

### Zárójelentés a 2008.11.01.-2013.02.28. között végzett kutatási tevékenységről

A kísérletes munka a pályázat munkatervében részletezett időrendnek megfelelően zajlott. Első fázisában kidolgoztuk az egymással párhuzamosan zajló protokollokat, a vizsgálataink során alkalmazni kívánt *in vivo* gyulladási modelleket:

1. Carrageenan által kiváltott akut mellhártyagyulladás (pleuritis) és monoarthritis rágcsálókön, krónikus rheumatoid arthritis (kollagén arthritis) egéren;
2. Akut és krónikus 2,4,6-trinitrobenzén-szulfonsav (TNBS) colitis patkányon;
3. Ischaemia-reperfúzió (I/R) által kiváltott gyulladás patkányon, kutyán és törpesertésen.

Megtörtént a vizsgálni kívánt, akut és krónikus gyulladási reakciók legfontosabb biokémiai jellemzőinek szerv-specifikus, pontos jellemzése. Ezek sorából ki kell emelni a nitrogén monoxid szintáz (NOS) izoenzimek, xantin oxidoreduktáz (XOR), mieloperoxidáz (MPO) aktivitásokat és hízósejt-reakciókat, szövetekben és a plazmában. Az egyes célszervek esetében mikrokeringési változások megfigyelése történt, a térdízületi synovium, a vékonybél és a vastagbél, valamint a máj esetében vizsgálatokat végeztünk többek között a szöveti perfúzió (vörösvérsejt áramlási sebességek) és a leukocytá-endothel interakciók meghatározására, emellett strukturális, szövettani változásokat (pl. mikroér denzitás, szöveti károsodás, adhéziós receptorok expressziója, adhéziós molekulák vizsgálata) és funkcionális változásokat is (hiperalgécia, bélmotilitás, etc.) karakterizáltunk. A kontrollok után a kezelt csoportok (pl. perorális és szisztémás foszfolipid kombinációk alkalmazása) vizsgálatai a tervezettnél megfelelően, részben nemzetközi kooperációban zajlottak. A további, megvalósítási munkaszakaszokhoz (2010<sup>1</sup>, 2011, 2012) köthető fontosabb eredmények és a levonható következtetések, időrendi, illetve logikai sorrendben a következők.

1. Vizsgálataink elsősorban a membránalkotó foszfatidilkolin (PC) és származékai jelentős gyulladáscsökkentő hatását bizonyították számos szerv, köztük a pleura, a térdízület és a gasztrointesztinális nyálkahártya funkcionális és strukturális károsodásával járó gyulladási kórfolyamataiban. Kimutattuk, hogy a carrageenan által kiváltott akut pleuritist jelentős szöveti leukocytá infiltráció és hízósejt degranuláció kíséri és jelentősen emelkedik az indukálható NOS és XOR enzimaktivitás. A pleura és a tüdő leukocytá reakciója, valamint a pro-inflammációs enzimek aktivitása szignifikánsan csökkent, ha az állatokat 1% foszfatidilkolint, 0.4% foszfatidiletanolamint és 0.1% N-acil-foszfatidiletanolamint tartalmazó táppal 7 napon keresztül előkezeltük; vagyis igazoltuk a PC+PE+NAPE foszfolipid kombináció preventív, gyulladáscsökkentő hatását. A PC+PE+NAPE hatékonysága azonosnak bizonyult az acetilszalicilsav gyulladáscsökkentő hatásával. (*Anti-inflammatory action of a phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine and N-acylphosphatidylethanolamine-enriched diet in carrageenan-induced pleurisy. Erős G et al. Eur Surg Res 2009*)
2. Igazoltuk, hogy a vékonybél I/R-t kísérő antigén-független gyulladási reakció konvencionális jelei mellett (szöveti acidózis, oxigén intermedier képződés és leukocytá akkumuláció) a reperfúzió – reoxigenizáció alatt fokozott endogén metánképződés történik; jelentős metán koncentráció emelkedés mutatható ki a tüdőből távozó levegőben. Ezek a változások befolyásolhatók, ha táplálékkal bevitt PC tartalmat megemeljük, az 1% PC-t tartalmazó speciális táppal kezelt csoport állataiban csökkent a metán kibocsátás, az intramucosális pH változás, a gasztrointesztinális (GI) mucosa szuperoxid képződése, a leukocyták akkumulációja, azaz a gyulladási reakció mértéke. (*Oral phosphatidylcholine pretreatment decreases ischemia-reperfusion-induced methane generation and the inflammatory response in the small intestine. Ghyczy M et al. Shock 2008*).

