

ENDOGEN SZUBSZTANCIÁK KARDIOVASZKULÁRIS REGULÁTOR SZEREPÉNEK MOLEKULÁRIS BIOLÓGIAI ÉS BIOKÉMIAI VIZSGÁLATA SEBÉSZI SZÍVBETEGSÉGEKBE ÉS ÁLLATKÍSÉRLETES MODELLEKBE

Jelen OTKA pályázatunk célja az volt, hogy korábbi már két alkalommal OTKA támogatásban részesült témáinkat folytassuk. Tágabb értelemben a humán szívbetegségek és ezek állatkísérletes modelljeiben vizsgáljuk a peptidreguláció kórélettani jelentőségét. A korábbi munka folytatása mellett új modellként vizsgálatainkat kiterjesszük a diabéteszsel kombinált szívbetegségek területére is.

Az utóbbi évtizedekben egyre intenzívebb kutatás tárgyát képezi a szív saját hormontermelése és ezen hormonok szervezetben betöltött funkciói.

Az endothélium vazóaktív anyagokat termel, az endothél függő vasodilatator factor (EDRF) (NO, nitrogén monoxid) után az endothél függő konstriktor faktor (EDCF), az endothelin-1 is azonosításra került (1987 Yanagisawa, 1). A szívben jelentős felszint tesz ki az epi-és endokardiális valamint intravazális endothelsejtek rétege: az általuk termelt vazóaktív anyagok a szívizomsejtek intersticiális terébe jutva, a szívizomsejteken lévő receptorokhoz kötődve szabályozó szerepet tölthetnek be (2,3,4).

De Bold 1980-ban patkány pitvarából izolált egy nátriuretikus és vazodilatátor hatású peptidet. A szív pitvarában képződő pitvari nátriuretikus peptid, ANP felfedezésével a szívizom saját hormontermelő kapacitása és működésének sejtszintű szabályozása vált a kutatások érdeklődésének középpontjává.

A vazóaktív anyagok pl. ANP, BNP, ET-1, apelin, adrenomedullin biokémiai meghatározása és génexpresszióik vizsgálata különböző szívbetegségekben szenvedő betegekben, elősegítheti a patofiziológiai folyamatok megértését, és esetleges therápiás konzekvenciái lehetnek.

A KUTATÁS HAZAI ÉS NEMZETKÖZI ELŐZMÉNYEI

Korábbi vizsgálataink egyik fő területe a perikardiális tér illetve a benne lévő perikardiális folyadék volt. Éppen magyar kutatóknak az a régebbi, mintegy negyedszázados felvetését rekapituláltuk, miszerint a perikardiális térben fellelhető ágensek egyszersmind a biológiai szabályozás hatótényezői is lehetnek, vagyis a perikardiális folyadék - tartalmát tekintve - nem pusztán "passzív" transzudátum. Elsőként igazoltuk a humán perikardiális

folyadék extrém magas ET koncentrációját (5,6,7,) és megerősítettük mások megfigyeléseit a perikardiális folyadék magas ANP tartalmára vonatkozólag (8,9,10,11,12,13,) mind szívműtetre kerülő betegekben, mind kísérleti állatban. Az ET-1 szinteket megmérve, arra a meglepő megállapításra jutottunk, hogy a peptid koncentráció különbsége a perikardiális folyadékban és a plazmában még az ANP-jénél is lényegesen nagyobb, közel két nagyságrendű. Az emberen mért értékek: 73 ± 10 vs 3.3 ± 0.5 pg/ml; egészséges kutyán mért értékek: 853 ± 140 vs 19.9 ± 3.5 pg/ml. Egyedi esetekben közel 10^3 nagyságrendű differencia is mérhető volt az utóbbi speciesben (11). A perikardiális térben mért ET-1 értékek a biológiai médiumokban valaha ismert legnagyobb peptid koncentrációnak felelnek meg. A szívet fedő mezothelium és az endothelium között szoros ontogenetikai rokonság áll fenn. Feltételezhetjük, hogy az epikardiális tér viszonyai egyszersmind megközelítik, vagy legalábbis valamilyen módon tükrözik az ET-1 parakrin funkciója során kialakuló lokális koncentrációs viszonyokat. Annál is inkább, miután ebben a térben az ET-1 eliminációja (felezési ideje, jelzett ET-1-el mérve) sokkal lassúbb, kb. ötödannyi, mint a vérplazmában. Kimutattuk, hogy a megnyújtott "hormonális jelenlét" nem magyarázható a peptidet inaktiváló neutrális endopeptidáz fokozott aktivitásával a perikardiális térben. Összességükben e körülmények tehát a hatóanyagoknak a perikardiális térben sajátosan vizsgálható dinamikáját érdeklődésünk előterébe állították.

