

# Hem oxigenáz metabolitok és endocannabinoidok hatása az agykérgi véráramlásra fiziológias állapotban valamint hypoxia és hypercapnia során

Doktori tézisek

**Dr. Leszl-Ishiguro Mirjam**

Semmelweis Egyetem  
Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Benyó Zoltán egyetemi tanár, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr. Bari Ferenc egyetemi tanár, az MTA doktora  
Dr. Kékesi Violetta, egyetemi docens,  
az orvostudományok kandidátusa

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Bérczi Viktor egyetemi tanár,  
az MTA doktora

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Urbanics Rudolf, tudományos igazgató,  
az orvostudományok kandidátusa  
Dr. Zsembery Ákos, egyetemi docens, Ph.D

Budapest  
2014

# 1. BEVEZETÉS

Az agyi vérkeringés szabályozása egy igen összetett folyamat, melynek fontos összetevői az idegi és vaszkuláris elemek. Évtizedeken át tanulmányozták az agyi vérkeringés szabályozásának lehetséges mechanizmusait, de számos fontos kérdés, mint például az véráramlás-metabolizmus kapcsolódás vagy a hypercapnia- és hypoxia-indukálta vazodilatáció, még nem tisztázott teljesen. Munkáink során feltételeztük, hogy a közelmúltban felfedezett vazoaktív mediátorok vizsgálata választhat e kérdésekre, és az agyi véráramlás szabályozásának pontosabb megismerését teszi lehetővé.

A szénmonoxidnak (CO), amely először egy nagyon toxikus és az életet fenyegető gázként volt ismert, nemrégiben felfedeztek egy fontos biológiai jelátvivő funkcióját, mely szerepet játszik számos élettani és kórélettani folyamatban. Az endogén CO legfőbbképpen két hem oxigenáz (HO) izoenzim, HO-1 és HO-2, által képződik. A nitrogén monoxid szintáz (NOS) enzimhez hasonlóan, a HO enzimek széles körben megtalálhatóak a kardiovaszkuláris valamint a központi és perifériás idegrendszerben. A CO-nak és NO-nak hasonló élettani szerepük van, nevezetesen mindkét molekula neurotransmitterként működik az agyban és a perifériás autonóm idegrendszerben. Emellett mindkét molekula vazodilatációt képes okozni és meggátolja a simaizomsejt-proliferációt. A HO expresszió jól dokumentált az agyban, de az endogén CO szerepe az agyi véráramlás szabályozásában még mindig kevésbé ismert, mint az NO jelentősége. Kísérleteink első részében a HO – CO jelátviteli út közreműködését vizsgáltuk az agyi véráramlás szabályozásában valamint kölcsönhatásait az NOS rendszerrel.

Az endocannabinoidok endogén bioaktív lipid mediátorok, melyek emlősökben szerteágazó hatást fejtenek ki a specifikus G protein-kapcsolt receptoraik révén. A két fő endocannabinoid az anandamid és 2-arachidonoxl glycerol (2-AG), melyek közül az előző a cannabinoid 1 (CB1), az utóbbi a cannabinoid 2 (CB2) receptorhoz kapcsolódik nagyobb affinitással. Ezen receptorok közvetítik a Cannabis sativa (marihuána) számos összetevőjének hatásait is. Endocannabinoidok szerepét feltételezik sok élettani és kórélettani folyamatban, mint például a kardiovaszkuláris rendszer szabályozása és betegségei, iszkémia-reperfúziós károsodások, hipertenzió, diabétesz és obesitas. Az endocannabinoid rendszer szerepe az agyi véráramlás szabályozásában még nem ismert pontosan. Korán felfedezték, hogy a  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol képes a kutya agyi perfúzióját fokozni és ez a megfigyelés nemrégiben bebizonyosodott pozitron emissziós tomográfiával emberben is. Továbbá az anandamid adása dilatációt okozott nyúl és macska izolált agyi artériákban, ugyanakkor patkányban csökkentette az agyi véráramlást. Más in vivo kísérletek során patkányban az anandamid és a CB1-receptor agonista HU-210 kifejezett agyi vazodilatációt okozott, mely gátolható volt CB1 antagonistával. Annak érdekében, hogy pontosítani tudjuk az endocannabinoidok és CB1 receptorok szerepét az agyi véráramlás szabályozásában, patkányokon vizsgáltuk a CB1 receptor antagonistá/inverz agonista AM251 hatását nyugalmi állapotban valamint egyidejű hypoxia és hypercapnia során.

## **2. Célkitűzések**

A központi idegrendszer egy önálló funkcionális HO egység, mely tartalmazza a szubsztrátot, az enzimeket, és kofaktorokat a CO szintéziséhez. Továbbá az is ismert, hogy az agyban különböző sejttípusok

képesek endocannabinoidokat szintetizálni és a CB1 receptort kifejezni. Mivel mind az endogén CO-nak mind az endocannabinoidoknak ismertek vaszkuláris hatásaik, feltételeztük, hogy az agyi vérkeringésben is szerepük van. Kísérleteinkben, a HO útvonal és az endocannabinoid rendszer szerepét vizsgáltuk az agykérgi véráramlásban nyugalmi állapotban valamint hypoxia és hyperkapnia (H/H) során.