<sup>1</sup> 2010-ben nem érkezett pénzügyi támogatás

3. Krónikus, *in vivo* vizsgálatainkban kimutattuk, hogy rágcsálókban az 1% PC-t tartalmazó peroralis előkezelés hatékonyan csökkenti a kollagén-indukált kísérletes arthritis alatt kialakuló fájdalmat és funkciózavart. A PC terápia csökkentette az intravitális video-mikroszkóppal megfigyelhető leukocytá-endothelsejt interakciók számát, a synoviumban *de novo* képződő funkcionáló kapillárisok sűrűségét, valamint az ízületi porc strukturális szöveti károsodását is. Ugyanakkor a gyulladáscsökkentő hatás lényegében nem volt kimutatható, ha a peroralis PC kezelést csak később, a gyulladással jelek és tünetek kialakulása után kapták az állatok. Bizonyítottuk (Prof. Brigitte Vollmar munkacsoportja közreműködésével, Rostock Egyetem, Németország), hogy a PC hatásainak közvetítésében a synovium cannabinoid receptorai nem vesznek részt és a PC kezelés következményeként nem változik a TNF- $\alpha$  citokin expressziója sem. Következtetésünk szerint tehát a PC hatása sejt- és időfüggő és a terápia kezdete a sikeresség kritikus pontja. A krónikus arthritis kialakulása és az ízfelszín károsodása preventív PC alkalmazással megelőzhető, de a későbbiekben az arthritis nem kezelhető fokozott (1%) PC bevitellel, pl. PC tartalmú étrend alkalmazásával. (*Oral phosphatidylcholine pretreatment alleviates the signs of experimental rheumatoid arthritis. Erős G et al. Arthritis Res Ther 2009*).
4. A térdízületi kísérletes protokollunk folytatásában részletesen jellemeztük a carrageenan által kiváltott monoarthritis alatt kialakuló funkcionális és mikrokeringési változásokat, patkányokon. Az intraartikuláris mikrokeringési gyulladással reagáló pontos jellemzésére új, standardizálható, intravitális mikroszkópos eljárást dolgoztunk ki (a korábbi irodalmi közlések csupán a Hoffa-féle zsírtestben zajló folyamatokra vonatkoztak). Ennek lényege a a tibia medialis condylusa felett elhelyezkedő synovialis szövetet mikrosebészeti módszerrel történő feltárása, melyet így alkalmassá tehetünk a mikroszkópos megfigyelések számára. Elsőként közöltünk adatokat a synoviális hártya mikrokeringéséről valamint a carrageenan által okozott steril gyulladással kísérő leukocytá reakcióról. A modelltől és a synoviális hártya fluoreszcens intravitális mikroszkópos vizsgálattal megfigyelhető mikrokeringési jellegzetességeiről beszámoltunk a Molecular Imaging 2010-es Világkongresszusán (Kyoto, Japán). Regisztráltuk a gyulladással kapcsolatos funkcionális változásokat és modellünkben kimutattuk, hogy az arthritis indukcióját követő 6 órán belül jelentősen megnő a synoviális hártya posztkapilláris vénuláiban a leukocytá-endothelsejt interakciók száma, 24 órával később fokozódik a térd hő és mechanikus ingerekkel szembeni érzékenysége, majd szignifikáns volumen-növekedés (oedema) észlelhető. Igazoltuk az orális PC monoterápia gyulladáscsökkentő hatását: a perivascularis neutrophil leukocytá infiltráció és az intravaszkuláris adherens leukocyták száma is szignifikánsan, közel 40%-kal csökkent, emellett jelentősen mérséklődött az ICAM-1 adhéziós molekula expressziója a synoviális hártyában. A funkcionális paraméterek jelentős javulása mellett a térd oedema nagysága is csökken, a PC-vel kezelt csoportban a változás mértéke meghaladta a pozitív kontrollként alkalmazott nem-steroid gyulladáscsökkentő Na-diclofenac kezelés hatékonyságát. (*Anti-inflammatory effects of phosphatidylcholine in neutrophil leukocyte-dependent acute arthritis in rats. Hartmann P et al. Eur J Pharmacol 2009*).
5. A továbbiakban megvizsgáltuk a táplálékkal bevitt PC előkezelés hatását a bakteriális endotoxin (lipopoliszacharid - LPS) által kiváltott generalizált gyulladással reakcióban a periférián és a központi idegrendszerben. A kontroll és az LPS-kezelt csoport állatait hagyományos táppal, míg egy további csoportot 1% PC-vel dúsított speciális táppal etettük. A gyulladással indukció után az állatok bromodeoxiuridint (BrdU) kaptak az újonnan képződött neuronok megjelölésére. Szövetmintát vettünk a hippocampusból és immunfluoreszcens festéssel tettük láthatóvá a BrdU- és a doublecortin-pozitív neuroprogenitor sejteket, és az Iba1 pozitív mikroglia, a memóriaállapotok

