a Compound 48/80 kezelés és 2 órával a nociceptin, valamint a SP kezelést követően. A kombinált kezelések alkalmával a cromolyn-t 30 perccel a Compound 48/80 előtt adtuk.

Betegcsoportok

A vérmintákat a könyökvénából reggel 8.00 és 10.00 óra között, éhgyomorra vettük K₂-EDTA-val alvadásgátolt vacutainer-be, melyhez azonnal aprotinin proteázgátlót adtunk. A plazmát centrifugálással nyertük és a mintákat -80⁰C-on tároltuk a mérés megkezdéséig.

Különböző etiológiájú krónikus májbetegségben szenvedők

A Semmelweis Egyetem I.sz. Belgyógyászati Klinika Hepatológiai Osztályának vezetőjével, Prof. dr. Szalay Ferencsel alakítottunk ki együttműködést és vizsgáltuk a klinikailag jól definiált betegcsoportokban a plazma nociceptin-szintjét. A vizsgálatokat a helyi Etikai Bizottság engedélye birtokában végeztük és a vérminták vételének céljáról a vizsgálati személyeket írásban tájékoztattuk.

Wilson-kóros betegek

A vizsgálatban 21 Wilson-beteg vett részt, akik a betegség standard terápiájaként D-penicillamin kezelésben részesültek a megfelelő diétával kiegészítve. A klinikai tüneteken, a laboratóriumi valamint a genetikai vizsgálatokon alapuló diagnózis megállapítása és a szérumban a ceuroloplazmin-vizsgálatok az I.sz. Belgyógyászati Klinikán történtek. Véréradók, ill. a betegek egészséges rokonai alkották a 25 főből álló kontrol csoportot.

Primer biliáris cirrhosisban szenvedők

A vizsgálatban 24 primer biliaris cirrhosis (PBC) diagnózissal kezelt nőbeteg vett részt; Ludwig (Ludwig et al. 1978) szerinti klinikai stádiumbeosztás: 10 fő PBC II, 8 fő PBC III, 6 fő PBC IV), akik a betegség standard terápiájának minősülő ursodeoxycholsav terápiát kaptak (átlagos kezelés ideje $131,3 \pm 91,0$ hónap). Mindegyikük AMA M2 pozitivitást mutatott és a diagnózis klinikai, laboratóriumi és hisztológiai vizsgálatok alapján került megállapításra. Hat betegnél májbiopszia is történt, mely a cirrhosis tényét igazolta és fokát szövettani vizsgálat állapította meg. Kontroll csoportként 25 korban illesztett egészséges nő szolgált a véradók közül.

Hepatocelluláris carcinomában szenvedők

A vizsgálatban 18 elsődleges hepatocelluláris carcinomás (HCC) beteg vett részt. A diagnózis klinikai, laboratóriumi, US, CT, MRI vizsgálatok valamint vékonytű aspirációs cytológiai és hisztológiai vizsgálatok alapján került megállapításra. A szérum alfa-fötóprotein (AFP) értékek 11 esetben voltak klinikailag szignifikánsan emelkedettek. A daganat átmérők 2,5 és 12 cm tartományba estek, metasztázis nem volt megállapítható. 12 beteg időszakosan nem-opiát típusú fájdalomcsillapítót szedett, 6 főnek nem voltak fájdalmai. A kontroll csoportba 29 egészséges személyt soroltunk, akik véradók, ill. az egészségügyi személyzet tagjai voltak.

Elsődleges fejfájásban szenvedők

A Semmelweis Egyetem Neurológiai Klinikájával (dr. Ertsey Csaba) alakítottunk ki együttműködést és vizsgáltuk a klinikailag jól definiált elsődleges fejfájás-betegek plazma nociceptin-szintjét. A vizsgálatokat a helyi Etikai Bizottság engedélye alapján végeztük és a vizsgált személyektől írásos beleegyező nyilatkozatot kaptunk.

Migrénes betegek

A vizsgálatban 18 migrén-beteg vett részt, akik a migrén roham-terápiájára alkalmazott gyógyszereken kívül más gyógyszeres kezelésben nem részesültek. A vérmintákat fejfájás-mentes időszakban vettük. Hat beteg esetében a migrén roham első órájában is módunk volt vérmintát kapni. Kontroll csoportként 24 egészséges személy szolgált.

Cluster-fejfájásos betegek

A vizsgálatban 14 cluster-fejfájásos beteg vett részt. Betegségük időtartama $13,2 \pm 10,6$ év volt. Nem szerepeltek a csoportban olyan személyek, akik profilaktikus terápiában vagy egyéb betegségük miatt bármely gyógyszeres kezelésben részesültek. Kontrollként életkor és nem szerint illesztett 22 személyből álló csoport szolgált.

Kardio-vaszkuláris kórképekben szenvedő betegek

Akut ischémiás stroke-betegek

A Fővárosi Önkormányzat Szent János Kórház Neurológiai Osztály és Stroke Centrum vezetőjével, dr. Folyovich Andrással alakítottunk ki együttműködést és vizsgáltuk 32 ischémiás stroke-betegek plazma nociceptin és szerotonin valamint 5HIAA szintjét a kórház Etikai Bizottságának engedélye alapján. A vénás vért a kórházba érkezés utáni 6 órán belül gyűjtöttük. A stroke-ot képzalkotó vizsgálattal kimutatott releváns eltérés igazolta, a TIA diagnózisa a klinikai kritériumrendszer alapján került megállapításra.

Krónikus stabil angina pectoris és perifériás artéria-betegek

A Semmelweis Egyetem Érsebészeti Klinikáján dr. Sótonyi Péterrel kialakított együttműködésben vizsgáltuk a klinikailag jól definiált 22 krónikus stabil angina pectoris (SAP) beteg valamint 12 perifériás érbetegek (PAD) plazma nociceptin szintjét. A vizsgálatok a Semmelweis Egyetem TUKÉB engedélye alapján történtek és a vérminta vételéhez a betegek írásos hozzájárulásukat adták. Kontroll csoportként 14 egészséges személy szerepelt, akik semmiféle gyógyszert a vérvételt megelőző 7 napban nem vettek be.

Bioanalitikai módszerek

Nociceptin mennyiségi meghatározása humán plazma, ill. patkány plazma, liquor, agy, máj és uterus szövetben, a módszer validálása

A nociceptin szöveti szintjének meghatározása validált ^{125}I -radioimmunoassay (^{125}I -RIA) módszert dolgoztunk ki. A minta-előkészítési módszer validálása során a nemzetközi szabályoknak megfelelően megállapítottuk a nociceptin stabilitását, a

módszer reprodukálhatóságát és az extrakciós hatásfokot. A RIA mérésekhez az 1-128pg/ml tartományban, ill. a 10-1280pg/ml tartományban mérő ¹²⁵I-Nociceptin RIA kit-et használtunk (Phoenix Pharmaceuticals Inc, Belmont, CA, USA, ill. Peninsula Laboratories, San Carlos, CA, USA). A radioaktivitást 10 mintaváltós γ-mérővel (BIO-RAD, Magyarország) melyhez ISO-DATA 20/20 (ISODATA, Pittsburg, PA USA) spline-illesztéssel értékelő számítógépes program csatlakozott, ill. RIA-Mat 280 (Byk-Sangtec, Dietzenbach, Germany) készülékkel határoztuk meg.

Nocistatin mennyiségi meghatározása patkány plazma, liquor, agy, máj és uterus szövetben, a módszer validálása

A nocistatin szöveti szintjének meghatározása szintén validált ¹²⁵I-radioimmunoassay (¹²⁵I-RIA) módszerrel történt. A szövetek RIA-mérésre történő előkészítése a nociceptin-méréssel azonos módon történt. A RIA mérésekhez az 1-128pg/ml tartományban, ill. a 10-1280pg/ml tartományban mérő ¹²⁵I-Nocistatin RIA kit-et használtunk (Phoenix Pharmaceuticals Inc, Belmont, CA, USA, ill. Peninsula Laboratories, San Carlos, CA, USA). A radioaktivitást 10 mintaváltós γ-mérővel (BIO-RAD, Magyarország) melyhez ISO-DATA 20/20 (ISODATA, Pittsburg, PA, USA) spline-illesztéssel értékelő számítógépes program csatlakozott, ill. RIA-Mat 280 (Byk-Sangtec, Dietzenbach, Germany) készülékkel határoztuk meg.

Dopamin és metabolitjai (DOPAC, HVA), szerotonin és metabolitjai (5HIAA, 5HTOL) meghatározása optimalizált HPLC-EC módszerrel

Mintaelőkészítés

Az agymintákat 0,8 M-os perklórsavban (PCA) késes homogenizálóval homogenizáltuk. A szérum, a vizelet, a liquor és a plazma mintákat a 0,8M-os PCA-val hígítottuk majd centrifugáltuk és a felülúszót közvetlenül használtuk a HPLC meghatározáshoz N-metil-szerotonin belső standardot alkalmazva.

A kromatográfiás rendszer

A kromatográfiás rendszer PU1580 Jasco pumpát, DG-2080-54 degassert, AS-2057 automata injektort és Decade amperometriás/elektrokémiai detektort, ill. Antec Leyden Intro Digital amperometriás detektort és JMBS Hercule 2000 Chromatography Interface-t tartalmazott. A kromatográfiás körülmények a

következők voltak: loop 50 μ l, hőmérséklet 25°C, Eox. 0,65V, érzékenység 10nA, átfolyási sebesség 1ml/perc, filter 1,0sec. A méréshez Zorbax RX-C18 4,6x250mm (5 μ m) analitikai oszlopot (Agilent, USA) és Zorbax RX-C18 4,6x12,5mm (5 μ m), előtétoszlopot (Agilent, USA) használtunk. A kromatográfiás kiértékelés Borwin 1.21, ill. 1.50 kromatográfiás software-rel történt

A mobil fázis összetétele: 56,2mmol/l Na₂HPO₄, 47,9mmol/l citromsav-monohidrát, 0,027mmol/l Na₂EDTA, 0,925mmol/l 1-oktánszulfonsav és 75:950 acetonitril/foszfát puffer. A mobil fázis pH-ját 85% H₃PO₄-al 3,7-re állítottuk be.