1. Először megvizsgáltuk altatott hím patkányokban a HO- inhibitor ZnDPBG hatását a parietális agykérgi véráramlásra nyugalmi állapotban. A HO és NOS rendszerek közötti lehetséges kölcsönhatást is vizsgáltuk a nyugalmi véráramlás szabályozásában.
2. A következőkben altatott hím patkányokban vizsgáltuk a HO inhibitor ZnDPBG hatását a H/H során kialakuló agykérgi véráramlás-fokozódásra.
3. Ezt követően a CB1 receptor antagonistá/inverz agonista AM251 hatását vizsgáltuk az agykérgi véráramlásra nyugalmi állapotban, hasonló módszerekkel, mint az előzőekben.
4. Végül AM251 adásával vizsgáltuk a CB1 blokádnak hatását a H/H során kialakuló agykérgi véráramlás-fokozódásra.

### **3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK**

#### **3.1 Kísérleti állatok, anesztézia, műtéti eljárások**

A kísérleteinket uretánnal (1.3 g/kg ip.) altatott hím Wistar patkányokon (300-400 g) végeztük, melyek trachea kanüllön keresztül spontán lélegeztek. Az altatás mértékét folyamatosan ellenőriztük a corneális nociceptor reflex kiválthatóságával. A jobb femorális artériát kanüláltuk a

szisztémás artériás vérnyomás folyamatos mérésére, a bal femorális artériát pedig vérgyűjtés céljából. A különböző anyagok intravénás adása céljából megkanyaltuk a bal femorális vénát.

### **3.2 Rutinszerűen mért élettani paraméterek**

A szisztémás artériás középnyomást (MAP) folyamatosan mértük és regisztráltuk Grass polygraph (Model 7E, Natus Neurology Incorporated, Warwick, RI, USA) segítségével. Az artériás vérgáz (aPCO<sub>2</sub>, aPO<sub>2</sub> és O<sub>2</sub>-szaturáció) és sav-bázis paramétereket (apH és standard base excess) ABL-300 vérgázanalizátorral mértük (Radiometer, Brønshøj, Denmark) femorális artériából származó vérmintákból. A testhőmérsékletet fiziológias szinten (36-38 °C) tartottuk szabályozott melegítő párna használásával.

### **3.3 Agykérgi véráramlás mérése**

A parietális agykérgi véráramlás (CBF), pontosabban a vörösvérsejt fluxus mérése lézer-Doppler (LD) áramlásmérővel történt. A patkányok koponyáját sztereotaxiás fejtartóval rögzítettük, majd mindkét oldali parietális régiót kipreparáltuk, a csontot fogászati fúróval elvékonyítottuk, hogy a lamina interna réteg ép maradjon. Az LD fluxust (LDF) két csatornás LDF monitorral folyamatosan mértük (Moor Instruments, Devon, UK). A lézerfény az infravörös tartományban volt (780 nm) és 1 mm mélységig hatolt az agyszövetbe, mely a mérőfejek alatt 7 mm<sup>2</sup> területet fedett le a parietális agykéregben.

## 3.4 Kísérleti protokollok

### 3.4.1 A HO rendszer hatása az agyi vérkeringésre

#### 3.4.1.1 *Első kísérleti protokoll: a HO útvonal hatása az agyi vérkeringésre nyugalmi (normoxiás/normokapniás) állapotban*

Az első kísérleti protokollban a patkányokat két kísérleti csoportra osztottuk. Az **első, vehikulum-mal kezelt kísérleti csoportban** (n=9) 3 mL fiziológiás sóoldatot adtunk be intraperitoneálisan (i.p.). A **második, HO-gátolt kísérleti csoportban** (n=9) 45  $\mu\text{mol/kg}$  zinc deuteroporphyrin 2,4-bis glycolt (ZnDPBG, Frontier Scientific, Logan, UT, USA) alkalmaztunk i.p. 3 mL fiziológiás sóoldatban. A CBF értékeket az anyag beadása előtt, valamint utána 15, 30 és 45 perccel határoztuk meg. Ahhoz, hogy igazolni tudjuk a ZnDPBG gátló hatását az agyi HO aktivitásra in vivo, a kísérleti állatokhoz hasonló korú és nemű állatokat kezeltünk fiziológiás sóoldattal vagy ZnDPBG-vel. A ZnDPBG csökkentette a HO aktivitást  $4.58 \pm 0.87$ -ről  $2.47 \pm 0.36 \mu\text{mol} / \text{kg} / \text{óra}$  (p = 0.025).

Ahhoz, hogy a NOS és a HO rendszer kölcsönhatását vizsgáljuk, pontosabban a NO képződés hiányának következményét a CO-indukálta CBF-változásokban, a NOS enzimet gátoltuk. Ezért a **harmadik és negyedik kísérleti csoportban** az állatokat intravénásan kezeltük a NOS gátlószer N<sup>G</sup>-nitro-L-arginin metil észterrel (L-NAME) 50 mg/kg dózisban, 30 perccel a fiziológiás sóoldat (n=5) vagy ZnDPBG (n=6) beadását megelőzően. Az L-NAME előkezelt állatok CBF értékeit is a fiziológiás sóoldat vagy ZnDPBG beadása előtt, valamint utána 15, 30, és 45 perccel határoztuk meg.