feltérképezésére magatartásvizsgálatot alkalmaztunk. Igazoltuk a leukocyták aktivációját és a gyulladással kapcsolatos citokinek termelődését a periférián az LPS expozíciót, valamint hogy a mediátorok (elsősorban a TNF- $\alpha$ ) a központi idegrendszert is eléri, aminek következtében csökken a neurogenesis a hippocampusban, valamint szignifikánsan fokozódik a mikroglia akkumuláció. A PC előkezelés szignifikánsan csökkentette a plazma TNF- $\alpha$  szintet, mérsékelte az intesztinális károsodást és a centrális változásokat is. Megállapítottuk, hogy a táplálékkal bevitt PC előkezelés hatékonyan csökkentheti az LPS által kiváltott gyulladással kapcsolatos reakciót a központi idegrendszerben és alkalmas a gyulladás miatt bekövetkező neurogenesis-csökkenés kivédésére is. (*Protective effects of a phosphatidylcholine-enriched diet in lipopolysaccharide-induced experimental neuroinflammation in the rat. Tőkés T et al. Shock 2011*).

6. Mivel felmerült, hogy az LPS távoli hatásaiban prekonkondicionáló mechanizmusok is szerepet játszhatnak, előbbi vizsgálati protokollunk folytatásaként megvizsgáltuk az LPS előkezelés hatását a mesenterialis I/R távoli szerveket is érintő káros következményeire. Rágcsálókön végzett kísérleteinkben a 60 perces arteria mesenterica superior okklúzió jelentősen csökkentette a tüdő légúti ellenállását, növelte a szöveti rezisztenciát és elasztanciát, valamint jelentősen fokozta a gyulladással kapcsolatos markerek (NOS és mieloperoxidáz) aktivitását. Az LPS-sel végzett 1-3 napos prekonkondicionálás megfordította a mesenterialis I/R által kiváltott pulmonalis mechanikai választ és kedvezően befolyásolta a gyulladással kapcsolatos sejtek aktivitását is. Következtetésünk szerint az LPS, vagy endotoxin-indukált folyamatok (humorális mediátorok) közvetett, de szignifikáns szerepet játszanak az I/R távoli szövődényeinek kialakításában. (*Pulmonary mechanical responses to intestinal ischaemia-reperfusion and endotoxin preconditioning. Adamizca Á et al. Acta Physiol Hung 2012*).