Ugyanakkor a perikardiális folyadékban észlelhető extrém magas ET tartalom joggal veti fel a kérdést, - különösen patológias állapotokban az ET direkt aritmogén hatása következtében-hogy szerepet játszhat-e végzetes ritmuszavarok és a hirtelen szívhalál kialakulásában. Ezen kérdésfelvetés még nagyobb hangsúlyt kap iszkémiás miokardium károsodás illetve aritmogén szubsztrátum fennállása esetében. Az említett feltevést szimulálva a zárt perikardiális térbe adott ET valamennyi esetben súlyos kamrai ritmuszavart, sőt mintegy 30 %-os valószínűséggel kamrafibrillációt hozott létre (14). Feltehető, hogy ez a jelenség, melyet kalcium antagonisták véd ugyan, de csak részlegesen, az endothelinek celluláris hatásmechanizmusa során aktiválódó másodlagos jelátalakító rendszerek egyidejű involválásával és többszörös összefonódásával függ össze (15). Más szóval az ET-1 hatására nem csupán egyetlen vagy néhány, hanem gyakorlatilag valamennyi kardiostimulatív membrán- és szorosan vett intracelluláris jelátalakító szisztéma felfokozottan lép működésbe (16).

Megvizsgáltuk az ET-1 effektust potenciálisan (bár elégtelenül) antagonizáló adenin nukleozid transzmittereket, melyek esetében nagyon hasonló viszonyokat észleltünk. Az

ischaemiás szívbetegség miatt koronária műtétre, illetve vitium miatt műbillentyű beültetésre kerülő betegek perikardialis folyadékban mérhető adozin koncentráció sokszorosa a vénás plazmában mérhető koncentrációnak (1545 vs. 66 nmol/L); az inozin koncentrációbeli különbsége nagyságrendben ennek elég pontosan megfelel (658 vs. 49 nmol/L) (17). Ha nem koronária betegeket, hanem egyéb, nem ischaemiás szívbetegeket vizsgáltunk, akkor nagyságrendileg hasonló arányokat észleltünk, bár a perikardialis értékek közel sem voltak akkorák mint a fentebb idézettek; a nukleozid koncentrációs szintek a perikardiumban valamivel kevesebb mint 50 %-át tették ki az ischaemiás szívbetegségben mért értékeknek. Ez a hallatlanul érdekes adat arra utalhat, hogy az ischaemiás szívbetegségben a kompenzáció szubsztrátumául szolgáló nukleozid-transzmitterek kardioprotektív és esetleg direkt vazodilatátor hatásaikkal segítenek enyhíteni az ischaemiás károsodás következményeit.