### *3.4.1.2 Második kísérleti protokoll: HO gátlás hatása a CBF emelkedésre H/H-ban*

A második kísérleti protokollban, a HO gátlásának hatását vizsgáltuk a H/H-ra bekövetkező CBF-fokozódásra. Lépcsőzetes H/H-t hoztunk létre a spontán légző patkányok trachea kanüljéhez csatlakoztatott 5 mL térfogatú nyitott kamrába állandó, 3 L/min áramlással befűjt gázkeverékekkel (5% O<sub>2</sub>-20% CO<sub>2</sub>-75% N<sub>2</sub> az enyhe H/H, és 20% CO<sub>2</sub>-80% N<sub>2</sub> a súlyos H/H létrehozására). Mivel a kamra nyitott volt, a nyomása nem különbözött az atmoszférás nyomástól. A CBF-et folyamatosan mértük 10 percen keresztül mind a két H/H lépcsőben. Az első lépcsőzetes H/H kör után az állatok ismét levegőt lélegeztek, és egy 30 perces nyugalmi periódus következett. Ezt követően az állatokat két csoportra osztottuk, és vagy 3 mL fiziológiás sóoldatot, vagy 45 µmol/kg ZnDPBG-t kaptak i.p.. Ezt követően 30 perc múlva megismételtük mindkét csoportnál a H/H két fázisát folyamatos CBF-mérés mellett.

### **3.4.2 Endocannabinoidok hatásai az agyi vérkeringésre**

#### *3.4.2.1 Harmadik kísérleti protokoll: a CB1 receptor gátlásának hatása a CBF-re normoxia/normocapnia állapotában*

A harmadik protokollban a CB1 receptor hatását vizsgáltuk a CBF-re nyugalmi állapotban. Ez első (kontroll) kísérleti csoport vehikulum kezelést kapott (1 ml fiziológiás sóoldat, etanol és emulfor iv., 1:1:8 etanol-emulphor-sóoldat térfogat arányban). A CB1 recetor gátolt (második) csoportban az állatok i.v. CB1 receptor antagonistá / inverz agonistát (AM251) kaptak 10 mg/kg dózisban. Az AM251-et (1-(2,4-dichlorophenyl)-5-(4-iodophenyl)-4methyl-N-1-piperidiny-1H-pyrazole-3-carboxamide) 1 mL vehikulumban oldottunk fel. Vérmintát vettünk és az

artériás vérgáz és sav-bázis paramétereket meghatároztuk az anyagbeadások előtt és utána 15, 30, és 45 perccel.

#### *3.4.2.2 Negyedik kísérleti protokoll: a CB1 receptor gátlásának hatása a H/H során kialakuló CBF emelkedésre*

A negyedik protokoll során a fő célunk annak eldöntése volt, hogy a CB1 antagonistá AM251 hogyan változtatja meg a kontrollált H/H során kialakuló CBF fokozódást. Ebben az esetben 3 különböző súlyosságú H/H lépcsőt hoztunk létre, a spontán légző patkány tracheájába juttatott különböző gázkeverékek segítségével. A CBF-et folyamatosan rögzítettük 10 percen keresztül minden egyes H/H lépcső során.

Az első, enyhe H/H lépcsőnél az állatok 10%O<sub>2</sub>-10%CO<sub>2</sub>-80%N<sub>2</sub> gázkeveréket lélegeztek, amely 75-85 Hgmm artériás pO<sub>2</sub> és 50-60 Hgmm artériás pCO<sub>2</sub> értékeket hozott létre. A második, közepes H/H lépcsőben az állatok 5%O<sub>2</sub>-20%CO<sub>2</sub>-75%N<sub>2</sub> gázkeveréket lélegeztek, amely 55-65 Hgmm artériás pO<sub>2</sub> és 80-90 Hgmm artériás pCO<sub>2</sub> értéket hozott létre. A harmadik, súlyos H/H lépcsőben az állatok 0%O<sub>2</sub>-20%CO<sub>2</sub>-80%N<sub>2</sub> gázkeveréket lélegeztek, mely 45-50 Hgmm artériás pO<sub>2</sub> és 90-100 Hgmm artériás pCO<sub>2</sub> értéket hozott létre.

A súlyos H/H lépcső után a patkányok normál levegőt lélegezve 30 perc alatt regenerálódtak, majd ezután két csoportra osztottuk őket. Az egyik csoport 10 mg/kg i.v. AM251 kezelést, a másik csoport vehikulumot kapott. Egy újabb 30 perc elteltével megismételtük a lépcsőzetes H/H beavatkozást, folyamatos CBF méréssel, és a legmagasabb CBF értékek meghatározásával.



### **3.5 Alkalmazott vegyületek**

A ZnDPBG forrása: Frontier Scientific, Logan, UT, USA, az AM251 forrása: Cayman Chemicals, Ann Arbor, MI, USA voltak. A többi, kísérleteink során alkalmazott vegyületet a Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) szállította.