7. Előbbi, valamint a 3.-4. pontban említett mozgásszervi vizsgálatainkat folytatva meghatároztuk a teljes végtag I/R által kiváltott antigén független gyulladást, illetve az ezzel párhuzamos ischaemiás prekonkondicionálás (IPC) direkt mikrokeringési következményeit is. E kísérleteink során patkányokon a végtagi I/R inzultus előtt CGRP agonista hCGRP kezelést, vagy IPC-t (2 x 10' ischaemia / 10' reperfüzió) alkalmaztunk. Az IPC hatását 3 további alcsoportban a CGRP antagonistá CGRP<sub>8-37</sub>, a TRPV-1 pozitív neuronokat inaktíváló resiniferatoxin (RTX) vagy hordozóanyag jelenlétében is vizsgáltuk, a tibia csontthártya mikrokeringését intravitális fluoreszcens videómikroszkóppal tettük láthatóvá. Az ischaemia előtt alkalmazott IPC és hCGRP egyaránt mérsékelte az I-R által kiváltott leukocytá-endotelséj interakciókat a reperfüzió során, míg a CGRP<sub>8-37</sub> és RTX kezelése az IPC kedvező hatását felfüggesztették. Kimutattuk tehát a CGRP receptor agonizmus, valamint a TRPV1 pozitív neuronok és mediátoraik közül elsősorban a CGRP szerepét az IPC hatásmechanizmusában. Következtetésünk szerint a C-afferens neuronok közvetlen stimulációja és az IPC egyaránt mérsékelheti a tourniquet ischaemia mikrokeringési következményeit a végtag periosteumában. (*Anti-inflammatory effects of limb ischaemic preconditioning are mediated by sensory nerve activation in rats. Hartmann P et al. Naunyn-Schmiedeberg Archiv Pharmacol 2011*).
8. Jellegében nagyon hasonló eredményeket kaptunk GI traktusban, patkány TNBS-colitis modellben, ahol a vastagbél motilitását, valamint a mikro- és makrohaemodinamikai változásokat monitoroztuk a colitis akut fázisában. Feltételeztük, hogy az enterális idegrendszer gyulladással szembeni védelmében az N-metil-D-aszpartát (NMDA) receptoroknak speciális jelentőségük lehet. Kimutattuk, hogy 17 órával a TNBS kezelést követően a hiperdinamias makrokeringési reakció mellett fokozódik a colon serosa kapillárisaiban a vörösvérsejtek áramlási sebessége és emelkedik a mucosa XOR, MPO és NOS aktivitása, valamint jelentős colon motilitás fokozódás észlelhető. Igazoltuk az