A kalibrációs egyenes felvétele: A módszert lineárisnak találtuk 10-1000ng/ml tartományban. A kalibrációs egyenesek meghatározásához 7 pontos, 3 párhuzamossal mért és a legkisebb négyzetek módszerével számolt kalibrációs egyenesekre számoltuk. A kontroll és a kezelt állatok agyhomogenizátumában standard addícióval azonosítottuk a vizsgálandó biogén aminokat és kiszámoltuk a meghatározás alsó határát (LOQ) 1/10 zaj/jel arány mellett

Hisztamin meghatározása mikroradioenzimatikus módszerrel

Hisztamin-N-Metiltranszferáz enzim (HNMT) preparálása tengerimalac agyszövetből

A HNMT preparálása (Pollard et al. 1976) módszere szerint történt. A felülúszó HNMT-preparátum fehérjetartalmát 3,8mg/ml-re állítottuk be. Az egy kísérlethez szükséges enzim-mennyiségeket -20 °C-on tároltuk, legfeljebb 14 napig.

A hisztamin szöveti szintjének meghatározása

A hisztamin szöveti szintjének meghatározása (Taylor and Snyder 1972) módszere szerint történt. A ³H-N^c-metil-hisztamint-t 400 μ l kloroformba extraháltuk majd az elegyet centrifugálásnak vetettük alá, a felülúszót háromszor mostuk, ismét centrifugáltuk, végül a kloroformos fázist szárazra pároltunk és a radioaktivitását Ultima Gold (Packard, Hollandia) szcintillációs koktélban folyadékszcintillációs módszerrel (Beckmann 9000) határoztuk meg.

Bispiridinium aldoximok (K27 és K203) meghatározása optimalizált HPLC-UV és HPLC-EC módszerrel patkányagy, liquor, szem és szérum mintákban

A vegyületek biológiai közegből történő meghatározására olyan optimalizált módszert kellett kidolgoznunk, mellyel a K-vegyület és a biogén aminok valamint ezek metabolitjai egymás mellett meghatározhatók (Gyenge et al. 2006, Tekes et al. 2006b).

A K27 plazma-felezési idejének meghatározásához és a kromatográfiás csúcs azonosságának igazolására HPLC-MS módszert alkalmaztunk.

A Waters HPLC rendszer 717-plusz autoinjektorból, 515 HPLC pumpából és egy 486 Tunable absorbance detektorból állt, melyet 286 nm-en használtunk. A kromatogramokat Millennium Software of Waters rendszerrel értékeltük ki. Állófázisként Supercosil LC8 (250mmx4,6mm, 5µm) szolgált. A mozgó fázis 8% metanol és 92% foszfát-puffer elegye volt (pH=2,6), mely 1µM l-octane sulfonsav natrium monohidrátot tartalmazott. Az áramlási sebesség 1ml/perc, a hőmérséklet 26°C és az injektált térfogat 20µl volt.

A HPLC-MS készülék 1100 HPLC/MSD SL rendszer volt, mely binaris pumpát, degassert, automata injektort, diódasoros detektort, termosztátot és MSD-t tartalmazott. Pozitív ionizációs elektropray módot és 100-1000 amu tartományt alkalmaztunk. A "step size" 0,2 perc, a gáz áramlása és hőmérséklete 13 l/perc és 350 °C, a kapilláris feszültség 3000 V volt. Az állófázis Agilent Zorbax Eclipse XDB-C8 (4,6x150mm, 5µm), a mozgófázis pedig metanol/0,1M ammoniumacetát 8/92 arányú keveréke volt. A detektálást 286nm-en végeztük.

Az állatok kezelése

Nőstény Wistar patkányokat 50µmol/0,5ml K27 vizes oldatával kezeltünk i.p., ill. i.m., majd 5, 15, 30, 45, 60, 120, 180 és 240 perc elteltével (n=8x5 mindkét adagolási mód esetében) a szemzagon át történt elvéreztetésből nyert vért K₂-EDTA-val alvadásgátolt vacutainer-be gyűjtöttük és a plazmát centrifugálással nyertük. A plazma-mintákat a HPLC mérések megkezdéséig -80°C-on tároltuk (engedélyszám: 1810/003/2004 ANTSZ, Budapest).

Mintaelőkészítés

A plazma aliquot-jaihoz 10%-os TCA-t adva fehérje-mentesítettünk, majd centrifugáltunk és a víztiszta felülúszót közvetlenül injektáltuk.

A K27 meghatározása optimalizált HPLC-EC módszerrel patkányagy, liquor és szérum mintákban

K27 esetében a 0,8M-os PCA-ban oldott K27 törzsoldatból felvett 7 pontos, három párhuzamosal készült kalibráció az 5–200ng/ml tartományban linearitást mutatott (a regressziós egyenes egyenlete $y=165661x-70858$, a korrelációs koefficiens értéke $r^2=0,9985$). A K27 oldat egy napon belüli stabilitása megfelelőnek bizonyult ($100\pm 5\%$ SD). A mennyiségi meghatározás alsó határa (LOQ) 10ng/ml.

A kontroll állatok agyhomogenizátumának felülúszójából felvett K27 kalibrációs egyenes 5–200ng/ml koncentrációtartományban szintén lineárisnak mutatkozott (a regressziós egyenes egyenlete $y=136641x-1529392$, a korrelációs koefficiens értéke $r^2=0,9902$). Az International Conference on Harmonization (ICH) Topic Q2B számítások szerint a módszer egy napon belüli és napok közötti pontosság és torzítatlanság értékei elfogadhatónak bizonyultak a vizsgált koncentráció tartományban.

A K203 plazma-felezési idejének, vér-agy-gát átjárhatóságának és a szemben kialakuló koncentrációja időfüggésének meghatározása HPLC-UV és HPLC-EC módszerrel

Az állatok kezelése

Hím Wistar patkányokat 50 μ mol/0,5ml K203 vizes oldatával kezeltünk i.m., majd 5,15, 30, 45, 60, 120 és 240 perc elteltével (n=7x5) a szemzugon át történt elvéreztetésből nyert vért K₂-EDTA-val alvadásgátolt vacutainer-be gyűjtöttük és a szemet valamint az agyrészleteket a K27 esetében leírtak szerint készítettük elő a HPLC mérésekre (engedélyszám: 1810/003/2004 ANTSZ, Budapest).

Statisztikai analízisek

Az eredmények kiértékelését az adott vizsgálatoknak megfelelő statisztikai programmal végeztük. Az állatkísérleteket 95%-os szignifikancia-szint mellett Student

féle kétmintás t-próbával értékeltük. A májbetegyek, az elsődleges fejfájásban szenvedők és az ischémiás stroke-betegyek esetében Mann-Whitney U-tesztet, másrészt Lillifors módszer szerinti Kolgomorov-Smirnov tesztet alkalmaztunk. Az összefüggések értékelésére Spearman, ill. Pearson korrelációt használtunk.

A kardio-vaszkuláris betegek csoportjaiban Brown-Forsythe ANOVA tesztet és Games-Howell post-hoc tesztet alkalmaztunk. Faktor-analízist használtunk a betegek változó paraméterei és a plazma nociceptin-szint közötti, esetleg nem látszó összefüggések feltárására. A betegek folyamatos jellemzői és a plazma nociceptin-szint közötti összefüggések feltárására lineáris és nem-lineáris regressziós módszert alkalmaztunk. A statisztikai analíziseket a Statistica 8.0 (StatSoft Inc. Tulsa, OK, USA), SPSS 15.00 (SPSS Inc. Chicago, IL. USA) programokkal, ill. saját programmal végeztük, mely MATLAB szoftver környezetben működött (The MathWorks Inc. Natick, MA. USA).

EREDMÉNYEK

Különböző etiológiájú krónikus májbetegségben szenvedők plazma nociceptin szintje

Vizsgálatainkat a nociceptin-kutatás azon kezdeti időszakában indítottuk, amikor mindössze öt klinikai vonatkozású közlemény jelent meg a nociceptinnel kapcsolatban, de egyik sem foglalkozott a nociceptin és a krónikus májbetegségek összefüggéseivel, holott az állatkísérletes adatok és in vitro vizsgálatok szerint a NOP receptor mRNS-ének rövid és hosszú variánsai is jelen vannak a májban (Wang et al, 1994).

Wilson-kóros betegek

A plazma nociceptin-szint az egészséges kontroll személyekben $9,18 \pm 2,44$ (pg/ml \pm SD), míg a Wilson-betegekben $14,87 \pm 1,63$ (pg/ml \pm SD) értéknek adódott, mely $p < 0,001$ szinten szignifikáns. Az adott csoporton belül a férfiak és a nők plazma nociceptin-szintje között nem volt különbség. A betegek csoportjában a plazma nociceptin-szint nem mutatott korrelációt sem a májfunkciós értékekkel, sem a

szérum réz-szintekkel, sem a neurológiai tünetek minőségével, sem a klinikai tünetek megjelenése óta eltelt idővel sem a D-penicillamin-kezelés időtartamával.

Primer biliáris cirrhosisban szenvedők

A betegek klinikai stádium-beosztását figyelmen kívül hagyva a kontroll nők $8,94 \pm 1,49$ (pg/ml \pm SD) értékével szemben a PBC csoportban $15,88 \pm 12,57$ (pg/ml \pm SD) értéket kaptunk, ($p < 0,001$). A PBC II. stádiumában lévők ($n=10$) esetében a plazma nociceptin-szint $10,97 \pm 3,24$ (pg/ml \pm SD), a PBC III. stádiumu betegek esetén ($n=8$) $12,32 \pm 2,75$ (pg/ml \pm SD) és a PBC IV. csoportban ($n=6$) $28,20 \pm 21,24$ (pg/ml \pm SD) volt, mely értékek a kontroll csoportéhoz viszonyítva $p < 0,01$, $p < 0,05$ és $p < 0,001$ szinten szignifikáns eltérést mutattak.

A plazma nociceptin-szint pozitív korrelációt mutatott a SeBi ($r=0,46$, $p < 0,05$), az ASAT ($r=0,43$, $p < 0,05$) és az ALP ($r=0,44$, $p < 0,05$) értékekkel, de nem találtunk korrelációt az ALAT és a GGT értékek esetén.

Hepatocelluláris carcinomában szenvedők

A PBC IV. csoport betegei között az egyik nőbeteg plazma nociceptin-szintje kimagaslóan magas értéket mutatott. A klinikai vizsgálatok bizonyították a hepatocelluláris carcinoma kialakulását. Ez irányította a figyelmünket a hepatocelluláris carcinomás (HCC) betegek plazma nociceptin-szintjének vizsgálata felé.

Míg az egészséges kontrol csoport plazma nociceptin szintje $9,2 \pm 1,8$ (pg/ml \pm SD) értéknek adódott, a HCC csoportban egy nagyságrenddel (!!) magasabb, $105,9 \pm 14,4$ (pg/ml \pm SD) értéket tapasztaltunk.