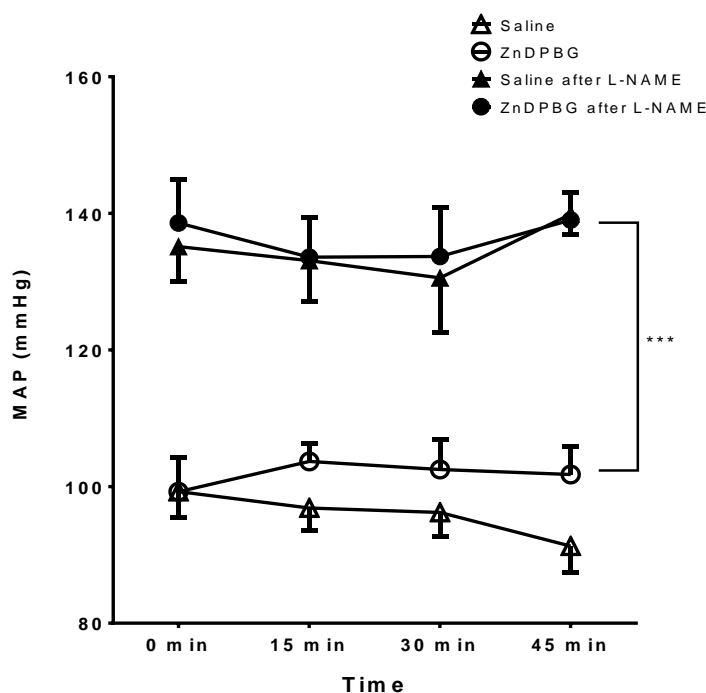
### **3.6 Statisztikai analízis**

A statisztikai analízisre 2 csoport összehasonlításakor Student féle t-tesztet, valamint 3 vagy több csoport összehasonlítására one way ANOVA-t és Tukey féle post hoc tesztet alkalmaztuk. Statisztikailag szignifikáns különbséget a  $p < 0,05$  értéknél fogadtunk el.

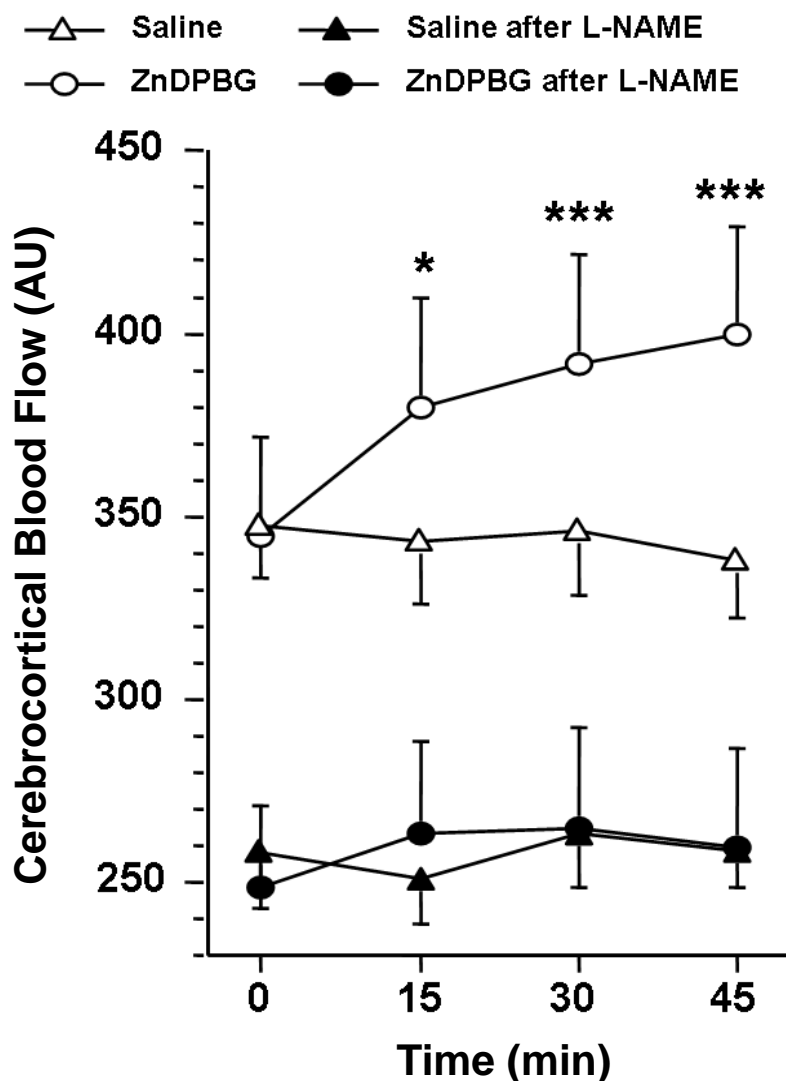
## 4. EREDMÉNYEK

### 4.1 A HO gátlásának hatása nyugalmi (normoxiás/normocapniás) állapotban

A nyugalmi artériás vérgáz és sav-bázis paraméterek a fiziológiás tartományban voltak és nem változtak szignifikáns mértékben sem a ZnDPBG sem a fiziológiás sóoldat beadása után. Sem a ZnDPBG, sem a vehikulum nem okozott változást az artériás középnyomásban (1. ábra). Ezzel ellentétben, a ZnDPBG adása, szignifikáns mértékben megemelte a CBF-t, míg a vehikulum hatástalan volt (2. ábra).



**1. ábra.** Artériás középnyomás (MAP) fiziológiás sóoldat (saline) (üres háromszög, n=9) vagy 45  $\mu\text{mol/kg}$  zinc deuteroporphyrin 2,4-bis glycol (ZnDPBG) (üres kör, n=9) i.p. beadása előtt (0 min), valamint 15, 30 és 45 perccel utána kontroll patkányokban és  $\text{N}^{\text{G}}$ -nitro-L-arginin metil észterrel (L-NAME) előkezelt patkányokban (teli szimbólumok, n=5-6). Értékek: átlag  $\pm$  SEM. Mind a négy időpontban, szignifikáns (\*\*\*) fokozódás volt a MAP értékben L-NAME előkezelt állatokban, az intakt NO szintézissel rendelkező állatokhoz képest.