A HUMÁN VIZSGÁLATOK MENETE

A sebészeti kezelésre szoruló szívbetegségekben a betegek szívelégtelenségének felmérése műtét előtt alapvető fontosságú. A beteg szubjektív panaszain alapuló NYHA beosztásba való besorolás, illetve az objektívebb, echokardiográfiával megállapított, bal kamrai ejekciós frakció meghatározása mellett jelentős segítséget adhat az egyes országokban (USA, Japán) már a rutin diagnosztikában is alkalmazott nátriuretikus peptid meghatározása. A szívelégtelenségben szenvedő betegek vérében, a nyomás-és volumenterhelés okozta kamrafalfeszülés növekedés miatt magas az atriális és a B-típusú nátriuretikus faktor, valamint prohormonjaik N-terminális fragmentjének szintje. Az N-terminális peptid az aktív peptiddel equimoláris mennyiségben szabadulnak fel, és féléletidejük hosszabb, valamint stabilabbak, mérésük jobban alkalmas a rutin diagnosztikában, mint az aktív hormonszintek meghatározása. (19)

Az N terminális ANP, és az N terminális BNP a szívelégtelenség korai stádiumában aktivizálódnak, még a panaszok jelentkezése előtt, és ezért a korai diagnózisban fontos szerepet játszanak. A szívűtétre jelentkező betegek esetében az N terminális peptid mérése elősegítené a gyógyszeres kezelés objektívizált beállítását, ugyanis a hormonok koncentrációja a helyes kezelés eredményeként a normál tartományba esik vissza, ezáltal a terápia hatásosságának nyomon követésére alkalmas. Az NT-BNP koncentráció a bal kamrai hemodinamikai diszfunkció legjobb mutatója. Az ACE gátlók, β -blokkolók, diuretikumok, vazodilatátorok alkalmazása csökkenti az emelkedett NT-BNP szintet, csökken a bal kamrai

volumenterhelés, a kamraizomzat falfeszülése, és az oxigén igénye. Ezek a hatások végeredményben javíthatják a szívizom kontraktilis funkcióját. (20, 21, 22, 23)

Jelen OTKA támogatás keretein belül az Országos Kardiológiai Intézetben nagyszámú, közel 2000 beteg bevonásával végeztük kísérleteinket. Úgy gondoljuk, hogy a humán betegcsoportok „tisztá” vizsgálata nem lehetséges, ezért szükséges a kis eltérések kimutatására a nagy elemszám. Széles betegcsoportokban a plazma NT-proANP és NT-proBNP meghatározását végeztük, azzal a célkitűzéssel, hogy összefüggést keressünk a klinikai állapot és a plazma peptid szintek között, illetve hosszabb távú utánkövetéssel azok prognosztikai hatására rávilágítsunk. A vizsgált betegpopuláció coronariabetegekből, szívsebészeti billentyűbetegekből, dilatatív cardiomyopathiás (DCM) betegekből, illetve fejlődési rendellenesség miatt elektív cardiopulmonáris bypasson (CPB) átesett gyermekekből állt. A vezető kórképek mellett társbetegségek közül vizsgáltuk az 1-es és 2-es típusú cukorbetegséget feltételezve, hogy cukorbetegség esetén a szív endokrin működése is változik. Mivel a nátriuretikus anyagok a kardiovaszkuláris diagnosztika első vonalbeli diagnosztikus mérését képezik, elképzelhető, hogy eredményeink nyomán esetleg a diagnosztikus értékek módosításának lehetőségét is meg kell vizsgálni a későbbiekben cukorbetegség esetén. Egyéb társbetegségek közül a hypertóniát, hyperlipidaemiát, balkamra-hypertrophiát, szívelégtelenséget, illetve annak NYHA-stádiumát, veseelégtelenséget, májelégtelenséget, pajzsmirigy-betegséget, illetve korábbi infarktust vizsgáltunk. A betegségek mellett nyomon követtük a betegek gyógyszereszedését is, különös figyelemmel természetesen a cardiális szerekre, illetve azon hatóanyagokra, melyek szív-érrendszeri mellékhatása jelentős lehet.