- NMDA receptor antagonisták kezelése (kinurénsav és a kollaborációs partnerereink, köztük az MTA-SZTE Neurobiológiai Munkacsoport közreműködésével kifejlesztett SZR-72 jelzésű szintetikus analóg) hatékonyságát; elsőként mutattuk ki, hogy a vastagbél NMDA receptorok aktivációja jelentős szerepet játszik a colitis alatt bekövetkező gyulladási és motilitási válaszban. (*N-Methyl-D-aspartate receptor antagonism decreases motility and inflammatory activation in the early phase of acute experimental colitis in the rat. Varga G et al. Neurogastroenterol Motil 2010*).
9. További kísérleteinkben a gyulladáscsökkentő és neuroprotektív hatásának bizonyult NMDA receptor antagonisták terápiás hatékonyságát vizsgáltuk TNBS colitis krónikus modelljében, a gyulladási indukciót követő 6 napos periódusban. Fő célunk a colitist kísérő hipermotilitás és a gyulladási folyamatok szimultán befolyásolása volt, klinikailag releváns (utókezelés) körülmények között. Feltételeztük, részben saját, részben irodalmi adatok alapján, hogy a GI motilitási változások összefüggésben állnak a mucosa NO képződéssel és iNOS aktivációval is. A colitis 6. napján alkalmazott természetes (kinurénsav) és szintetikus (SZR-72) NMDA receptor antagonisták alkalmazásával kimutattuk a TNF- $\alpha$  és IL-6 szerepét a folyamatban. Meghatároztuk a vastagbél motilitási paramétereit, a serosa mikrocirkulációs eltéréseit, valamint a fontosabb biokémiai (citokinek, NOS izoenzimek, MPO, XOR) változásokat is, és igazoltuk a kinurénsav és szintetikus analógja hatékonyságát (*N-methyl-D-aspartate receptor antagonist therapy suppresses colon motility and inflammatory activation six days after the onset of experimental colitis in rats. Érces D et al. Eur J Pharmacol 2012*).
  10. Az excitátoros neurotranszmitter glutamát, ill. az NMDA receptor közvetítésével kialakuló excitotoxicitás kórtana az agyi (CNS) hipoxiás, I/R kórfolyamatok esetében viszonylag jól ismert, de a receptorok, ill. jelátviteli utak szerepe a periférián, a GI traktusban még nincs feltérképezve. A vizsgálati eredményeinkre alapozott, tapasztalatainkat összefoglaló közleményben megállapítottuk, hogy az ENS esetében a gyulladási neuroprotektív leghatékonyabban a perifériás NMDA receptorok blokádjával, valamint a neuronális NO és a szuperoxid termelésének szinergizmusának gátlásával valósítható meg, s erre a célra a kinurénsav megfelelő hatékonyságú szer lehet. (*Kynurenines and intestinal neurotransmission: the role of N-methyl-D-aspartate receptors. Kaszaki J et al. J Neural Transm 2012*).
  11. Colitises modell-kísérleteink folytatásában megvizsgáltuk a korábbiakban már számos szempont alapján hatékonyan talált PC kezelés hatását a lokális gyulladás progressziójára. A táplálékkal bevitt PC kezelés hatékonyan csökkentette a plazma TNF- $\alpha$  és IL-1 koncentrációját, a leukocita aktivációt és oxigén szabadgyök termelését a vastagbélben. A bélfalban kialakuló strukturális változások jellemzésére elsőként alkalmaztunk fluoreszcens konfokális pásztázó mikroszkópos (CLSM) vizsgálatokat (Optiscan rendszer, melyhez a vizsgálófej beszerzését az OTKA támogatás tette lehetővé). Összehasonlító vizsgálati eredményeink szerint az *in vivo* körülmények között alkalmazott eljárással a hagyományos fénymikroszkópos szövettani vizsgálatok elvégzése nélkül is pontos képet kaphatunk a bél mikrokeringési rendszerének és az epithel sejtek károsodásának dinamikájáról és mértékéről. Kidolgoztunk egy *in vivo* körülmények között alkalmazható új értékelési rendszert a mucosa morfológia jellemzésére (a változások iv adott fluoreszcen és topikális acriflavin alkalmazásával tanulmányozhatók). Ezzel a módszerrel elsőként jellemeztük a vastagbél nyálkahártya károsodásának jellegzetes paramétereit *in vivo* körülmények között, valamint a fokozott PC bevitel hatását: a mucin termelő kehelysejtek számának fokozódását. (*Dietary phosphatidylcholine supplementation attenuates inflammatory mucosal damage in a rat model of experimental colitis. Kovács T et al. Shock 2012*).