**2. ábra.** Az agykérgi véráramlás (CBF) fiziológias sóoldat (saline, háromszög) vagy 45  $\mu\text{mol/kg}$  zinc deuteroporphyrin 2,4-bis glycol (ZnDPBG; kör) ip. beadása előtt (0 min) és 15, 30, 45 perccel utána kontroll (üres szimbólumok) vagy  $\text{N}^{\text{G}}$ -nitro-L-arginin metil észterrel (L-NAME) előkezelt (telt szimbólumok) patkányokban. \* $p=0.016$ , \*\*\* $p<0.001$  vs. '0min.', ANOVA és Tukey féle post hoc teszt,  $n=10-16$ . AU, arbitrary unit.

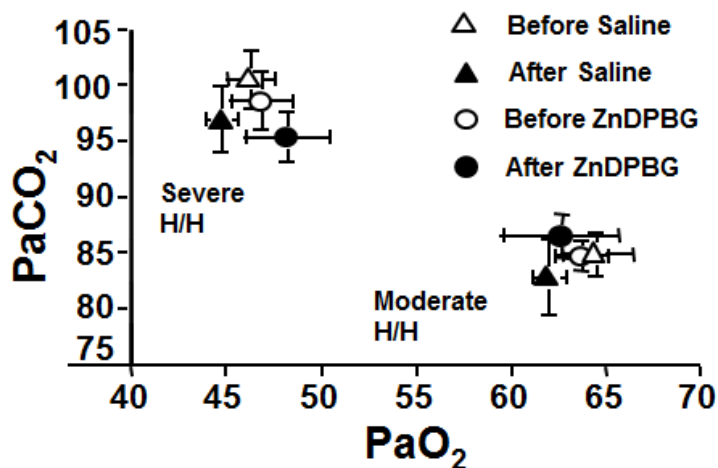
Ahhoz, hogy az NO szerepét vizsgálni tudjuk a HO gátlásakor kialakuló CBF fokozódásban, a kísérleteinket megismételtük NOS-gátolt állatokban. Az L-NAME adása után szignifikánsan emelkedett az artériás középnyomás  $102.2 \pm 3.0$  Hgmm-ről  $146.3 \pm 4.1$  Hgmm-re ( $p<0,001$ ), csökkent a szívfrekvencia  $424 \pm 12$  ütés/perc-ről  $373 \pm 12$  ütés/perc-re ( $p=0.012$ ) és csökkent a CBF  $359 \pm 18$  AU-ról  $258 \pm 13$  AU-ra ( $p<0.001$ ),

miközben az artériás középnyomás és sav bázis paraméterek nem változtak. Az L-NAME-el előkezelt állatokban sem a ZnDPBG, sem a vehikulum nem okozott szignifikáns változást az artériás középnyomás (1. ábra) vagy artériás vérgáz és sav bázis paraméterekben. Kiemelendő, hogy az L-NAME teljesen megakadályozta a CBF emelkedést, mely akkor jön létre ha az endogén CO szintézisét gátoljuk a HO gátlószer ZnDPBG adásával (2. ábra).

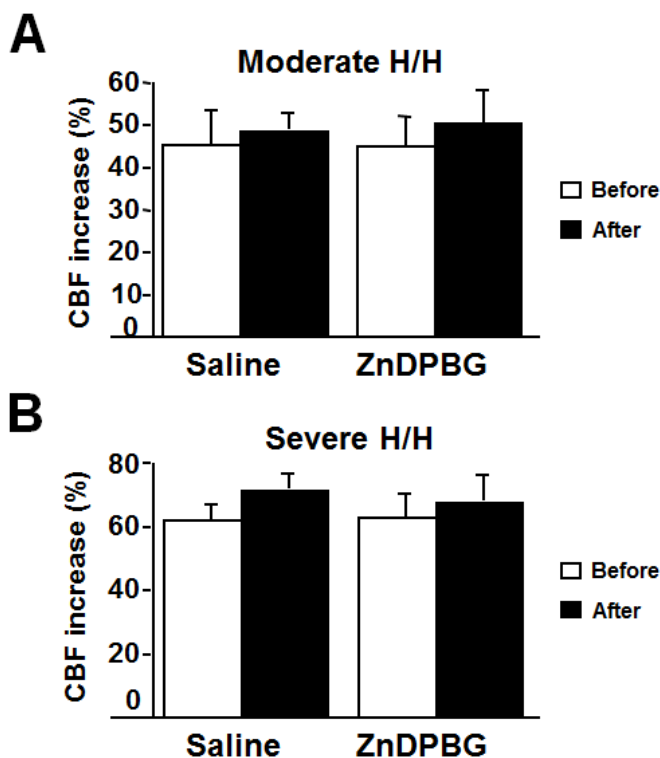
## **4.2 A HO gátlásának hatása H/H-indukálta CBF-emelkedésre**

Az első lépcsőzetes H/H kör alkalmazása előtt a nyugalmi kardiovaszkuláris, artériás vérgáz és sav bázis paraméterek a fiziológiás tartományban voltak, mind a ZnDPBG, mind a sóoldattal kezelt csoportban. Enyhe H/H során az  $apO_2$  lecsökkent 60-65 Hgmm-re, az  $apCO_2$  megnőtt 80-85 Hgmm-re (3. ábra) és a pH lecsökkent 7.10-7.15-re. Az artériás középnyomás nem változott, viszont a CBF mindkét csoportban emelkedett 45%-kal (4A. ábra). Súlyos H/H során az  $apO_2$  lecsökkent 45-50 Hgmm-re, az  $apCO_2$  megnőtt 95-100 Hgmm-re (3. ábra) és a pH csökkent 7.05-7.10-re, míg mindkét csoportban a CBF emelkedett 65%-al (4B. ábra), változatlan artériás középnyomás mellett.