Vizsgálatunk részét képezte egy nemzetközi együttműködésben kifejlesztett új mérési módszer létrehozása, illetve annak klinikai gyakorlatban való elültetése. Az új eljárás lehetőséget teremt az NT-proANP és az NT-proBNP együttes mérésére egy kettős antitest segítségével, amely specifikus mindkét peptid egy-egy megadott aminosav szegmentumára (NT-proXNP). A fenti nagyszámú beteganyagnál a hagyományos nátriuretikus peptid-szintek mellett az NT-proXNP szinteket is meghatároztuk, ezáltal növelhető a módszer érzékenysége és elősegíti az N-terminális peptidek mérésének a klinikai gyakorlatban való még közvetlenebb alkalmazását.

Gyerek-szívsebészeti vizsgálatunk célkitűzése az volt, hogy tanulmányozzuk, vajon az NT-proXNP megbízható jelzője-e a cardiac indexnek (CI), illetve a hemodinamikai statusnak újszülötteknél és gyermekeknél nyitott szívűmütétet követően.

26 egy év alatti gyermeket vontunk be a prospektív vizsgálatunkba. Az összes páciens elektív szívműtéten esett át cardiopulmonáris bypassal (CPB) komplett biventriculáris helyreállítással. A perioperatív hemodinamikai paraméterek transpulmonáris thermodilúcióval lettek felmérve, illetve a nátriuretikus peptid-szintek kerültek rögzítésre.

Az NT-proXNP szint szignifikáns összefüggést mutatott a szimultán mért NT-proANP szinttel ($r=0,60$, $p<0,001$), de még szorosabbat az NT-proBNP szinttel ($r=0,89$, $p<0,001$), illetve a két nátriuretikus peptid összegével ($r=0,88$, $p<0,001$). Az NT-proXNP szint szoros korrelációt mutatott a cardiac indexszel ($r=-0,85$; $p<0,001$), a stroke volume indexszel ($r=-0,80$; $p<0,001$) és a globális ejekciós frakcióval ($r=-0,67$; $p<0,009$) mindvégig a postoperatív periódus során. A rutinszerűen mért kardiovaszkuláris paraméterek, úgymint szívfrekvencia, artériás középnyomás és pulzusnyomás sokkal gyengébb korrelációt mutattak a cardiac indexszel, mint az NT-proXNP. A laboratóriumi paraméterek közül a creatinin-szint a posztoperatív periódusban szignifikáns összefüggést mutatott a cardiac indexszel ($r=-0,77$; $p<0,001$) és az NT-proXNP szinttel ($r=0,76$; $p<0,001$). A posztoperatív NT-proXNP-nek a 3079 pmol/l-es plazmaszintje 89%-os szenzitivitással és 90%-os specificitással volt diagnosztikus a 3 l/min/m^2 -nél kisebb cardiac indexre (AUC $0,91\pm 0,05$).

Eredményeink alapján elmondható, hogy az NT-proXNP jó marker a cardiac output utánkövetésére gyermekkori szívsebészetben és hasznos eszköze lehet a low output állapotok felismerésében (24).

A felnőttekre végzett nagyszámú adatunk feldolgozása folyamatos, még nem komplett, az eredmények közzlése a közeljövőben tervezett. A kapott biokémiai és molekuláris biológiai adatokat a betegek klinikai állapotát jól jellemző adatokkal együtt értékeljük. Jelentős előny, hogy a belgyógyászati kivizsgálás mellett a betegek jelentős része a műtét előtt invazív kardiológiai kivizsgáláson is átesett, így számos nyomásadat is rendelkezésünkre áll az alapvető funkcionális paraméterek (ejekciós frakció, szívüreg átmérők, etc) mellett.