A plazma nociceptin szint nem korrelált sem a tumor méretével, sem a májfunkció klinikai paramétereivel. A fájdalomról panaszkodó betegek ($104,9 \pm 14,9$ pg/ml \pm SD, $n=12$) és a fájdalom-mentes csoport plazma nociceptin-szintjei ($107,7 \pm 14,5$ pg/ml \pm SD, $n=6$) között szignifikáns különbség nem volt.

A különböző etiológiájú daganatos betegek ($n=30$) értékei, akik esetében tumor hepatitis($n=9$), tumor pulmonalis ($n=9$), pancreas carcinoma ($n=1$), choledochus carcinoma ($n=1$), hypernephroma ($n=1$), medulloblastoma ($n=1$), acut lymphoid

leukémia (n=2), emlődaganat (n=4) és prostata carcinoma (n=2) volt a diagnózis a kontroll csoportéhoz viszonyítva szintén egy nagyságrenddel magasabbnak adódtak.

Elsődleges fejfájásban szenvedők

A nociceptin-rendszer és a fájdalom közti összefüggés jelenleg is fontos kérdése a nociceptin-kutatásnak. Vizsgálatainkat akkor kezdtük, amikor mindössze három klinikai publikáció (Brooks et al. 1998, Ko et al. 2002, Anderberg et al. 1998) ellentmondásos adatai voltak ismertek a fájdalom és a plazma nociceptin-szint összefüggése vonatkozásában, bár ezek egyike sem foglalkozott a nociceptinerg rendszer szerepével elsődleges fejfájásokban.

Migrénes betegek

A migrénes betegek csoportjában a plazma nociceptin szint a fájdalom-mentes periódusban (az utolsó migrén-roham után átlagosan $72,15 \pm 42,4$ órával és a vérvétel utáni roham előtt átlagosan $56,9 \pm 40,3$ órával) a kontroll csoport $9,74 \pm 2,43$ pg/ml \pm SD) értékénél $p < 0,0001$ szignifikancia érték mellett alacsonyabbnak ($5,79 \pm 1,82$ pg/ml \pm SD) adódott. Ha az aurával komplikált migrénesek értékeit (n=4) és az aura nélküli migrénes betegek (n=14) értékeit külön ábrázoljuk, mindkét alcsoportban a kontroll értéknél szignifikánsan alacsonyabb plazma nociceptin szintet találunk, de a két alcsoport között nincs szignifikáns eltérés.

Az aura nélküli migrénes betegek közül 6 esetben a migrén-roham idején is kaptunk vérmintát. A fejfájás-roham idején a plazma nociceptin szint további szignifikáns csökkenést mutatva $1,04 \pm 0,17$ (pg/ml \pm SD) értékre zuhant.

A nociceptin-szint szignifikáns korrelációt mutatott a mintavételt megelőző hónapban bekövetkezett migrén-rohamok számával, de nem korrelált az életkorral, a betegség fennállásának időtartamával, az egyes rohamok időtartamával, a vérvétel és az azt megelőző, ill. a mintavétel után bekövetkező első rohamig eltelt idővel és a betegek életkorával.

Cluster-fejfájásos betegek

A cluster-fejfájásban szenvedőktől az egyik minta-sorozatot a fejfájás-mentes periódusban, a másik minta-sorozatot a fejfájásos periódusban, de legalább 3 óra

elteltével az akut fejfájás-roham után gyűjtöttük. A fejfájásos periódusban a kontroll csoport $9,58 \pm 2,57$ (pg/ml \pm SD) értékénél szignifikánsan alacsonyabb ($4,91 \pm 1,96$ pg/ml \pm SD, $p < 0,01$) plazma nociceptin értékeket tapasztaltunk. Ugyanezen betegektől a fejfájás-mentes periódusban kapott vérminták plazma nociceptin szintje $8,60 \pm 1,47$ pg/ml \pm SD értéket mutatott, mely a kontroll csoporttól nem különbözik.

A plazma nociceptin-szint nem mutatott korrelációt sem az életkorral, sem a betegség fennállásának idejével, sem a fejfájás-rohamok időtartamával sem az egyes rohamok napi számával.

Kardio-vaszkuláris kórképekben szenvedő betegek

Vizsgálataink indítékát azok az *in vitro* és *in vivo* állatkísérletes adatok képezték (Malinowska et al. 2002, Champion and Kadowitz 1997) melyek egyértelműen igazolták az exogén nociceptin direkt és indirekt hatását a kardio-vaszkuláris rendszerre (vérnyomáscsökkenés, bradycardia, vasodilatáció), ill. kapcsolatát a biogénamin rendszerrel. (Armstead, 2000)

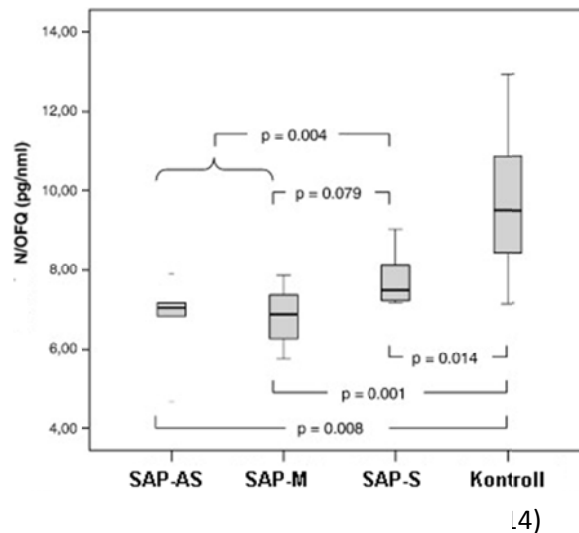
Akut ischémiás stroke-betegek

A kontroll személyek plazma nociceptin-szintje a K0 csoportban $9,9 \pm 1,75$ (pg/ml \pm SD), a K1 csoportban $10,1 \pm 1,56$ (pg/ml \pm SD), értéket mutatott. Miután nincs szignifikáns különbség a két kontroll alcsoport között eredményeiket egyesítve alkalmaztuk a stroke-betegekkel való összehasonlításban. A stroke betegek értéke, ha az ischémiás stroke anatómiai helyét nem vesszük figyelembe, akkor $17,37 \pm 3,3$ (pg/ml \pm SD), mely $p < 0,01$ szinten szignifikáns.

Krónikus stabil angina pectoris és perifériás artéria-betegek

A stabil angina pectoris-betegek eredményeit a 2. ábrán foglaltuk össze:

dc_520_12



2. ábra

Plazma nociceptin szint stabil angina pectoris-ban a klinikai alcsoportok szerint (SAP-AS: stabil angina pectoris degeneratív kalcifikált aorta stenosisal, SAP-M: stabil angina pectoris többszörös coronaria stenosisal, SAP-S: stabil angina pectoris egyszeres coronaria stenosisal)

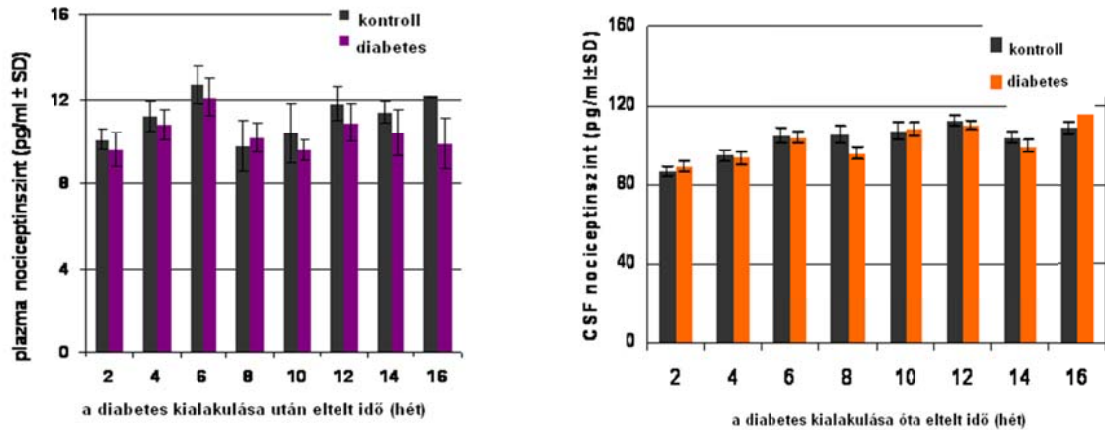
Az atherosclerosis miatt perifériás artéria-beteg közül kilenc mutatta a súlyos claudicatio intermittens tüneteit (séta-távolság<100m), hárman nyugalmi fájdalomról panaszkodtak és gangrénájuk is volt, de egyikük sem szenvedett éjszakai fájdalomtól. A nyugalmi fájdalom csillapítására tramadol-kezelést kaptak és a vérvétel idején legalább 7 napig sem claudicatio sem nyugalmi fájdalom nem jelentkezett esetükben.

A perifériás artéria-betegek esetében a SAP-betegekhez hasonlóan a plazma nociceptin szintjének szignifikáns csökkenését ($6,99 \pm 0,44 \text{ pg/ml} \pm \text{SD}$) tapasztaltuk a kontroll csoport értékeihez ($9,50 \pm 0,84 \text{ pg/ml} \pm \text{SD}$) viszonyítva.