A második lépcsőzetes H/H alkalmazásakor a ZnDPBG és sóoldat adása után hasonló vérgáz és sav bázis paramétereket tapasztaltunk, mint az első körben (3. ábra) változatlan artériás középnyomás mellett. Sem a ZnDPBG, sem a sóoldat nem változtatta meg az enyhe (4A. ábra) és közepsúlyos (4B. ábra) H/H-ra kialakuló CBF-választ, az anyag beadása előtti értékekhez képest.



3. ábra. Artériás vérgáz tenziók enyhe és közepsúlyos H/H alatt, sóoldat (saline) (háromszög, n=8) vagy 45  $\mu$ mol/kg zinc deuteroporphyrin 2,4-bis glycol (ZnDPBG; kör, n=8) ip. beadása előtt (üres szimbólumok) és után (teli szimbólumok).

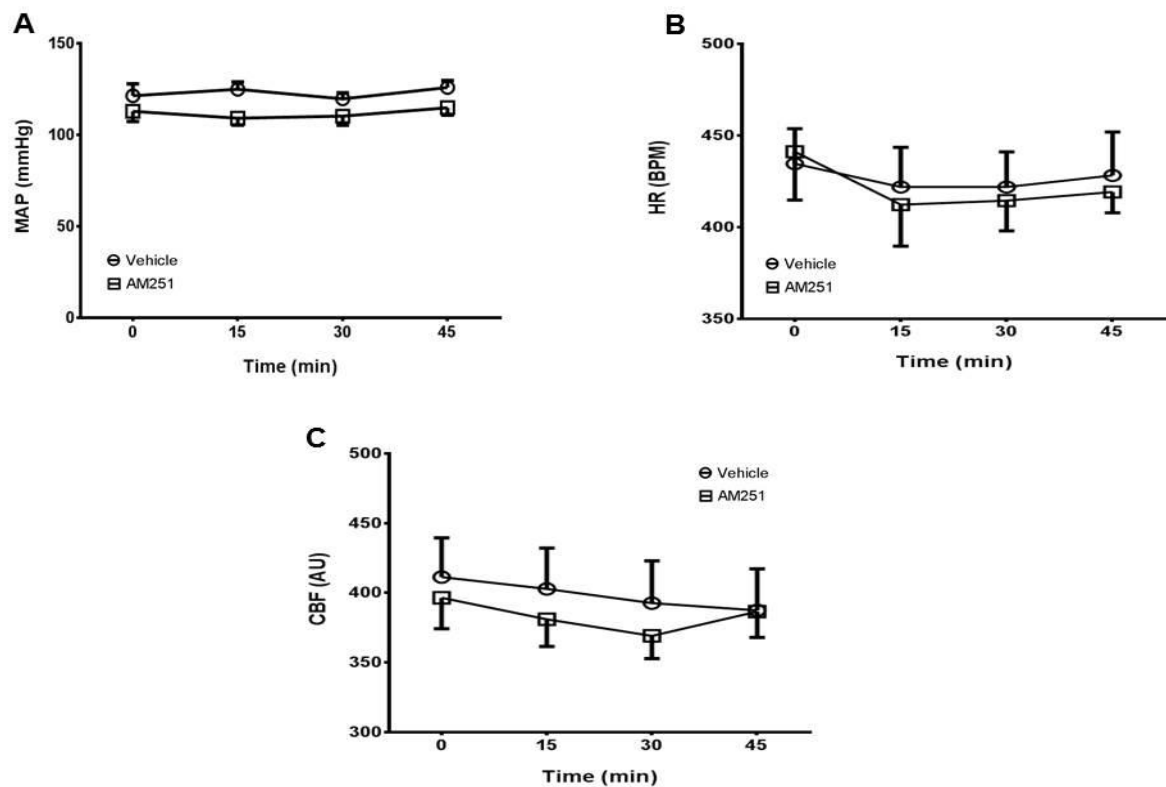


4. ábra. Agykérgi véráramlás (CBF) változásai enyhe (A) és közepsúlyos (B) hypoxia/hypercapnia (H/H) alatt sóoldat (saline, n=16) vagy 45  $\mu$ mol /kg zinc deuteroporphyrin 2,4-bis glycol (ZnDPBG, n=16) ip. beadása előtt (nyílt oszlop) és után (telt oszlop).

### 4.3 Endocannabinoidok szerepe az agykérgi véráramlás szabályozásában nyugalmi állapotban

A nyugalmi artériás középnyomásra és CBF-re kifejtett konstitutív CB1 receptor aktivitás vizsgálata céljából a szelektív CB1 antagonista/reverz