Korábbi vizsgálatainkban elsőként hívtuk fel a figyelmet a dekompenzált szívbetegek gyorsult endogén digitális (ouabain-hoz hasonló anyag) forgalmára plazma és vizelet mintákban (18), mely emelkedett plazma szintben illetve fokozott vizeletürítésben nyilvánult meg. A kapott eredmények azt sugallják, hogy a fokozott ouabain termelés hozzájárulhat a szívbetegek kompenzált állapotának fenntartásához. Nagy számú ($n=1000$) betegcsoportban végeztünk vizsgálatunk során endogén digitális-szerű faktor, ouabain immunreaktivitás meghatározását. Adataink feldolgozása folyamatban van, az eredmények közzlését a közeljövőben tervezzük.

A perikardiális teret bélelő epi-és perikardialis mezothel sejtek ontogenetikai rokonságban állnak az endothelsejtekkel, és különböző peptideket termelhetnek. Munkacsoportunk korábban az endothelin-1, ANP, adenzin plazmaszintek többszörösét mutatta ki koronária- és billentyűbetegek perikardiális folyadékában. Az iszkémiás szívbetegségben az elmeszesedett koszorúerekben gyulladásoos folyamatok zajlanak, miokardiális infraktus során leukocyták, macrophagok vándorolnak a sérülés helyére. Ismert, hogy az endothelin-1 a macrophagokban is termelődik. Atherosclerotikus plakkból is kimutatásra került. Ismert az endothelinek chemoattraktáns szerepe, így felmerül a kérdés, hogy vajon a perikardiális folyadékban az emelkedett endothelin-1 koncentráció részét képezi-e az iszkémiás szívbetegség során kialakuló gyulladásoos folyamatoknak. (25, 26, 27, 28)

A Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt-és Immunbiológiai Intézetével kollaborációban (dr. Kóhidai László) a szívűtétek során koronária- illetve billentyűbetegekből származó perikardiális folyadék minták chemotaktikus aktivitását vizsgáltuk J774 monocyta sejttenyészetből származó sejteken. Kontrollként a monocyta sejteken a peptidek élettani körűmnyek során valószínűsíthető koncentrációját alkalmaztuk. Az alkalmazott perikardiális folyadék-koncentráció chemoattraktáns vagy –repellens hatásait vizsgáltuk. Az adatok értékelése jelenleg is tart. Eredményeink hozzájárulhatnak az érelmeszesedés infektioos folyamatainak tisztázásához.

EXPERIMENTÁLIS VIZSGÁLATOK

A kísérletes méréseinket altatott kutyák in situ, illetve patkányok izolált perfúziós szívén végeztük, a laboratóriumban évek óta kidolgozott standardizált műtétes regisztrálási valamint adatfeldolgozási feltételek közepette, melyek mind a nemzetközi tudományos elvárásoknak, mind a hazai állatvédelmi törvényeknek megfelelnek (a laboratórium GLP szintű).

Preklinikai vizsgálatunkban az inozinnak, az adenzin egy töredéktermékének szívre kifejtett hatásait vizsgálatuk reperfúzió során cardioplegiás szívűmegállás illetve extracorporalis keringésű experimentális kutyamodelleknél.

Módszerek: 12 altatott kutyánál hypothermiás cardiopulmonáris bypass műűtetet végeztünk. 60 perces hypothermiás arrestet követően kezdtük meg a reperfúziót fiziológias sóoldat (kontroll, n = 6), vagy inozin (100mg/kg, n = 6) alkalmazása után. A balkamra végszisztolés nyomás és volumen összefűgése (ESPVR) egy kombinált nyomás-térűogat konduktancia katéterrel lett

mérve alaphelyzetben és 60 perccel a reperfúzió után. Mértük továbbá a bal anterior descendens (LAD) koronária áramlását, az endothelium-dependens vazodilatációt acethylcholinra és az endothelium-independens vazodilatációt nitroprusszid-Na (SNP) adására.