A nociceptin és nocistatin pathophysiológiai szerepének vizsgálata állatkísérletekben

A nociceptin, a nocistatin és a krónikus diabetes, mint neuropathiás fájdalommodell

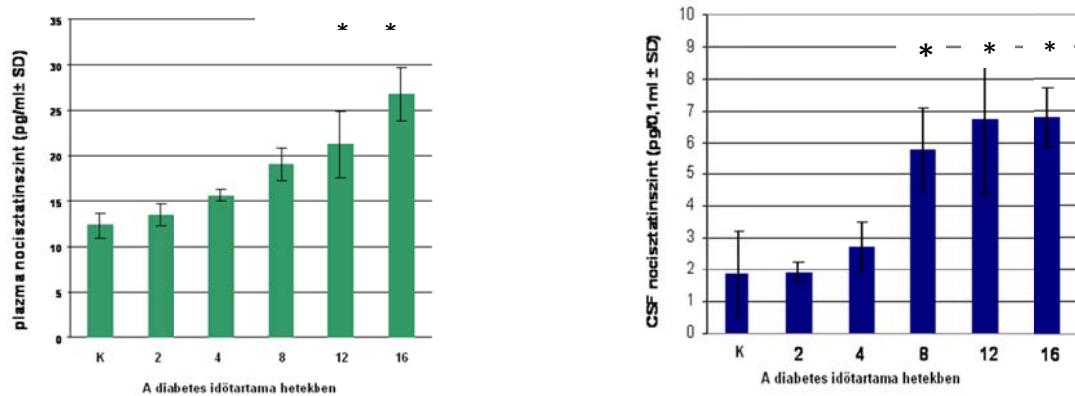
A plazma és a CSF nociceptin-szintjének alakulását a 3. ábra mutatja:



3. ábra

Streptozotocinnal indukált krónikus diabetes hatása patkányok plazma és CSF nociceptin-szintjére az idő függvényében

A plazma és a CSF nocistatin-szintjének alakulását a 4. ábra mutatja:



4. ábra

Streptozotocinnal indukált krónikus diabetes hatása patkányok plazma és CSF nocistatin-szintjére az idő függvényében

Exogén nociceptin hatása a központi idegrendszeri hisztamin és szerotonin szintre

A nociceptin (5,5 nmol/állat) hisztamint felszabadító hatásának maximumát a beadás után 120 perccel mértük, ekkor a kontroll hisztamin-szinthez ($4,5 \pm 0,5 \text{ ng/ml} \pm \text{SD}$, $n=5$) képest közel másfélszeres koncentrációt tapasztaltunk, mely 180 percnél már

csökkenést mutatott. A hisztaminszint emelő hatás maximumán (120 perc) a liquor szerotonin-szintjének szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető.

A hízósejt degranuláló Compound 48/80 (100 μ g/kg i.c.v.) után 60 perccel a liquorban 8,5 \pm 3,1 (ng/ml \pm SD), szignifikánsan magasabb ($p < 0,05$) hisztamin-értéket mértünk, a szerotonin-szint azonban nem változott.

Az i.c.v. adott nociceptin a plazmában sem a hisztamin, sem a szerotonin szintre nem volt hatással. A Compound 48/80 azonban szignifikánsan megemelte a plazmában mind a hisztamin, mind pedig a szerotonin-szintet (Tekes et al. 2005a, Tekes et al. 2006b).

Nociceptinnel, nocistatinnal és β -endorfinnal előidézett hormonális imprinting hatása a noradrenalin, a dopamin és a szerotonin anyagcserére

A „hormonális imprinting” patkányokon is sokszorosán igazolt nyert (Salganik et al. 1978, Nagy et al. 1983). A nociceptin-kutatás kezdeti időszakától ismert volt, hogy az exogén nociceptin jelentős hatással van a biogénaminok (szerotonin, dopamin, noradrenalin) anyagcseréjére (Werthwein et al. 1999, Siniscalchi et al. 1999, Schlicker and Morari 2000).

Eredményeink igazolták, hogy az újszülöttkori nociceptin kezelés iránt az egyes agyterületek különböző érzékenységet mutattak. Csökkent dopamin-szintet találtunk mindkét nemből a striatumban, míg a metabolitja (HVA) emelkedett szöveti szintjét tapasztaltuk az agytörzsben. A szerotonerg rendszer érintettsége minden vizsgált agyterületben (hypothalamus, hippocampus, striatum, agytörzs, frontális kéreg) megfigyelhető volt. Különösen érzékenynek a hypothalamus szerotonerg rendszerét találtuk, ahol az emelkedett szerotonin és 5HIAA szintek mindkét nemből fokozott szerotonerg aktivitásra utalnak.

A nocistatinnal végzett újszülöttkori imprinting-kísérleteink azt mutatják, hogy a nocistatin iránt fokozott a biogénamin-anyagcsere érzékenysége minden vizsgált agyterületben és mindkét nem esetében.

Az újszülöttkori β -endorfinnal végzett imprinting vizsgálatainkban a nocistatin-szint igen erőteljes (a kontrollhoz képest mintegy nyolcszoros) emelkedését tapasztaltuk mind a hím mind a nőstény patkányokban, míg a β -endorfin imprinting a nociceptin-szintre nem volt hatással.

A szerotonerg ingerületátvitelre gyakorolt hatást a szerotonin (5HT) és savas karakterű metabolitja, az 5HIAA szöveti szintjeinek meghatározásával és a szerotonin turnover- értékek (5HIAA/5HT) kiszámolásával jellemeztük. A β -endorfin-imprinting minden vizsgált agyterületben (hypothalamus, hippocampus, frontális kéreg, agytörzs) igen erőteljes szerotonin-turnover fokozódást okozott, mely a hím állatok agresszivitásának, szexuális aktivitásának fokozódásában, a nőstény állatok esetében pedig csökkenésében is tükröződött (Tekes et al. 2003). A β -endorfinnal végzett imprinting kiváltotta szerotonin-szint csökkenés és 5HIAA szint emelkedés (5HT turnover fokozódás) vizsgálataink alapján nem eldönthetően vagy a megemelkedett nocistatin-szintnek vagy a nocistatin hatásához hozzáadódóan a β -endorfin közvetlen hatásának is betudható.

Bispiridinium aldoximok (K27 és K203) hatása a központi idegrendszeri biogénaminok és metabolitjaik (szerotonin, dopamin, noradrenalin, 5HIAA és HVA) patkány agy, liquor és szérum koncentrációira.

Mindkét vizsgált vegyület a kolineszterázt irreverzibilisen bénító organofoszfátok okozta mérgezések potenciális új antidótumaként került szintetizálásra a K. Kuca (Department of Toxicology, Faculty of Military Health Sciences, Defence University, Hradec Kralove, Czech Republic) vezette munkacsoportban. Ismert, hogy egy ideális antidotumnak minden olyan víztérbe el kell jutnia, amelybe a mérgező anyag is eljut, de előnytelen, ha önálló farmakológiai hatással rendelkezik. Így vizsgálni kívántuk, hogy az előzetes toxikológiai tesztekben és in vitro kísérletekben a két legígéretesebbnek mutató K-vegyület (K27 és K203) milyen vér-agy gát (BBB) átjárhatóságot mutat, ill. van-e hatással a központi idegrendszeri biogénamin anyagcserére.

Előzetes farmakokinetikai vizsgálatainkban (Gyenge et al. 2007, Tekes et al. 2006d) megállapítottuk, hogy 50 μ mol K27 i.m. beadása után 60 perccel az agyszövetben a vérkoncentrációnak mintegy 6%-át kitevő mennyiségben (2506 \pm 217ng/mg nedves szövet \pm SD), míg a liquorban 1439 \pm 187ng/ml \pm SD mennyiségben van jelen.

A 50 μ mol K27 i.m. beadása után 60 perccel a teljes agyszövetben mért biogénamin szintek nem különböztek a kontrol értékektől. A K203 15 perces adatai a szerotonin-turnover csökkenését mutatják a kisagyban, a hippocampusban, a hypothalamusban és a frontális kéregben egyaránt, de a gerincvelőben, a striatumban és a nyúltagyban a K203 nem befolyásolta a szerotonin turnover-t. A 15 percnél mért szerotonin-turnover-csökkenés 60 percnél már nem mutatható ki csak a frontális kéregben, ahol a 60 perces érték szignifikánsan magasabb a 15 perces értéknél, de még szignifikánsan alacsonyabb a kontrollnál, azaz 60 percnél már mintegy „rendeződni látszik” a K203 kiváltotta szerotonerg anyagcsere-zavar.

AZ EREMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

Plazma nociceptin szint különböző kórképekben

Új megközelítést hoztak vizsgálataink abban a vonatkozásban, hogy az endogén nociceptin-szintek mérésével kerestük azokat a humán megbetegedéseket, melyekben a nociceptinerg rendszer érintettsége, klinikai jelentősége megállapítható.

Különböző etiológiájú krónikus májbetegségben szenvedők

A nociceptin és májbetegségek kapcsolatának elemzése munkacsoportunk vizsgálataival kezdődött.

Wilson-kóros betegek

Megállapítottuk (Hantos et al. 2002a, Hantos et al. 2002b), hogy Wilson kórban a plazma nociceptin-szint szignifikánsan magasabb ($p < 0,001$), mint az egészséges kontroll személyekben.

Adataink arra utalnak, hogy a Wilson betegekben a nociceptin inaktivációjáért felelős Zn-metalloproteázokban (APN és endopeptidáz 24.15) a toxikus mértékű és krónikus

réz-felhalmozódás miatt Zn-Cu csere következik be, mely az enzimek gátlását, így a plazma nociceptin szintjének szignifikáns emelkedését okozza. Wilson betegekben tehát a nociceptinerg jelátvitel tartós fokozódásával kell számolni.

Primer biliáris cirrhosisban szenvedők

Vizsgálatainkban 24 nőbeteg adatai alapján a plazma nociceptin-szintjének szignifikáns ($p < 0,001$) emelkedését tapasztaltuk. Eredményeink alapján feltételezhető, hogy az antimitokondriális antigén kötődés és a citotoxikus reakció, a gyulladás, progresszíven károsítva a májparenchima sejtek működését következményesen vonja maga után a plazma nociceptin szint emelkedését (Hantos 2003, Horvath et al. 2004).

Hepatocelluláris carcinomában szenvedők

Vizsgálataink bizonyították (Hantos 2003, Horvath et al. 2004, Szalay et al. 2004), hogy a HCC-s és minden vizsgált daganatos betegcsoport esetében a kontroll értéknél nagyságrenddel magasabb a plazma nociceptin szint. Adataink klinikai vizsgálatokban az immunszuppresszív folyamatok és a nociceptinerg rendszer összefüggéseit igazolják. A májcirrhosis és hepatocelluláris carcinoma vonatkozásában Fisher 344 patkányokon létrehozott állatkísérletes modellen is megerősítettük a klinikai anyagon igazolt eredményeinket, mely vizsgálatok Hantos Mónika PhD disszertációjának részét képezi (Hantos 2003).

Elsődleges fejfájásban szenvedők

Migrénes betegek

Az aktuálisan rohammentes migrén betegek plazma nociceptin-szintjét szignifikánsan ($p < 0,0001$) alacsonyabbnak találtuk, mint az egészséges kontroll személyekét. A nociceptin gátló szerepe a dura neurogén vazodilatációjára (Hou et al. 2003) és kapcsolata a CGRP -vel a nociceptinerg rendszert a migrén terápiájában új célpontnak jelöli (Goadsby 2004). Az a megfigyelésünk, miszerint a migrén-roham alatt a plazma nociceptin szintje további drámai csökkenést mutat, további megerősítését adja a nociceptin-rendszer funkcionális jelentőségének a migrénes fejfájás kialakulásában.