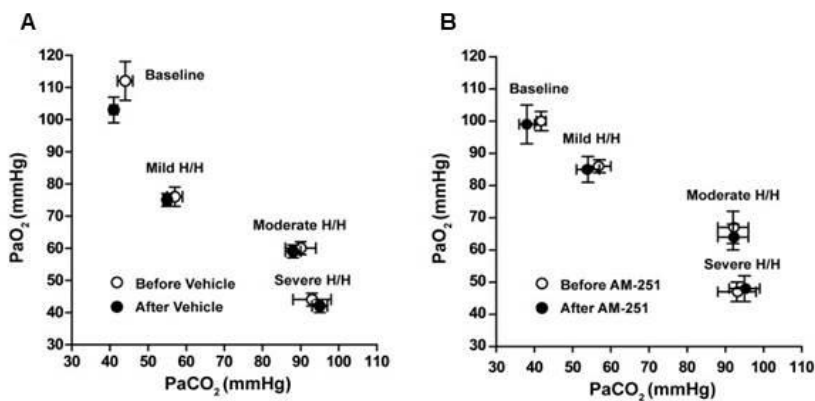
agonista AM251-et alkalmaztuk 10 mg/kg i.v. dózisban, mely előző tanulmányokban hatásosnak bizonyult a CB1 receptorok blokádjára. A kontroll csoport vehikulumot kapott. Sem az AM251 sem a vehikulum nem változtatta meg szignifikáns mértékben az artériás középnyomást (MAP, 5A. ábra), a szívfrekvenciát (HR, 5B. ábra) és CBF-et (5C. ábra) a 45 perces vizsgálati periódus alatt. Az artériás vérgáz és sav bázis paraméterek szintén változatlanok maradtak. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy a konstitutív CB1 aktivitásnak nincsen nagy szerepe a szisztémás és agykérgi véráramlás szabályozásában egészséges normotenzív patkányokban nyugalmi (normoxiás és normokapniás) állapotban.



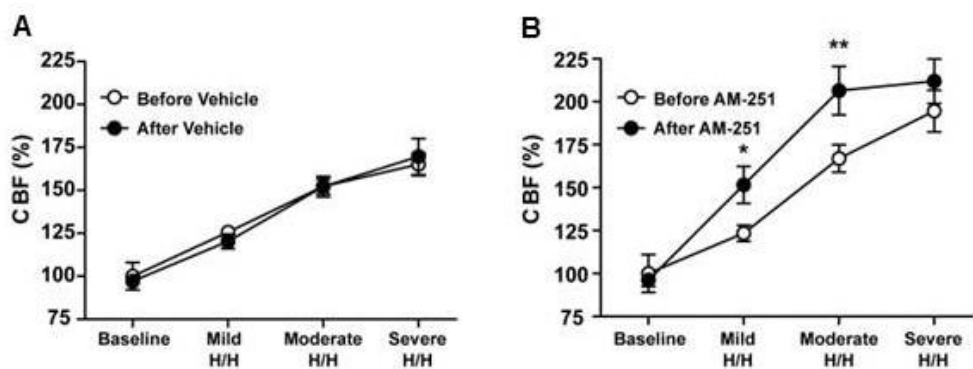
**5. ábra.** Az artériás középnyomás (MAP, A), szívfrekvencia (HR, B) és agykérgi véráramlás (CBF, C) 10 mg/kg CB1 receptor antagonistá AM251 (nyitott négyzet, n=7) vagy vehikulum (nyitott kör, n=5) iv. beadása előtt (0 min.), valamint 15, 30 és 45 perccel utána. Értékek: átlag ± SEM. Nem volt szignifikáns változás semelyik időpontban a mért paraméterekben, a vehikulum és AM-251 kezelés után. AU, arbitrary unit.

## 4.4 CB1 receptor blokádnak hatása az agyi vérkeringésre H/H-ban

A CB1 receptor gátlásának hatását vizsgálva, a H/H során kialakuló CBF emelkedésére, a Módszerek fejezetben részletezett protokoll szerint hoztunk létre lépcsőzetes H/H állapotokat 10 mg/kg AM-251 (6B. ábra) és a vehikulum (6A. ábra) iv. beadása előtt és után, miközben a CBF-változásokat folyamatosan regisztráltuk. Az artériás középnyomás egyik kísérleti csoportban sem változott meg szignifikáns mértékben. A H/H hatására létrejövő CBF fokozódás mértéke a vehikulum beadása előtt és után ugyanakkora volt (7A. ábra). Ezzel szemben, AM-251 hatására a CBF-emelkedés mértéke jelentősen megnőtt, enyhe H/H-ban  $28.1 \pm 8.8\%$ -kal és közepsúlyos H/H-ban  $39.4 \pm 10.0\%$ -kal, amíg súlyos H/H-ban a maximális CBF értéke nem változott szignifikánsan (7B. ábra).



**6. ábra.** Három különböző, a levegőhöz képest csökkenő O<sub>2</sub>- és növekvő CO<sub>2</sub>-tartalommal rendelkező gázkeverékek belélegzése reprodukálható hypoxia és hiperkapniát okozott, vehikulum (A) vagy AM-251 (B) beadása előtt és után.



**7. ábra.** A hypoxia és hypercapnia (H/H) hatására kialakuló agykérgi véráramlás (CBF) fokozódás azonos mértékű volt vehikulum beadása előtt és után (A). Ezzel szemben, AM-251 beadása után jelentősen fokozódott a CBF emelkedés mértéke enyhe és közép súlyos H/H során, miközben a súlyos H/H alatt kialakuló maximális CBF nem változott szignifikáns mértékben (B).



## 5. KÖVETKEZTETÉSEK

1. HO inhibitor ZnDPBG hatását vizsgáltuk agykérgi véráramlásra nyugalmi állapotban altatott felnőtt hím patkányokban. A HO és a NOS rendszer kölcsönhatásait és ennek szerepét is vizsgáltuk az agyi vérkeringés szabályozásában. Eredményeink arra utalnak, hogy az endogén CO tónusosan befolyásolja a nyugalmi agykérgi véráramlást, a NOS rendszerrel történő kölcsönhatása révén. A HO útvonal gátlása agykérgi áramlás fokozódást vált ki, neuronális és endoteliális NO képződés útján.