Eredményeink szerint az inozin adása szignifikánsan gyorsabb gyógyulásához vezetett a végszisztolés nyomás-térfogat összefüggésében (90 ± 9 % vs. 46 ± 6 %, $p < 0.05$). A koronária áramlást is szignifikánsan magasabbnak találtuk az inozin-csoportnál (56 ± 8 vs. 23 ± 4 , ml/min, $p < 0.05$). Emellett az SNP-re adott vazodilatációs válasz mindkét csoportnál hasonlóan alakult, az acethylcholin az inozin-csoportnál szignifikánsan nagyobb koronária áramlás-emelkedést eredményezett (58 ± 6 % vs. 25 ± 5 %, $p < 0.05$).

Eredményeink szerint az inozin alkalmazása javítja a cardiális és endotheliális funkciót hypothermiás szívmegállásban végzett cardiopulmonáris bypass műtét után (29).

További experimentális vizsgálatainkat izolált perfúziós patkányszíven végeztük. A myocardiumban jellegzetesen magas számú prolactin releasing peptide (PrRP) kötőhelyet mutattak ki korábban más munkacsoportok, azonban ezek kardiális szabályozásban játszott szerepe tisztázatlan volt. 99 darab hím Sprague-Dawley patkány szívét preparáltuk ki Langendorff szerint. Izolált perfúziós patkányszíven a PrRP adása (1-100nM) dózis-dependens pozitív inotróp hatást fejt ki. A cAMP katabolizmus gátlása IBMXxel, egy foszfodiészteráz-gátlóval csökkenti a PrRP kontraktilitást növelő hatását. A protein foszfatáz (PP1/PP2A) gátló calyculin A fokozta a PrRP-re adott inotróp választ, ugyanakkor a PP2A inhibitor okadaic-savnak nem volt ilyen hatása. Ro32-0432, egy protein kináz Ca (PKC α) inhibitor szignifikánsan megnövelte a pozitív inotróp hatását a PrRP-nek, valamint a phospholamban foszforilációját a Ser-16-nál.

Ezen eredményeink egy ez idáig ismeretlen szerepét tárták fel a prolactin releasing peptidnek, miszerint direkt pozitív inotróp hatással van a szívizomra. Ezenfelül az eredményeink arra utalnak, hogy a cAMP independens inotróp válasz a PrRP-re szupresszált a PKC α és PP1 egyidejű aktivációja miatt (30).

Az elvégzett vizsgálataink alap kutatás jellegűek. Végző céljuk az, hogy mélyebben értsük meg a vitium okozta vagy ischaemiával terhelt szív „önvédelmi” mechanizmusait, valamint a szervezetben potenciálisan káros endogén ágensek hatásának módját. A vizsgált endogén szubsztanciák közötti újszerű interakciók felfedése további hasznos információul

szolgál a patofiziológiai folyamatok jobb megértéséhez mind diagnosztikai, mind prognosztikai szempontból.

A pályázatban vállalt kísérleteink elvégzését megnehezítette és időben jelentősen lassította az a tény, hogy korábbi kutatásaink helyszíne, a Gottsegen György Országos Kardiológiai Intézet Kutatási Osztályának működését időközben megszüntették.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T:
A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells
Nature 1988; 332:31: 411-415.
2. Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility.
Szokodi I, Tavi P, Foldes G, Voutilainen-Myllyla S, Ilves M, Tokola H, Pikkarainen S, Piuholta J, Rysa J, Toth M, Ruskoaho H.
Circ Res. 2002 Sep 6;91(5):434-40.
3. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T: Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma.
Biochem Biophys Res Commun, 1993, 192, 553–560.
4. Sadoshima, J, Izumo, S: Mechanical stretch rapidly activates multiple signal transduction pathways in cardiac myocytes: potential involvement of an autocrine/paracrine mechanism. EMBO J 12: 1681-1692, 1993
5. Horkay F, Laine, M, Szokodi I, Leppäluoto, J, Vuolteenaho, O, Ruskoaho, H, Juhász-Nagy A, Tóth M: Human pericardial fluid contains the highest amount of endothelin-1 of all mammalian biologic fluids thus far tested. J Cardiovasc Pharmacol 26: S502-504, 1995
6. Tóth M, Horkay F, Laine, M, Juhász-Nagy S, Vuolteenaho, O, Leppäluoto, I, Ruskoaho, H: High levels of endothelin-1 in the pericardial fluid of cardiac patients. (Abstract) Endothelium 2 (Suppl. 22.): 1995
7. Horkay F, Szokodi I, Selmeci L, Merkely B, Kékesi V, Vecsey T, Vuolteenaho O, Ruskoaho H, Juhász-Nagy A, Tóth M: Presence of immunoreactive endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in human pericardial fluid. Life Sci 62: 267-274, 1997
8. Horkay F, Laine, M, Leppäluoto, J, Vuolteenaho, O, Ruskoaho, H, Tóth M, Juhász-Nagy A: High atrial natriuretic peptide levels in pericardial fluid of cardiac patients. International Proceedings Division, Monduzzi Editore. pp 437-441, 1994