Cluster-fejfájásos betegek

A cluster fejfájás és a plazma nociceptin-szintje vonatkozásában irodalmi adatok nem állnak rendelkezésre. (A Phoenix Peptides honlapján referencia-értéknek a mi mérési eredményeink szerepelnek). Az a megfigyelésünk, hogy a cluster- betegek fejfájásos periódusában szignifikánsan alacsonyabb a plazma nociceptin szint, de a fejfájásmentes periódusban a vérminták nociceptin-szintje a kontroll értékre emelkedik vissza, azt látszik bizonyítani, hogy a cluster fejfájás esetében is funkcionális szerepe van a perifériás nociceptin-szintnek.

Kardio-vaszkuláris kórképekben szenvedő betegek

Akut ischémiás stroke-betegek

Az ischémiás stroke-betegektől a kórházba kerülés idejétől számított 6 órán belül gyűjtött vérmintákban a plazma nociceptin szintet szignifikánsan magasabbnak találtuk. Az ischémiás stroke anatómiai helye nem befolyásolta a nociceptin-szint emelkedés mértékét (Tekes et al. 2006a). Vizsgálatainkban a szerotonerg neurotranszmisszió érintettségét mutattuk ki akut ischémiás stroke-ban; a plazma szerotonin-szintjének változását nem tapasztaltuk, de szignifikáns emelkedést mértünk a metabolitjának (5HIAA) szintjében.

Krónikus stabil angina pectoris és perifériás artéria-betegek

Megállapítottuk (Krepuska et al. 2011), hogy atherosclerosis talaján kifejlődött krónikus angina pectoris esetében a krónikus ischémiás klinikai állapotban a plazma nociceptin-szintje a kontroll értéktől szignifikánsan alacsonyabb. A műtéti beavatkozásra váró, súlyosan és hosszú ideje ischémiás perifériás artéria-betegek esetében szintén szignifikánsan alacsonyabb plazma nociceptin-szinteket találtunk. Adataink tükrében felmerül a kérdés, hogy az alacsony plazma nociceptin-szint a krónikus ischémiás állapot következményeként jön-e létre vagy előrejelző információval szolgál-e kardio-vaszkuláris betegség kialakulására.

A nociceptin és nocistatin pathophysiológiai szerepének vizsgálata állatkísérletekben

A nociceptin, a nocistatin és a krónikus diabetes, mint neuropathiás fájdalom-modell

A streptozotocin-indukálta krónikus diabetes neuropathiás fájdalom-modell vizsgálatainkban (Tekes et al. 2005b) 16 hétig követve a plazma és a CSF nociceptin szintjét az emelkedés egyik szövetben sem érte el a szignifikáns szintet. Ugyanakkor a nocistatin szinteket mindkét szövetben a kontroll értéknél szignifikánsan magasabbnak találtuk a diabetes fennállásának 8. hetétől a teljes vizsgálati időszakban. Adataink a nociceptin-nocistatin rendszer dinamikus változására utal a betegség előrehaladásával. Fontosnak tartanánk klinikai anyagon is vizsgálni a nociceptinerg rendszer szerepét diabetesben.

Exogén nociceptin hatása a központi idegrendszeri hisztamin és szerotonin szintre

Adataink azt bizonyítják, hogy a nociceptin a központi idegrendszerben fokozza mind a hízósejtekből, mind a neuronálisan jelenlévő hisztamin kiáramlását. Az a megfigyelésünk, hogy a NC szignifikánsan csökkenti a központi idegrendszeri szerotonin-szintet összhangban áll az irodalmi adatokkal (Siniscalchi et al. 1999, Sbrenna et al. 2000, Mela et al. 2004, Berger et al. 2006).

Nociceptinnel, nocistatinnal és β -endorfinnal előidézett hormonális imprinting hatása a dopamin és a szerotonin anyagcserére

Eredményeink igazolták, hogy nemcsak a β -endorfin, de a nociceptin és a nocistatin is rendelkezik imprinting aktivitással, azaz az újszülöttkori imprinting hatása a felnőttkorú patkányok központi idegrendszerében (Csaba and Tekes 2005) igen erőteljesen befolyásolja mind a szerotonin mind a dopamin neurotranszmissziót.

Újszülöttkori nociceptin imprinting

A nociceptin kezelés iránt az egyes agyterületek különböző érzékenységet mutattak (Tekes et al. 2009c). A szerotonerg rendszer érintettsége minden vizsgált agyterületben (hypothalamus, hippocampus, striatum, agytörzs, frontális kéreg)

megfigyelhető volt. Eredményeink jó összhangot mutatnak azokkal az irodalmi adatokkal, melyekben a nociceptin a szerotonin felszabadulás egyik legfontosabb preszinaptikus modulátorának mutatkozott (Siniscalchi et al. 1999, Sbrenna et al. 2000, Schlicker and Morari 2000, Lu et al. 2010). Az a megfigyelésünk, hogy a nociceptin imprinting a frontális kéreg noradrenalin- szintjének csökkenését okozza, jó összhangot mutat (Marti et al. 2003) in vitro adataival, aki patkányagy frontális kéreg-preparátumon a nociceptint erőteljes noradrenalin-felszabadulást okozó anyagnak találta.

Újszülöttkori nocistatin imprinting

A nocistatinnal végzett újszülöttkori imprinting-kísérleteink azt mutatják, hogy a nocistatin iránt fokozott a biogénamin-anyagcsere érzékenysége minden vizsgált agyterületben és mindkét nem esetében.

Újszülöttkori β -endorfin imprinting

A β -endorfinnal végzett imprinting vizsgálatainkban (Tekes et al. 2004, Csaba et al. 2003a) a nocistatin-szint igen erőteljes (a kontrollhoz képest mintegy nyolcszoros) emelkedését tapasztaltuk mind a hím mind a nőstény patkányokban, míg a β -endorfin imprinting a nociceptin-szintre nem volt hatással. Figyelemre méltó, hogy a β -endorfin imprinting csak a nocistatin szintjét emelte. A β -endorfin-imprinting minden vizsgált agyterületben igen erőteljes szerotonin-turnover fokozódást okozott, mely a hím állatok agresszivitásának, szexuális aktivitásának fokozódásában, a nőstény állatok esetében pedig csökkenésében is tükröződött (Tekes et al. 2004, Csaba et al. 2003a).

Bispiridinium aldoximok (K27 és K203) hatása a központi idegrendszeri biogénaminok és metabolitjaik (szerotonin, dopamin, noradrenalin, 5HIAA és HVA) patkány agy, liquor és szérum koncentrációira.

A bispiridínium aldoximok központi idegrendszeri biogénamin anyagcserére gyakorolt hatásának vizsgálatával munkacsoportunk foglalkozott elsőként. Optimalizált HPLC módszert dolgoztunk ki az organofoszfát-mérgezések potenciális

új antidótumai (K-vegyületek) közül a legígéretesebbek (K27 és K203) bioanalitikájára (Gyenge et al. 2007, Tekes et al. 2006d), vizsgáltuk ezen rendkívül hidrophil vegyületek központi idegrendszerbe való bejutásának mértékét és időfüggését (Laufer et al. 2010, Szegi et al. 2010). pralidoximmal összevetésben (Kalasz et al. 2009b) valamint ennek mechanizmusát (Lorke et al. 2008). Adataink alapján felmerül, hogy a K-vegyületeknek a vér-agy gáton (BBB) és a vér-liquor-gáton (BCSFB) való átjutásában hordozófehérje játszik közre (Lorke et al. 2008).

A K27 esetében 60 perccel a beadás után nem tapasztaltunk változást az agyi biogénamin szintekben. A K203 15 perccel a beadás után a szerotonin-turnover csökkenését mutatják minden vizsgált agyterületben, de 60 percnél már rendeződik a K203 kiváltotta szerotonerg anyagcsere-zavar.

A DOKTORI ÉRTEKEZÉS LEGFONTOSABB ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSAI:

1. Megállapítottuk, hogy Wilson betegekben a plazma nociceptin szintje a élet teljes időtartama alatt magas, tehát a nociceptinerg jelátvitel tartós fokozódásával kell számolni. Ennek oka a betegség lényegét jelentő toxikus mértékű és krónikus réz-felhalmozódás, ami a nociceptint inaktiváló enzimek gátlását okozza.
2. Megállapítottuk, hogy primer biliáris cirrhosisban a plazma nociceptin szintje szignifikánsan emelkedik, melynek mértéke a betegség klinikai progressziójával pozitív korrelációban van. Ennek oka a betegségre jellemző májparenchima sejtek progresszív károsodásából következményesen kialakuló magas plazma nociceptin szint.
3. Megállapítottuk, hogy minden vizsgált daganatos betegcsoportban a kontroll értéknél nagyságrenddel magasabb a plazma nociceptin szint. Ennek hátterében feltételezhetően az áll, hogy a NOP receptor közvetítette hatások kitüntetett szereppel bírnak az immunfolyamatok szabályozásában. Adataink tükrében felmerül a plazma nociceptin-szint kórjelző szerepe a daganatos betegségek kimutatásában.

4. Megállapítottuk, hogy migrén betegek plazma nociceptin-szintje szignifikánsan alacsonyabb, mint az egészséges kontroll személyeké. A migrén-roham alatt a plazma nociceptin szintje további drámai csökkenést mutat, ami a nociceptin-rendszer funkcionális zavarára mutat a migrénes fejfájás kialakulásában.
5. A cluster-betegek fejfájás-mentes és fejfájásos periódusában végzett méréseinkkel bizonyítottuk, hogy a primér fejfájásoknak ebben a fajtájában is funkcionális jelentősége van a nociceptinerg rendszernek.
6. Megállapítottuk, hogy akut ischémiás stroke emelkedett nociceptin-szintet és a szerotonin-anyagcsere zavarát eredményezi.
7. Megállapítottuk, hogy krónikus ischémiás állapotokat (atherosclerosis talaján kifejlődő angina pectoris, ill. perifériás érbetegség) a klinikai állapottal korreláló alacsony perifériás nociceptin-szint jellemez.
8. Megállapítottuk, hogy a központi idegrendszerben a nociceptin a hízósejtes és neuronális hisztamint egyaránt felszabadítva fokozza a hisztaminerg neurotranszmissziót.
9. A streptozotocin-indukálta krónikus diabetes neuropáthiás fájdalom-modell vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy diabetesben a központi idegrendszeri nocistatin-szint erőteljesen emelkedik.
10. Kimutattuk, hogy mind a nociceptin mind a nocistatin erőteljes hormonális imprinting hatással bír: az újszülöttkori kezelés hatása a központi idegrendszerben megváltozott felnőttkori dopamin-, szerotonin- és noradrenalin-anyagcserét eredményez.
11. Megállapítottuk, hogy a β -endorfinnal végzett imprinting igen erőteljes nocistatin-szint emelkedést és agyi régió-szelektív szerotonin turnover fokozódást okoz, mely mind a hím mind a nőstény állatok szexuális viselkedésében, agresszivitásában jól tükröződik.
12. Optimalizált HPLC módszert dolgoztunk ki az acetilkolineszteráz reaktivátor K27 és K203 bioanalitikájára szérumból, agy- és liquor-mintákból.

