

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM**

Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskola

**A nem-adenozin nukleozidok és a húgysav abszensz epilepsziás aktivitásra gyakorolt hatásának vizsgálata WAG/Rij patkányon**

*PhD értekezés tézisei*

**Lakatos Renáta Krisztina**

Témavezető:

**Dr. habil. Kovács Zsolt**

**Egyetemi docens**

**Pécs, 2024.**

## TARTALOMJEGYZÉK

1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE .....	2
2. BEVEZETÉS .....	3
3. CÉLKITŰZÉS.....	4
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	5
5. EREDMÉNYEK.....	6
6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS ÖSSZEFOGLALÁS.....	7
7. KITEKINTÉS.....	8
8. IRODALOMJEGYZÉK .....	9
9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK .....	12
10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	14

### 1. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A<sub>1</sub>R, A<sub>2A</sub>R, A<sub>2B</sub>R, A<sub>3</sub>R, A<sub>4</sub>R: adenzin receptor altípusok

COX: ciklooxigenáz

EEG: elektroencefalográfia, elektroencefalogram

GABA<sub>A</sub>R: „A” típusú gamma-amino-vajsav (GABA) receptor

i.p.: intraperitoneális

MK-801: (+)-5-metil-10,11-dihidro-5H-dibenzo (a,d) cikloheptén-5,10-imin maleát

SCH 58261: 7-(2-feniletíl)-5-amino-2-(2-furil)-pirazolo-[4,3-e]-1,2,4-triazolo[1,5-c]pirimidin

SWD: *spike-wave discharge* (tüske-hullám kisülés)

WAG/Rij: Wistar Albino Glaxo/Rijswijk

## 2. BEVEZETÉS

Az epilepszia betegség kezelésére rendelkezésre álló szerek nem minden esetben kellően hatékonyak. Ennek következtében a páciensek körülbelül egyharmadának rohamai nem vagy nem kellő hatékonysággal csillapíthatók abszensz epilepsziás páciensek esetében sem (Löscher és mtsai., 2011; Crunelli és mtsai., 2020; Katyayan és Diaz-Medina, 2021; Rinaldi és mtsai., 2021). Valamint az egyes antiepileptikumok akár súlyos mellékhatásokat is okozhatnak (Avoli és mtsai., 2005; Howard és mtsai., 2011; Perucca és Gilliam, 2012). Emellett bár az abszensz epilepsziás rohamok a páciensek nagy részében az életkor előrehaladtával mérséklődhetnek és akár el is tűnhetnek, másik részükben azonban súlyosabb rohamformák is megjelenhetnek (Callenbah és mtsai., 2009). Mindezek önmagukban is rávilágítanak arra, hogy további antiepilepsziás eljárások, illetve szerek kifejlesztése, valamint az epilepszia betegség patomechanizmusának még alaposabb feltárása felettébb szükséges.

Nemcsak az adenzinnak, hanem a nem-adenozin nukleozid inozinnak, guanozinnak és uridinnak is modulátoros szerepe van például az alvás és az epilepszia folyamatainak szabályozásában (Kimura és mtsai., 2001a; Porkka-Heiskanen és mtsai., 2002; Vinadé és mtsai., 2003; Boison, 2008; Beamer és mtsai., 2021; Nascimento és mtsai., 2021). Különböző nukleozid származékokat, valamint a nukleozidok metabolizmusát és felvételét gátló szereket használnak központi idegrendszeri betegségek kezelésére irányuló gyógyszerfejlesztésekben (Merighi és mtsai., 2003; Nascimento és mtsai., 2021; Guo és Li, 2022). A különböző adenzin receptor altípusok ( $A_1R$ ,  $A_{2A}R$ ,  $A_{2B}R$  és  $A_3R$ ) agonistái, illetve antagonistái epilepsziás aktivitásra gyakorolt hatása széleskörűen kutatott terület. Ugyanakkor a nem-adenozin nukleozidok és analógjaik segítségével történő endogén, antiepileptikus mechanizmusok felerősítése is ígéretes terápiás célpontnak ígérkezik a gyógyszer-rezisztens rohamok esetében. A nukleozidok többek között képesek befolyásolni a központi idegrendszeri serkentés és gátlás egyensúlyának eltolódását (Tomé és mtsai., 2010; Kovács és mtsai., 2014), módosíthatják a neuronális és asztrocitális működési zavarokat (Tomé és mtsai., 2010; Héja, 2014), továbbá valószínűleg nem vagy kisebb mértékben idézik elő a kezelés hatékonyságát csökkentő mechanizmusok intenzívebbé válását (például a multidrog rezisztencia-asszociált fehérjék fokozott expresszáldását és működét) (Löscher és mtsai., 2011). Korábbi kutatásokban az inozin (Skolnick és mtsai., 1979; Lewin és Bleck, 1983, 1985; Ganzella és mtsai., 2011), a guanozin (Schmidt és mtsai., 2000, 2007; Vinadé és mtsai., 2003) és az uridin (Connolly és Duley, 1999; Zhao és mtsai., 2006, 2008; Al-Otaibi és mtsai., 2021) is hatékonyan csillapította a rohamaktivitást különböző epilepszia modellekben. Emellett ezen nem-adenozin nukleozidok