9. Horkay F, Laine, M, Leppäluoto J, Vuolteenaho, O, Ruskoaho, H, Tóth M, Juhász-Nagy A: High atrial natriuretic peptide levels in pericardial fluid of cardiac patients. *J Mol Cell Cardiol* 26: 327, 1994
10. Horkay F, Ruskoaho H, Tóth M, Bodor E, Juhász-Nagy A: Tissue atrial natriuretic peptide levels and gene expression in cardiac surgical patients. *J Cardiovasc Surg*, 35: 61-62, 1994
11. Szokodi I, Horkay F, Selmeci L, Merkely B, Kékesi V, Vuolteenaho O, Leppäluoto J, Ruskoaho H, Juhász-Nagy A, Tóth M: Characterization and stimuli or production of pericardial fluid atrial natriuretic peptide in dogs. *Life Sci* 61: 1349-1359, 1997
12. Szokodi I, Horkay F, Kiss P, Selmeci L, Horváth I, Vuolteenaho O, Ruskoaho H, Juhász-Nagy A, Tóth M: Characterization of canine pericardial fluid endothelin-1 levels. *J Cardiovasc Pharmacol* 31: S399-S400, 1998
13. Lerman, A, Gibbons, RJ, Rodeheffer, RJ, Bailey, KR, McKinley, LJ, Heublein, DM, Burnett, Jc Jr: Circulating N-terminal atrial natriuretic peptide as a marker for symptomless left-ventricular dysfunction. *Lancet* 341: 1105-1109, 1993
14. Szokodi I, Horkay F, Merkely B, Solti F, Gellér L, Kiss P, Selmeci L, Kékesi V, Vuolteenaho O, Ruskoaho H, Juhász-Nagy A, Tóth M: Intrapericardial infusion of endothelin-1 induces ventricular arrhythmias in dogs. *Cardiovasc Res* 38: 356-364, 1998
15. Solti F, Tóth M, Merkely B, Kékesi V, Gellér L, Szokodi I, Horkay F, Juhász-Nagy A: Verapamil reduces the arrhythmogenic effect of endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 31: S386-S387, 1998
16. Nayler W: Second generation of calcium antagonists. Springer Verlag , Berlin 1991.
17. Fazekas L, Horkay F, Kékesi V, Huszár É, Barát E, Fazekas R, Szabó T, Juhász-Nagy A: Enhanced accumulation of pericardial fluid adenosine and inosine in patients with coronary artery disease. *Life Sci* 65: 1005-1012, 1999
18. Horkay F, Tóth M, Beck M, Szokodi I, Turbucz P, Szalay K.S.Z., Leppäluoto J, De Châtel R: Plasma Levels and Urinary Excretion of Ouabain Like Compound in Cardiac Surgical Patients. *Cardiovasc Surg* 7 (Suppl. 1.): 116, 1999
19. Ruskoaho H: Cardiac hormones as diagnostic tools in heart failure *Endocrine Reviews* 2003; 24(3):341-356.
20. Joung B, Park B, Kim D. S, Hong K. H, Kim D. Y, Cho Y.H, Lee S. H, Yoon Y. W, Kim H. S, Kim J. H, Kwon H. M: B-type natriuretic peptide predicts clinical presentations and ventricular overloading in patients with heart failure *Yonsei Medical Journal* 2003; 44(4):623-634.