13. Megállapítottuk, hogy a rendkívül hidrophil karakterük ellenére a K27 és a K203 egyaránt terápiás mennyiségben bejut a központi idegrendszerbe; intramusculáris alkalmazás után 15 perccel a K27 nem, de a K203 agyi régió-szelektív szerotonin-turnover csökkenést okoz, mely 60 perc után a frontális kéreg kivételével minden agyi régióban rendeződik.

A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Klinikai anyagon végzett vizsgálatok

1. Csobay-Novák C, Sótonyi P, Krepuska M, Zima E, Szilágyi N, Tóth S, Szeberin Z, Acsády G, Merkely B, **Tekes K**: Decreased plasma nociceptin/orphanin FQ levels after acute coronary syndromes.
Acta Physiol Hung. 2012 Jun;99(2):99-110
IF: 0.821
2. Krepuska M, Sotonyi P, Csobay-Novák Cs, Szeberin Z, Hartyánszky I, Zima E, Szilágyi N, Horkay F, Merkely B, Acsády Gy, **Tekes K**
Plasma nociceptin/orphanin FQ levels are lower in patients with chronic ischemic cardiovascular diseases-A pilot study
REGULATORY PEPTIDES 169:(1-3) pp. 1-5. (2011)
IF: 2.110
3. **Tekes K**, Hantos M, Bátor G, Gyenge M, Laufer R, Folyovich A
Endogenous nociceptin level in ischemic stroke: connection to serotonin system: Endogén nociceptin-szint vizsgálatok ischémiás stroke-ban: a nociceptinerg rendszer kapcsolata a szerotonerg rendszerrel.
NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA 8:(2) pp. 53-59. (2006)
Függő idéző: 1 Összesen:
4. Ertsey C, Hantos M, Bozsik G, **Tekes K**
Plasma nociceptin levels are reduced in migraine without aura
CEPHALALGIA 25:(4) pp. 261-266. (2005)

IF: 4.657

Független idéző: 11 Független idéző: 1 Összesen: 12

5. Ertsey C, Hantos M, Bozsik G, **Tekes K**
Circulating nociceptin levels during the cluster headache period
CEPHALALGIA 24:(4) pp. 280-283. (2004)
IF: 3.133
Független idéző: 12 Független idéző: 2 Összesen: 14
6. Horváth A, Folhoffer A, Lakatos PL, Halász J, Illyés Gy, Schaff Zs, Hantos MB, **Tekes K**, Szalay F
Rising plasma nociceptin level during development of HCC: A case report
WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 10: pp. 152-154. (2004)
Független idéző: 8 Független idéző: 2 Összesen: 10
7. Szalay F, Hantos MB, Horvath A, Lakatos PL, Folhoffer A, Dunkel K, Hegedus D, **Tekes K**
Increased nociceptin/norphanin FQ plasma levels in hepatocellular carcinoma.
WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY 10: pp. 42-45. (2004)
Független idéző: 14 Független idéző: 1 Összesen: 15
8. Hantos MB, **Tekes K**, Szalay F.:Perifériás nociceptin szint Wilson kórban
Acta Pharm Hung. 2002;72(4):260-4.
9. Hantos M B, Szalay F, Lakatos P L, Hegedus D, Firneisz G, Reiczigel J, Török T, **Tekes K**
Elevated plasma nociceptin level in patients with Wilson disease
BRAIN RESEARCH BULLETIN 58:(3) pp. 311-313. (2002)
IF: 2.283
Független idéző: 13 Független idéző: 7 Összesen: 20

Állatkísérletes munkákból készült közlemények

10. Szegi P, Kalász H, Laufer R, Kuca K, **Tekes K**
Pyridinium aldoxime analysis by HPLC: The method for studies on

pharmacokinetics and stability

ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY 397:(2) pp. 579-586.

(2010)

IF: 3.841

11. Laufer R, Kalász H, Musilek K, Szegi P, Darvas F, Kuca K, **Tekes K**
Synthesis, antidotal effects and HPLC behavior of some novel pyridinium
aldoximes
CURRENT ORGANIC CHEMISTRY 14:(5) pp. 447-456. (2010)
IF: 2.920
Független idéző: 3 Függő idéző: 3 Összesen: 6
12. Kalasz H, Szoko E, Tabi T, Petroianu GA, Lorke DE, Omar A, Alafifi S, Jasem
A, **Tekes K**
Analysis of Pralidoxime in Serum, Brain and CSF of Rats
MEDICINAL CHEMISTRY 5:(3) pp. 237-241. (2009)
IF: 1.642
Független idéző: 6 Függő idéző: 3 Összesen: 9
13. Csermely T, Kalasz H, Petroianu GA, Kuca K, Darvas F, Ludanyi K, Mudhafar
AA, **Tekes K**
Analysis of pyridinium aldoximes - a chromatographic approach.
CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 15:(23) pp. 2401-2418. (2008)
IF: 4.823
Független idéző: 3 Függő idéző: 7 Összesen: 10
14. **Tekes K**, Gyenge M, Sótonyi P, Csaba G
Effect of neonatal nociceptin or nocistatin imprinting on the brain
concentration of biogenic amines and their metabolites
BRAIN & DEVELOPMENT 31:(4) pp. 282-287. (2009)
IF: 1.743
Független idéző: 2 Függő idéző: 3 Összesen: 5
15. Lorke D E, Kalasz H, Petroianu G A, **Tekes K**
Entry of oximes into the brain: A review
CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 15:(8) pp. 743-753. (2008)

IF: 4.823

Független idéző: 37 Független idéző: 12 Összesen: 49

16. **Tekes K**, Gyenge M, Hantos M, Csaba C
Effect of β -endorphin imprinting during late pregnancy on the brain serotonin and plasma nocistatin levels of adult male rats
HORMONE AND METABOLIC RESEARCH 39:(7) pp. 479-481. (2007)
IF: 2.254
Független idéző: 2 Független idéző: 3 Összesen: 5
17. Gyenge M, Kalász H, Petroianu G A, Laufer R, Kuca K, **Tekes K**
Measurement of K-27, an oxime-type cholinesterase reactivator by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection from different biological samples
JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A 1161:(1-2) pp. 146-151. (2007)
IF: 3.641
Független idéző: 3 Független idéző: 15 Összesen: 18
18. Gyenge M, Hantos M, Laufer R, **Tekes K**
Effect of nociceptin on histamine and serotonin release in the central nervous system: A nociceptin hatása a hisztamin és szerotonin kiáramlásra a központi idegrendszerben
ACTA PHARMACEUTICA HUNGARICA 76:(3) pp. 127-132. (2006)
Független idéző: 3 Független idéző: 1 Összesen: 4
19. Gyenge M, Bátor Gy, Hantos M, Bizderi B, **Tekes K.**: A nociceptinerg és a hisztaminerg rendszer kapcsolatának vizsgálata hím Wistar patkányokon. Orvostudományi Értesítő (EME), 2005, 78:61-65.
20. **Tekes K**, Hasan M Y, Sheen R, Kuca K, Petroianu G, Ludányi K, Kalász H
High-performance liquid chromatographic determination of the plasma concentration of K-27, a novel oxime-type cholinesterase reactivator
JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY A 1122:(1-2) pp. 84-87. (2006)
IF: 3.554
Független idéző: 5 Független idéző: 21 Összesen: 26

21. **Tekes K**, Hantos M, Bizderi B, Gyenge M, Kecskeméti V, Huszti Z
Nociceptin-induced histamine release in the brain: Comparison with
compound 48/80- and substance P-induced amine secretions
INFLAMMATION RESEARCH 55:(SUPPL. 1) pp. S30-S31. (2006)
Független idéző: 1 Összesen: 1
22. Csaba G, **Tekes K**
Is the brain hormonally imprintable?
BRAIN & DEVELOPMENT 27:(7) pp. 465-471. (2005)
IF: 1.452
Független idéző: 3 Független idéző: 9 Összesen: 12
23. **Tekes K**, Hantos M, Bizderi B, Gyenge M, Kecskeméti V, Huszti Z
Stimulating effect of nociceptin on histamine release in the rat brain?
INFLAMMATION RESEARCH 54:(SUPPL. 1) pp. S38-S39. (2005)
33. Meeting of the European Histamine Research , Heinrich-Heine-University
Düsseldorf, Germany, April 28. - May 2. 2004.
Független idéző: 2 Független idéző: 2 Összesen: 4
24. **Tekes K**, Hantos M, Gyenge M, Bizderi B, Kecskeméti V
Diabetes and endogenous orphanin FQ/nociceptin levels in rat CSF and
plasma
INTERNATIONAL JOURNAL OF DIABETES AND METABOLISM 13:(3) pp.
147-153. (2005)
Független idéző: 2 Összesen: 2
25. Csaba G, Knippel B, Karabélyos CS, Inczefy-Gonda A, Hantos M, **Tekes K**
Endorphin excess at weaning durably influences sexual activity, uterine
estrogen receptor's binding capacity and brain serotonin level of female rats
HORMONE AND METABOLIC RESEARCH 36: pp. 39-43. (2004)
IF: 1.946
Független idéző: 1 Független idéző: 10 Összesen: 11
26. **Tekes K**, Hantos M, Csaba G
Single neonatal treatment with β -endorphin (hormonal imprinting) extremely
enhances nocistatin level of cerebrospinal fluid in adult rats

LIFE SCIENCES 74:(16) pp. 1993-1997. (2004)

IF: 2.158

Független idéző: 4 Függő idéző: 12 Összesen: 16

27. Csaba G, Knippel B, Karabélyos C, Inczeffi-Gonda A, Hantos M, Tóthfalusi L, **Tekes K**

Effect of neonatal beta-endorphin imprinting on sexual behavior and brain serotonin level in adult rats

LIFE SCIENCES 73:(1) pp. 103-114. (2003)