12. A membránalkotó PC hatásmechanizmusának megismerését célzó *in vitro* és *in vivo* kísérletes munkáinkkal két, párhuzamosan futó, később találkozó irányban indultunk el. Az előbbieken sorolt eredményeink elsősorban a PC biológiai aktivitását igazolták oxidoredukciós stressz állapotokban. Kiindulási pontként feltételeztük egy intracelluláris kémiai rendszer működését, ami az aerob sejtekben az oxigénhiány miatt fellépő redukzív stressz alatt elektrofil tulajdonságú, metilcsoportokat tartalmazó biomolekulákból (nem-bakteriális) metán képződéséhez vezet. Korábbi vizsgálatainkat, melyekben patkány májból izolált mitokondriumok metánképzését igazoltuk hipoxás körülmények között külföldi kollaborációs partnereink (Frank Keppler, Max Planck Institute, Mainz, Németország) erőforrásaira támaszkodva folytathattuk. Steril körülmények között tenyésztett növények (dohány, cukorrépa) esetén többek között C13 izotóp alkalmazásával is igazoltuk a metán generáció lehetőségét, valamint hogy a jelenség a mitokondriális légzési lánc gátlásával függ össze. Igazoltuk, hogy élettani körülmények között is észlelhető viszonylag alacsony non-bakteriális metán-képződés. Ennek mértéke nagyságrendekkel fokozódik, ha a növényi citokróm c oxidáz működését (pl. Na-azid alkalmazásával) gátoltuk. A légzési lánc további pontjainak gátlása nem eredményezett metán termelést, tehát kimutattuk, hogy növényekben a mitokondriális metánképződés az elektrontranszport utolsó állomásának (komplex IV) specifikus gátlásának következménye. (*Enhanced formation of methane in plant cell cultures by inhibition of cytochrome c oxidase. Wishkerman A et al. Plant Cell Environ 2011*).
13. E tárgy körben megjelent összefoglaló közleményünk az aerob körülmények között zajló metánképződést, valamint a reakció feltételezett szerepét és mechanizmusát szélesebb perspektívába helyezi. (*Methane formation in aerobic environments. Keppler F et al. Environ Chem 2009*).
14. A hipoxia következtében fellépő nem-bakteriális metánképződés lehetséges biokémiai kapcsolata a PC metabolizmussal (ld. korábbi vizsgálataink, ill. 2. és 12. pont) felvetette annak lehetőségét, hogy a reakció köztes- vagy végterméke (vagyis a metán) szerepet játszhat a hipoxia-reoxigenizációt kísérő, antigén-független gyulladáscsökkentő modulációjában. Kiindulásként rácsálókban megvizsgáltuk a normoxiás (21% O<sub>2</sub>), exogén metán inhaláció és a mesterséges, hipoxiás, metán-tartalmú gázkeverékek biokémiai és makrokeringési következményeit. Kimutattuk, hogy 18,5%-os O<sub>2</sub> szintig a hipoxia (metánnal, vagy anélkül) tolerálható, így a metán feltételezett gyulladáscsökkentő hatását ebben a tartományban vizsgálható. Ezt követően 0-2,5% CH<sub>4</sub>-21% O<sub>2</sub> mesterséges gázkeverékeket alkalmazva megvizsgáltuk a normoxiás CH<sub>4</sub> inhaláció biológiai hatását az arteria mesenterica superior elzárásával létrehozott gasztrointesztinális I/R következményeire, altatott kutyákon. Az I/R közel kétszeresére növelte a reaktív oxigén gyökképződést a vékonybélben és fokozta az MPO aktivitását. A CH<sub>4</sub>, illetve a metán-oxigén lélegeztetés nem befolyásolta a makrokeringési paramétereket, ugyanakkor szignifikánsan csökkentette a mucosa mikrokeringésének romlását a reperfüzió alatt (különös tekintettel a pCO<sub>2</sub> gap változásokra), gátolta a szöveti leukocita aktivációt és szignifikánsan csökkentette az oxidatív/nitrozatív stressz biokémiai jeleit. A CH<sub>4</sub> inhaláció jelentősen mérsékelte a nyálkahártya strukturális károsodását is. A metánkezelés szignifikánsan csökkentette a PMN leukocita aktivációt *in vitro* körülmények között, ezért következtetéseink szerint az exogén CH<sub>4</sub> az I/R alatt aktiválódó leukocyták reakcióinak mérséklésével és a képződő reaktív oxigén intermedierek semlegesítésével hozzájárul a mucosa strukturális védelméhez, a homeosztázis normalizálásához, gyulladáscsökkentő hatású, így terápiás jelentőségű beavatkozás lehet a hipoxia-reoxigenizációval járó állapotok esetében. (*The anti-inflammatory effects of methane. Boros M et al. Crit Care Med 2012*).