21. Piper SN, Kumle B, Rhom KD, Suttner SW, Lang J, Blome M, Boldt J: Influence of cardiopulmonary bypass (CPB) on the natriuretic peptides ANP and BNP. A comparison between long and short duration of CPB and off pump surgery *Anesthesiol Intensivmed* 2003; 38(7):463-469.
22. Qi W, Mathisen P, Kjekshus J, Simonsen S, Bjornerheim R, Endresen K, Hall C: Natriuretic peptides in patients with aortic stenosis *Am J Heart* 2001; 142:725-732.
23. Troughton R, Frampton C, Yandle T, Espiner E, Nicholls G, Richards A: Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations *The Lancet* 2000; 355:1126-1130.
24. T. Breuer, R. Skoumal, F. Horkay, B. Merkely, M. Ala-Kopsala, J. Leppäluoto, O. Vuolteenaho, H. Ruskoaho, M. Tóth and A. Székely: Strong relationship between NT-proXNP levels and cardiac output following cardiac surgery in neonates and infants *Acta Anaesthesiologica Scandinavica* 2010; Volume 54 Issue 4, Pages 502 – 509
25. Zeiher AM, Goebel H, Schachinger V, Ihling C. Tissue endothelin-1 immunoreactivity in the active coronary atherosclerotic plaque. A clue to the mechanism of increased vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation*. 1995 Feb 15;91(4):941-7.
26. Oyama J, Shimokawa H, Morita S, Yasui H, Takeshita A. Elevated interleukin-1beta in pericardial fluid of patients with ischemic heart disease *Coron Artery Dis* 2001 Nov;12(7):567-71
27. Kohidai L., Komka Zs., Seres L., Horkay F., Toth K, Ruskoaho H, Csaba G., Effect of vasoactive peptides on Tetrahymena. chemotactic properties of endothelins (ET-1, ET-2, ET-3, fragment 11-21 of ET-1 and big endothelin-1): a short-term inducible signalling mechanism of chemotaxis.
Tervezett közlés
28. Cui P, Tani K, Kitamura H, Okumura Y, Yano M, Inui D, Tamaki T, Sone S, Kido H. *J Leukoc Biol*. 2001 Aug;70(2):306-12.
A novel bioactive 31-amino acid endothelin-1 is a potent chemotactic peptide for human neutrophils and monocytes.
29. Gábor Veres, Tamás Radovits, Leila Seres, Ferenc Horkay, Matthias Karck, Gábor Szabó: Effects of inosine on reperfusion injury after cardiopulmonary bypass
Journal of cardiothoracic surgery (közlés alatt)
Közlés alatt lévő elküldött publikáció
30. Attila Kónyi, Réka Skoumal, Anna-Maria Kubin, Gábor Füredi, Ábel Perjés, Klára Farkasfalvi, Zsolt Sárszegi, Ferenc Horkay, Iván G. Horváth, Miklós Tóth, Heikki Ruskoaho, István Szokodi: Prolactin-releasing peptide regulates cardiac contractility
Regulatory Peptides 159 (2010) 9–13

31. Skoumal R., Farkasfalvi K., Perjés Á., Scheich B., Simon N., Kubin AN., Horkay F., Tóth M., Ruskoaho H., Szokodi I.: Extracellular signal-regulated kinase mediates the inotropic effects of adrenomedullin. *Journal of molecular and cellular cardiology* (Közlés alatt)