IF: 1.944

Független idéző: 1 Függő idéző: 20 Összesen: 21

**A DOKTORI ÉRTEKEZÉSBEN NEM SZEREPLŐ, AZ
ORVOSTUDOMÁNY KANDIDÁTUSA FOKOZAT MEGSZERZÉSE
UTÁN MEGJELENT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE (LEZÁRVA
2012. JÚLIUS 15.)**

1. Arato M, **Tekes K**, Tothfalusi L, Magyar K, Palkovits M, Frecska E, Falus A, MacCrimmon DJ
Reversed hemispheric asymmetry of imipramine binding in suicide victims
BIOLOGICAL PSYCHIATRY 29:(7) pp. 699-702. (1991)
IF: 2.300
Független idéző: 38 Függő idéző: 2 Összesen: 40
2. Arato M, Frecska E, **Tekes K**, MacCrimmon D J
Serotonergic interhemispheric asymmetry: Gender difference in the orbital cortex
ACTA PSYCHIATRICA SCANDINAVICA 84:(1) pp. 110-111. (1991)
IF: 0.984
Független idéző: 52 Függő idéző: 3 Összesen: 55
3. Arato M, Frecska E, MacCrimmon D J, Guscott R, Saxena B, **Tekes K**, Tothfalusi L
Serotonergic interhemispheric asymmetry: Neurochemical and pharmaco-

EEG evidence

PROGRESS IN NEURO-PSYCHOPHARMACOLOGY & BIOLOGICAL
PSYCHIATRY 15:(6) pp. 759-764. (1991)

IF: 0.891

Független idéző: 44 Függő idéző: 1 Összesen: 45

4. Faludi G, **Tekes K**
Platelet 3H-imipramine binding in major depressive episodes
EUROPEAN PSYCHIATRY 6:(2) pp. 73-78. (1991)
5. Gyertyan I, Petocz L, Gacsalyi I, Fekete M I K, **Tekes K**, Kapolnai L
Psychopharmacological effects of an imino-thiazolidine derivative
antidepressant candidate, EGYT-4201
DRUG DEVELOPMENT RESEARCH 22:(4) pp. 385-399. (1991)
IF: 1.322
Független idéző: 2 Függő idéző: 1 Összesen: 3
6. Malomvolgyi B, Tothfalusi L, **Tekes K**, Magyar K
Comparison of Serotonin Agonistic And Antagonistic Activities of A New
Antidepressant Agent Trelibet (egy-475) And Its Metabolite Egyt-2760 ON
Isolated Rat Fundus
ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA 78:(3) pp. 201-209. (1991)
IF: 0.228
Független idéző: 11 Összesen: 11
7. **Tekes K**, Faludi G
Platelet serotonin transport of drug-free panic disorder patients
PHARMACOLOGICAL RESEARCH 25:(SUPPL. 2) pp. 216-217. (1992)
8. Timar J, Gyarmati Z, **Tekes K**, Harsing G L, Knoll J
Further proof that (-)deprenyl fails to facilitate mesolimbic dopaminergic
activity
PHARMACOLOGY BIOCHEMISTRY AND BEHAVIOR 46:(3) pp. 709-
714. (1993)
IF: 1.529
Független idéző: 7 Függő idéző: 3 Összesen: 10

9. Faludi G, **Tekes K**, Tothfalusi L
Comparative study of platelet 3H-paroxetine and 3H-imipramine binding in panic disorder patients and healthy controls
JOURNAL OF PSYCHIATRY & NEUROSCIENCE 19:(2) pp. 109-113. (1994)
IF: 0.923
Független idéző: 26 Összesen: 26
10. Borcsiczky D, Szalay F, **Tekes K**, Tarcali J, Magyar K, deChatel R
Platelet serotonin (5-HT) content is decreased in patients with alcoholic liver cirrhosis, but elevated in Gilbert's syndrome.
JOURNAL OF HEPATOLOGY 25:(5) pp. 781-782. (1996)
Független idéző: 7 Összesen: 7
11. Kecskeméti V, Pacher P, Szalai G, Wollak I, **Tekes K**, Posa I, Kocsis E
Electrophysiological characteristics of ventricular muscles from diabetic hearts
ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA 84:(3) pp. 295-296. (1996)
12. Magyar K, Szende B, Lengyel J, **Tekes K**
The pharmacology of B-type selective monoamine oxidase inhibitors; milestones in (-)-deprenyl research
JOURNAL OF NEURAL TRANSMISSION-SUPPLEMENT 48: pp. 29-43. (1996)
IF: 1.195
Független idéző: 22 Független idéző: 11 Összesen: 33
13. Malomvölgyi B, Koltai M, **Tekes K**, Hadházy P, Magyar K
Bradykinin vazorelaxáns hatása izolált kutya renalis artériában és perfundált kutya vesében
GYÓGYSZERÉSZET 40:(7) pp. 484-485. (1996)
14. Malomvölgyi B, Hadházy P, **Tekes K**, Koltai M Zs, Pogátsa G
Comparison of the vasodilatory effects of bradykinin in isolated dog renal arteries and in buffer-perfused dog kidneys
ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA 84:(1) pp. 9-18. (1996)
Független idéző: 2 Összesen: 2

15. Hrdina P, Faludi G, Li Q, Bendotti C, **Tekes K**, Sotonyi P, Palkovits M
Growth-associated protein (GAP-43), its mRNA, and protein kinase C (PKC) isoenzymes in brain regions of depressed suicides
MOLECULAR PSYCHIATRY 3:(5) pp. 411-418. (1998)
IF: 4.756
Független idéző: 31 Fügő idéző: 1 Összesen: 32
16. Mészáros ZS, Borcsiczky D, Máté M, Tarcali J, **Tekes K**, Magyar K
MAO inhibitory side effects of neuroleptics and platelet serotonin content in schizophrenic patients
JOURNAL OF NEURAL TRANSMISSION-SUPPLEMENT 52: pp. 79-85. (1998)
Független idéző: 7 Összesen: 7
17. Mészáros ZS, Borcsiczky D, Máté M, Tarcali J, Szombathy T, **Tekes K**, Magyar K
Platelet MAO-B activity and serotonin content in patients with dementia: effect of age, medication and disease
NEUROCHEMICAL RESEARCH 23:(6) pp. 863-868. (1998)
IF: 1.677
Független idéző: 11 Összesen: 11
18. Pacher P, Ungvari Z, Timar J, Gyarmati S, **Tekes K**, Kecskemeti V
Cardiac electrophysiology of chronic fluoxetine treatment in diabetic rats
MEDICAL SCIENCE MONITOR-INTERNATIONAL MEDICAL JOURNAL FOR EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH 4:(2) pp. 202-208. (1998)
19. **Tekes K**, Magyar K
Effect of MAO inhibitors of the high-affinity reuptake of biogenic amines in rat subcortical regions.
NEUROBIOLOGY - BUDAPEST 8:(3-4) pp. 257-264. (2000)
Független idéző: 5 Fügő idéző: 1 Összesen: 6
20. Kecskeméti V, Pacher P, Ungvári Z, **Tekes K**, Koller Á
The role of NO in altered sensitivity of vascular preparations to drugs in diabetic animals

In: Gryglewski R, Minuz P (szerk.)

Nitric Oxide: Basic Research and Clinical Applications: Proceedings of the
NATO Advanced Study Institution

Amsterdam: IOS Press, 2001. pp. 199-200.

(ISBN:1-58603-164-3)

21. Szökő É, Haberle D, Halász A S, **Tekes K**, Magyar K
Protective effect of 7-nitroindazole against DSP-4 induced noradrenaline
depletion in mouse hippocampus
JOURNAL OF NEURAL TRANSMISSION 108:(4) pp. 407-413. (2001)
IF: 1.862
Független idéző: 1 Összesen:
22. Csaba G, Knippel B, Karabélyos C, Inczefi-Gonda A, Hantos M, **Tekes K**
Impact of single neonatal serotonin treatment (hormonal imprinting) on the
brain-serotonin content and sexual behavior of adult rats
LIFE SCIENCES 73: pp. 2703-2711. (2003)
IF: 1.944
Független idéző: 2 Független idéző: 5 Összesen: 7
23. Kalász H, Hasan M Y, Sheen R, Kuca K, Petroianu G, Ludányi K, Gergely
A, **Tekes K**
HPLC analysis of K-48 concentration in plasma
ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY 385:(6) pp. 1062-
1067. (2006)
IF: 2.591
Független idéző: 7 Független idéző: 24 Összesen: 31
24. Kóti J, Háda V, Petroianu G, Hasan M Y, **Tekes K**, Szücs Z, Kalász H
Monitoring the metabolism of moexipril to moexiprilat using high-performance
liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry
JOURNAL OF CHROMATOGRAPHIC SCIENCE 44:(4) pp. 214-218. (2006)
IF: 0.880
Független idéző: 4 Független idéző: 1 Összesen: 5

25. **Tekes K**, Hantos M, Gyenge M, Karabélyos Cs, Csaba G
Prolonged effect of stress at weaning on the brain serotonin metabolism and sexuality of female rats
HORMONE AND METABOLIC RESEARCH 38:(12) pp. 799-802. (2006)
IF: 1.997
Független idéző: 1 Függő idéző: 1 Összesen: 2
26. Benko B, Kalász H, Ludányi K, Petroianu G, Kuca K, Darvas F, **Tekes K**
In vitro and in vivo metabolisms of K-48
ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY 389:(4) pp. 1243-1247. (2007)
IF: 2.867
Független idéző: 2 Függő idéző: 6 Összesen: 8
27. Kalász H, Petroianu G, **Tekes K**, Klebovich I, Ludányi K, Gulyás Zs
Metabolism of moexipril to moexiprilat: Determination of in vitro metabolism using HPLC-ES-MS
MEDICINAL CHEMISTRY 3:(1) pp. 101-106. (2007)
Független idéző: 4 Függő idéző: 3 Összesen: 7
28. **Tekes K**, Tóthfalusi L, Hantos M, Csaba G
Effect of neonatal benzpyrene imprinting on the brain serotonin content and nocistatin level in adult male rats
ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA 94:(3) pp. 183-189. (2007)
IF: 0.453
Független idéző: 2 Függő idéző: 2 Összesen: 4
29. **Tekes K**, Hantos M, Gyenge M, Csaba G
Perinatal alcohol exposure enhances nocistatin levels in adulthood
ADDICTION BIOLOGY 12:(2) pp. 173-175. (2007)
IF: 2.833
Függő idéző: 3 Összesen: 3
30. Kalász H, Laufer R, Szegi P, Kuca K, Musilek K, **Tekes K**
HPLC study of the pharmacokinetics of K-203
ACTA CHROMATOGRAPHICA 20:(4) pp. 575-584. (2008)