15. A következőkben meghatároztuk, hogy a PC korábban részletesen körülírt anti-inflammációs hatékonysága (oxidatív- ill. nitrozatív stressz-gátló hatás) a molekula poláris vagy apoláris részéhez köthető-e. Megvizsgáltuk a PC deacilált származéka, a foszfolipid prekursor L- $\alpha$  glicerilfoszforilkolin (GPC) hatásait, ill. a terápiás alkalmazás lehetőségét (elő- és utókezelés hatékonyságát) a mesenterialis I/R által kiváltott gyulladásoz reakciókban álműtött, GPC előkezelés és utókezelés csoportokban. Kimutattuk, hogy I/R után fokozódott az érellenállás (MVR), emelkedett a bél oxigén gyök-termelődése és a májban jelentős ATP depléción alakult ki. A GPC előkezelés hatására mérséklődött az MVR emelkedés és csökkent az gyökképződés a vékonybélben, míg a GPC utókezelés csökkentette a gyulladásoz enzim-aktivációt és az ATP depléciót is. (*Tóksés T et al. Acta Physiologica 2011; Varga G et al. Shock 2011*, absztraktok, közlemények folyamatban).
16. A metán anti-inflammatorikus hatásmechanizmusának további vizsgálata céljából meghatároztuk a krónikus Na-azid kezelés (mitochondrium légzési lánc IV. komplex gátlás) következményeit, *in vivo* állatkísérletben. Kísérleteinkben patkányokon vizsgáltuk a mitokondriális diszfunkción hatását az endogén metántermelődésre, valamint meghatároztuk a GPC hatását a kémiai hipoxia által kiváltott szisztémás gyulladásoz reakción fontosabb elemekre. Az állatok teljes test metánkibocsátását a közreműködő kollaborációs partnereink (SZTE TTIK, Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék) által kifejlesztett dióadalézeres fotoakusztikus módszerrel, a máj mikrokeringését és a leukocytá-endothel interakciókat fluoreszcens intravitális videomikroszkóppal, a szöveti elváltozásokat CLSEM módszerrel monitoroztuk. A krónikus Na-azid kezelés szignifikáns metán felszabadulást okozott és antibiotikum kezeléssel igazoltuk, hogy a jelenség független a metanogén bélflórától. A mitokondrium diszfunkción jelentősen rontotta a máj mikrokeringését, valamint növelte a máj venuláiban kitapadt leukocyták számát a kontrollhoz képest, s ezeket a jelenségeket nem figyeltük meg a GPC-vel kezelt csoportban. Következtetésünk szerint a mitokondriális citokró-m-c oxidáz gátlását az endogén metántermelődés emelkedése és a máj gyulladásoz reakción kíséri és GPC alkalmazásával az endogén metánképzés valamint a gyulladásoz következmények is csökkenthetők. (*Methane biogenesis during sodium azide-induced chemical hypoxia in rats. Tuboly E, et al. Am J Physiol Cell Physiol 2013*).
17. A 14. pontban említett nagyállat modellünk folytatását (valamint kísérletes protokollunk leágazását, egyben továbbvitelét) jelentő vizsgálatainkban a pericardiális tamponáddal létrehozott splanchnikus I/R következményeit jellemeztük, törpesertéseken. A pericardiális tamponád által okozott kardiogén shock megszüntetése után fokozott reaktív oxigén gyök-termeléssel kapcsolatba hozható mikrokeringési szövődmények alakultak a GI traktus területén. Megvizsgáltuk a kollaborációs partnereink (Prof. Hidechika Okada, Nagoya, Japan) közreműködésével kifejlesztett komplement C5a antagonistá kezelés anti-inflammációs és mikrocirkulációs hatásait ebben a rendszerben, a tamponád megszüntetését követő periódusban. Igazoltuk, hogy a tamponád megszűnése előtt alkalmazott C5a antagonistá terápiával az intesztinális véráramlás és a mucosa mikrocirkulációs paraméterei szignifikánsan javulnak, s ennek alapja a gyulladásoz sejtaktiváción és a reaktív oxigén és nitrogén szabadgyökök képződésének gátlása. (*Complement C5A antagonist treatment improves the acute circulatory and inflammatory consequences of experimental cardiac tamponade. Érces D et al. Critical Care Med 2013*, közlésre elfogadva).

A fentiekben részletezett eredményekről a tervezettnek megfelelően beszámoltunk a szakterület hazai és nemzetközi fórumain is.