mindegyike jól tolerálható, alacsony toxicitást mutató szernek bizonyult (Kimura és mtsai., 2001a, 2001b; Kovács és Dobolyi, 2013; Wang és mtsai., 2018; Al-Otaibi és mtsai., 2021). Azonban a nem-adenozin nukleozidok abszensz epilepsziás rohamaktivitásra gyakorolt hatásáról, illetve az ezzel kapcsolatos lehetséges hatásmechanizmusokról kevés kutatási adat érhető el. A purin nukleozid metabolit húgysavnak is szerepe van számos fiziológias és patofiziológias folyamatban. A húgysavszint modulációját többféle betegség kezelése esetén is sikerrel alkalmazzák (Togha és mtsai., 2007; Kutzing és Firestein, 2008), de az epilepsziás rohamaktivitásra gyakorolt hatásáról keveset tudunk. Például a húgysavszint emelkedése elősegítheti a rohamok kialakulását (Thyrion és mtsai., 2016), míg a húgysav-koncentráció csökkentése görcsoldó-antiepileptikus hatású (Togha és mtsai., 2007). Mindemellett a húgysav abszensz epilepsziás aktivitásra gyakorolt hatása nem ismert.

Mivel a nem-adenozin nukleozidok alkalmazása és a húgysavszint modulációja a korábbi kutatások során többféle rohammodell esetén is hatásosnak és biztonságosnak bizonyult, ezért feltételezhető volt az abszensz epilepsziás rohamaktivitásra gyakorolt jótékony hatásuk is.

### 3. CÉLKITŰZÉS

A célkitűzések a három kísérletcsoportban az alábbiak voltak.

- **Első kísérletcsoport:**

Az intraperitoneális (i.p.) injekcióban alkalmazott inozin, guanozin, és uridin befolyásolja-e az abszensz epilepsziás rohamaktivitást Wistar Albino Glaxo/Rijswijk (WAG/Rij) patkányokban?

- **Második kísérletcsoport:**

A guanozinnak az első kísérletsorozatban alkalmazottnál magasabb dózisa hatékonyabban csillapítja-e az abszensz epilepsziás rohamaktivitást WAG/Rij patkányokban, mint az alacsonyabb dózisek, és e hatást az  $A_{2A}R$ -ok módosítják-e?

- **Harmadik kísérletcsoport:**

A húgysav és az allopurinol képes-e modulálni az abszensz epilepsziás rohamaktivitást WAG/Rij patkányokban?

#### 4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A három csoportra tagolt kísérleteink során az abszensz epilepszia egyik jól ismert modellállatába – azaz WAG/Rij, hím patkányokba (Coenen és Van Luijtelaa, 2003) – EEG elektródákat ültettünk be (életkor: 9-10 hónap; n=230; testtömeg: 270-360 gramm). A kezelések és a műtétek során az ide vonatkozó nemzetközi és hazai szabályozásnak, illetve projektengedélyeinknek megfelelően jártunk el (a projektengedélyek száma: 00332/0004/2011, VA/ÉBNTF02/85-8/2016). Az elektroencefalogram (EEG) elvezetéséhez csavarelektrodákat ültettünk a kísérleti állatok koponyájába a cortex különböző területei, például a motoros cortex és a szomatoszenzoros cortex fölé. Az EEG regisztrátumok rögzítése szabadon mozgó állatokból történt meg. Az egyes kísérletsorozatokban az EEG regisztrálásához EEG készüléket (*NIHON-KOHDEN*, Japán) vagy biológiai erősítőt (Supertech Ltd., Bioamp 4, Pécs, Magyarország) csatlakoztattunk az A/D konverterhez (CED 1401 mkII, Cambridge Electronic Design Ltd., UK; mintavételi frekvencia: 500 Hz; sávszűrők beállítása: 0,3 Hz - 150 Hz). Az EEG felvételeket a manuális kiértékelés során 60 perces szakaszokra osztottuk. A túske-hullám kisüléseket (*spike-wave discharges*: SWDs) – amik aszimmetrikus túskek és hullámok sorozatai, éles kezdő és lezáró „túskevel”, átlag amplitúdójuk legalább kétszerese az alap EEG aktivitásnak, és frekvenciájuk 7-11 Hz – *Fast Fourier Transform* (FFT) analízis, illetve a Spike2 szoftver segítségével elemeztük. Az adatok értékeléséhez kétszemponos varianciaanalízist (*Two-Way Repeated Measures Analysis of Variance/ANOVA*), majd Bonferroni-féle post hoc tesztet végeztük el. Az EEG regisztrátumok segítségével az i.p. injekcióban (önállóan vagy kombináltan) alkalmazott szereknek főként az SWD-k számára és időtartamára kifejtett hatását vizsgáltuk meg az injekciók beadása utáni 30. és 270. perc között.