2. Vizsgáltuk a HO inhibitor ZnDPBG hatását agykérgi áramlásra lépcsőzetes hypoxia/hypercapnia modellben, az agykérgi véráramlást mérve altatott felnőtt hím patkány parietális kéregben. Kísérleteink arra utalnak, hogy hypoxia és hiperkapniában HO–CO útvonal nem befolyásolja a hypoxia és hypercapnia során kialakuló CBF emelkedést.

3. Ezt követően a cannabinoid CB1 receptor gátlásának hatását vizsgáltuk nyugalmi állapotban, hasonló technikával, az AM251, egy CB1 receptor antagonistá/ reverz agonista használásával. Kísérleteink arra utalnak, hogy nyugalmi állapotban CB1-receptor által mediált mechanizmusoknak kicsi hatása van a szisztémás és cerebrális keringésre.

4. Végül, az AM251 hatását vizsgáltuk az agyi véráramlás fokozódásra lépcsőzetes hypoxia és hiperkapniára. Legfőbbképpen a kísérleteink azt támasztják alá, hogy az endocannabinoid rendszer és a CB1-receptorok fontos szerepet töltenek be az agyi vérkeringés szabályozásában hypoxia and hypercapnia során, és potenciálisan szerepet játszanak az agyi véráramlás autoregulációjában.

## 6. SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

### *Az értekezés témájában megjelent közlemények*

1. **Leszl-Ishiguro M**, Horváth B, Johnson RA, Johnson FK, Lenzser G, Hermán P, Horváth EM, Benyó Z: Influence of the heme oxygenase pathway on cerebrocortical blood flow. **NeuroReport**, 2007; 18: 1193-1197 (**IF: 2.163**)
2. \*Iring A, \*Ruisanchez É, \***Leszl-Ishiguro M**, Horváth B, Benkő R, Lacza Z, Járai Z, Sándor P, Di Marzo V, Pacher P, Benyó Z: Role of endocannabinoids and cannabinoid-1 receptors in cerebrocortical blood flow regulation. **PLoS One**, 2013; 8(1): e53390 (**IF: 3.730**)

\*megosztott első szerzők

### *Az értekezés témájában megjelent absztraktok*

1. Horváth B, **Ishiguro M**, Hrabák A, Káldi K, Lacza Z, Sándor P, Benyó Z: Interaction between the heme oxygenase and nitric oxide pathways in the regulation of the resting CBF. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 2003; 23: S77 (XXIst International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function, June-July 2003, Calgary, Canada)
2. **Ishiguro M**, Lacza Z, Horváth EM, Járai Z, Sándor P, Benyó Z: The cannabinoid receptor antagonist AM-251 enhances the cerebrocortical hyperemic response to hypoxia/hypercapnia. **The FASEB Journal**, 2004; 18: A267 (Experimental Biology, April 2004, Washington D.C., USA)
3. Horváth B, **Ishiguro M**, Lenzser G, Hermán P, Hrabák A, Káldi K, Sándor P, Benyó Z: Interaction between the heme oxygenase (HO) and NO synthase pathways in the regulation of the resting CBF. **The FASEB Journal**, 2004; 18: A268 (Experimental Biology, April 2004, Washington D.C., USA)
4. Horváth B, **Ishiguro M**, Hortobágyi L, Lenzser G, Hermán P, Hrabák A, Káldi K, Sándor P, Benyó Z: Role of the heme oxygenase pathway in the regulation of the resting CBF. **Acta Physiologica Hungarica**, 2004; 91: 302-303 (68<sup>th</sup> Annual Meeting of the Hungarian Physiological Society, June 2004, Debrecen, Hungary)

5. **Ishiguro M**, Lacza Z, Horváth EM, Járai Z, Sándor P, Benyó Z: Role of cannabinoid 1 receptor in the modulation of the cerebrocortical hyperemic response to hypoxia/hypercapnia. **Acta Physiologica Hungarica**, 2004; 91: 311-312 (68<sup>th</sup> Annual Meeting of the Hungarian Physiological Society, June 2004, Debrecen, Hungary)
6. **Ishiguro M**, Lacza Z, Horváth EM, Járai Z, Sándor P, Benyó Z: Inhibition of the cannabinoid-1 receptor enhances the cerebrocortical hyperemic response to hypoxia/hypercapnia. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 2005; 25: S189 (XXIInd International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism, and Function, June 2005, Amsterdam, The Netherlands)
7. Ruisanchez É, **Leszl-Ishiguro M**, Benkő R, Lacza Z, Járai Z, Sándor P and Benyó Z (2009). Role of endocannabinoids in the regulation of the cortical blood flow. **Frontiers in Systems Neuroscience**, 2009; doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.172 (12<sup>th</sup> Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, January 2009, Budapest, Hungary)
8. Ruisanchez É, Benkő R, **Leszl-Ishiguro M**, Lacza Z, Járai Z, Sándor P, Benyó Z: Cerebrovascular effects of endocannabinoids. **Diabetologia**, 2009; 52: S258, 2009 (45<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, September-October 2009, Vienna, Austria)

## **KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS**

Szeretném megköszönni Benyó Zoltán professzor úrnak és Sándor Péter professzor úrnak a lehetőséget, hogy a PhD tanulmányaimat a munkacsoportjukban folytathattam, és hogy támogattak munkámban. Nagyon szépen köszönöm a Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet minden munkatársának a folyamatos segítségét és önzetlen támogatást. Hálámat fejezem ki családomnak a türelmükért, támogatásukért, szeretetükért és kedvességükért melyeket a hosszú évek során kaptam tőlük.