IF: 0.621

Független idéző: 1 Függő idéző: 5 Összesen: 6

31. **Tekes K**

HPLC determination of serotonin and its metabolites from human platelet-rich plasma; shift to 5-hydroxytryptophol formation following alcohol consumption
JOURNAL OF CHROMATOGRAPHIC SCIENCE 46:(2) pp. 169-173. (2008)

IF: 1.135

Független idéző: 3 Összesen: 3

32. Zadori ZS, Shujaa N, Koles L, Kiraly KP, **Tekes K**, Gyires K

Nocistatin and nociceptin given centrally induce opioid-mediated gastric mucosal protection

PEPTIDES 29:(12) pp. 2257-2265. (2008)

IF: 2.565

Független idéző: 4 Függő idéző: 2 Összesen: 6

33. Csaba G, **Tekes K**, Pállinger É

Influence of Perinatal Stress on the Hormone Content in Immune Cells of Adult Rats: Dominance of ACTH

HORMONE AND METABOLIC RESEARCH 41:(8) pp. 617-620. (2009)

IF: 2.686

Független idéző: 1 Függő idéző: 1 Összesen: 2

34. Kalász H, Benko B, Gulyás Zs, **Tekes K**

Lipophilicity determination using both TLC and calculations
JOURNAL OF LIQUID CHROMATOGRAPHY & RELATED TECHNOLOGIES 32:(9) pp. 1342-1358. (2009)

IF: 0.998

Független idéző: 2 Függő idéző: 1 Összesen: 3

35. Kalász H, Furész J, **Tekes K**

Monitoring the pharmacokinetics of pyridinium aldoximes in the body
MINI-REVIEWS IN MEDICAL CHEMISTRY 9:(5) pp. 596-610. (2009)

IF: 2.971

Független idéző: 1 Függő idéző: 2 Összesen: 3

36. Petroianu G, Szoke É, Kalász H, Szegi P, Laufer R, Benko B, Darvas F, **Tekes K**
Monitoring by HPLC of chamomile flavonoids exposed to rat liver microsomal metabolism
THE OPEN MEDICINAL CHEMISTRY JOURNAL 3: pp. 1-7. (2009)
37. Szoke E, Petroianu G, **Tekes K**, Benko B, Szegi P, Laufer R, Veress G
HPLC Monitoring of the Microsomal Stability of Rutin and Quercetin
ACTA CHROMATOGRAPHICA 21:(3) pp. 399-410. (2009)
IF: 0.676
38. **Tekes K**, Gyenge M, Folyovich A, Csaba G
Influence of neonatal vitamin A or vitamin D treatment on the concentration of biogenic amines and their metabolites in the adult rat brain
HORMONE AND METABOLIC RESEARCH 41:(4) pp. 277-280. (2009)
IF: 2.686
Független idéző: 7 Függő idéző: 2 Összesen: 9
39. **Tekes K**, Gyenge M, Hantos M, Csaba G
Transgenerational hormonal imprinting caused by vitamin A and vitamin D treatment of newborn rats. Alterations in the biogenic amine contents of the adult brain
BRAIN & DEVELOPMENT 31:(9) pp. 666-670. (2009)
IF: 1.743
Független idéző: 4 Függő idéző: 3 Összesen: 7
40. Adeghate E, Kalasz H, Veress G, **Tekes K**
Medicinal chemistry of drugs used in diabetic cardiomyopathy
CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 17:(6) pp. 517-551. (2010)
IF: 4.630
Független idéző: 5 Összesen: 5
41. Gyongyosi N, Balogh B, Katai Z, Molnar E, Laufer R, **Tekes K**, Bagdy G
Activation of 5-HT₃ receptors leads to altered responses 6 months after MDMA treatment
JOURNAL OF NEURAL TRANSMISSION 117:(3) pp. 285-292. (2010)

IF: 2.597

Független idéző: 1 Összesen: 1

42. Kalász H, Hasan MY, Adeghate E, **Tekes K**, Adem A
Chromatographic separation of antiviral/anticancer nucleoside reverse transcriptase inhibitor drugs
ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY 398:(1) pp. 295-312. (2010)
IF: 3.84
43. Kalasz H, Adem A, Hasan M Y, Adeghate E, Ram N, Gulyas Zs, **Tekes K**
Medicinal chemistry of antiviral/anticancer prodrugs subjected to phosphate conjugation
MINI-REVIEWS IN MEDICAL CHEMISTRY 10:(9) pp. 822-845. (2010)
IF: 2.622
44. Klukovits A, **Tekes K**, Gündüz Çinar Ö, Benyhe S, Borsodi A, Deák B H, Hajagos-Tóth J, Verli J, Falkay G, Gáspár R
Nociceptin inhibits uterine contractions in term-pregnant rats by signaling through multiple pathways
BIOLOGY OF REPRODUCTION 83:(1) pp. 36-41. (2010)
IF: 3.870
Független idéző: 2 Összesen: 2
45. Adeghate E, Adem A, Hasan MY, **Tekes K**, Kalasz H
Medicinal Chemistry and Actions of Dual and Pan PPAR Modulators
THE OPEN MEDICINAL CHEMISTRY JOURNAL 5:(Suppl 2) pp. 93-98. (2011)
Független idéző: 3 Összesen: 3
46. Lotfy M, Singh J, Kalasz H, **Tekes K**, Adeghate E
Medicinal Chemistry and Applications of Incretins and DPP-4 Inhibitors in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus
THE OPEN MEDICINAL CHEMISTRY JOURNAL 5:(Suppl 2) pp. 82-92. (2011)
Független idéző: 2 Összesen: 2

47. **Tekes K**, Kalasz H, Hasan M, Adeghate E, Darvas F, Ram N, Adem A
Aliphatic and Aromatic Oxidations, Epoxidation and S-Oxidation of Prodrugs
that Yield Active Drug Metabolites
CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY 18:(32) pp. 4885-4900. (2011)
IF: 4.859
48. **Tekes K**, Szegi P, Laufer R, Hantos M, Csaba G
Effect of perinatal stress on the biogenic amine neurotransmitter level of the
adult rat's brain.
INTERNATIONAL JOURNAL OF DEVELOPMENTAL
NEUROSCIENCE 29:(2) pp. 171-175. (2011)
IF: 2.418
Független idéző: 1 Összesen: 1
49. **Tekes K**, Hashemi F, Szegi P, Sótonyi P, Laufer R, Kalász H
Prodrugs and active metabolites among antidepressive compounds
NEUROPSYCHOPHARMACOLOGIA HUNGARICA 13:(2) pp. 103-
110. (2011)

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet szeretnék mondani mindazoknak, akik doktori disszertációm elkészültéhez hozzájárultak, a kísérletek elvégzésének biztos háttérét, a mással nem pótolható szakmai együttműködés lehetőségét és a kölcsönös bizalom légkörét teremtették meg munkám végzéséhez.

dr. Bagdy György professzor úrnak, a Gyógyszerhatástani Intézet igazgatójának köszönettel tartozom bizalmáért, ösztönző támogatásáért, mely nélkül a disszertáció nem készült volna el.

dr. Magyar Kálmán akadémikus úrnak, aki pályám kezdetén befogadott a laboratóriumába és mindenkor élvezhettem szakmai és emberi támogatását.

dr. Csaba György professzor úrnak az imprinting-vizsgálatok elvégezhetőségéért, pótolhatatlan szakmai tanácsaiért.

dr. Huszti Zsuzsanna tudományos tanácsadónak a hisztamin-mérésekhez nélkülözhetetlen szakmai támogatásért.

dr. Kalász Huba tudományos szaktanácsadónak a kromatográfiai módszerek alkalmazásában nyújtott mással nem pótolható szakmai segítségért, támogatásáért.

dr. Kamil Kuca professzornak a K-vegyületek önzetlen biztosításáért.

dr. Reizigel Jenő egyetemi tanárnak és dr. Szilágyi Nóra egyetemi docensnek a kísérletek statisztikai analíziséért.

Köszönettel tartozom mindazon klinikus kollégáknak, akik megteremtették a klinikai mintákon végzett vizsgálataink lehetőségét:

dr. Szalay Ferenc egyetemi tanárnak a májbetegek vérmintáiért, önzetlen segítségéért.

dr. Ertsey Csaba egyetemi docensnek a fejfájás-betegek mintáiért, a kiváló szakmai együttműködésért.

dr. Folyovich András főorvos úrnak a stroke-betegek vérmintáiért és az önzetlen támogatásért.

dr. Sótonyi Péter egyetemi docens úrnak a kardiológiai betegek mintáiért és a pótolhatatlan értékű szakmai támogatásért.

néhai dr. Magyar Pál intézetigazgató egyetemi tanárnak, aki a daganatos betegek vérmintáinak biztosításával járult hozzá munkánkhoz.

néhai dr. Dizseri Tamás főigazgató úrnak, aki a beteg gyermekek vérmintáinak biztosításával járult hozzá munkánkhoz.

Külön szeretném megköszönni volt PhD hallgató kollégáimnak szorgalmas, kitartó, igényes munkáját:

dr. Borcsiczky Dóra főorvosnak a betegek klinikai adatainak feldolgozása és a HPLC-mérések során végzett munkájáért.

dr. Hantos Mónika főgyógyszerésznek, a RIA módszer meghonosításáért, a nociceptin és nocistatin- mérések elvégzéséért.

dr. Gyenge Melinda gyógyszerésznőnek, a hisztamin-mérések elvégzéséért és a biogénamin meghatározások HPLC-módszerének beállításáért.

dr. Laufer Rudolf gyógyszerész úrnak és Szegi Péter biológus úrnak a K-vegyületek HPLC-analízisének kidolgozása során végzett kiváló munkájukért.

Külön köszönet illeti dr. Lengyel József tudományos munkatársat, Divikiné Guth Györgyi, Fejes Éva, Kovács Ágnes asszisztenseket, akik a kísérletek elvégzésében nyújtott kiváló technikai segítségükkel járultak hozzá a munka elvégzéséhez.

Köszönöm a Gyógyszerhatástani Intézet valamennyi munkatársának a kiváló szakmai légkört.

Hálával tartozom családom minden tagjának türelmes, áldozatos, megértő szeretetükért, biztatásukért, mely nélkül a disszertáció megírásába sosem kezdtem volna.