Az **első kísérletcsoportban** az inozin (i.p. 500 mg/kg és 1000 mg/kg), a guanozin (i.p. 20 mg/kg és 50 mg/kg) és az uridin (i.p. 500 mg/kg és 1000 mg/kg), továbbá az „A” típusú gamma-amino-vajsav (GABA) receptor ( $GABA_A$ ) agonista muszcimol (i.p. 1 mg/kg és 3 mg/kg), a  $GABA_A$  antagonistá bikukullin (i.p. 2 mg/kg és 4 mg/kg), a nem-szelektív adenozin receptor antagonistá teofillin (i.p. 5 mg/kg és 10 mg/kg) és a nem-kompetitív N-metil-D-aszparaginsav (NMDA) receptor antagonistá (+)-5-metil-10,11-dihidro-5H-dibenzo (a,d) cikloheptén-5,10-imin maleát (MK-801; i.p. 0,0625 mg/kg és 0,1250 mg/kg) önmagában történő alkalmazásának abszensz epilepsziás rohamaktivitásra (SWD-kre) gyakorolt hatását derítettük fel. Továbbá megvizsgáltuk az inozin, a guanozin és az uridin muszcimollal,

bikukullinnal, teofillinnel és MK-801-gyel történő kombinált alkalmazásának abszensz epilepsziás rohamaktivitásra gyakorolt hatását is.

A **második kísérletcsoportban** először a guanozin (i.p. 50 mg/kg és 100 mg/kg) önmagában történő alkalmazásának SWD-kre gyakorolt hatását vizsgáltuk meg. A továbbiakban a teofillint (i.p. 5 mg/kg) önmagában, valamint a guanozin különböző dózisaival (i.p. 50 mg/kg és 100 mg/kg) kombináltan is alkalmaztunk. A továbbiakban vizsgáltuk még a szelektív A<sub>2A</sub>R antagonistá 7-(2-feniletil)-5-amino-2-(2-furil)-pirazolo-[4,3-e]-1,2,4-triazolo[1,5-c]pirimidin (SCH 58261; i.p. 1 mg/kg), valamint a ciklooxygenáz-1 és 2 (COX-1 és COX-2) inhibitor indometacin (i.p. 10 mg/kg) által kiváltott SWD-kre gyakorolt hatást önmagukban, valamint a guanozinnal (i.p. 50 mg/kg és 100 mg/kg) kombináltan alkalmazva is.

A **harmadik kísérletcsoportban** a húgysavat (i.p. 100 mg/kg és 200 mg/kg), a xantin-oxidáz gátló allopurinolt (i.p. 50 mg/kg és 100 mg/kg), az indometacint (i.p. 10 mg/kg) és az inozint (i.p. 500 mg/kg) önmagában alkalmazva vizsgáltuk meg e szerek SWD-kre gyakorolt hatását. Valamint vizsgáltuk az allopurinol (i.p. 50 mg/kg) és a húgysav (i.p. 100 mg/kg), az allopurinol (i.p. 50 mg/kg) és az inozin (i.p. 500 mg/kg), az indometacin (i.p. 10 mg/kg) és a húgysav (i.p. 100 mg/kg), valamint az inozin (i.p. 500 mg/kg) és a húgysav (i.p. 100 mg/kg) kombinált alkalmazásának rohamaktivitásra gyakorolt hatását is.

## 5. EREDMÉNYEK

Az **első kísérletcsoportban** kimutattuk, hogy az i.p. alkalmazott uridin (500 és 1000 mg/kg) és guanozin (20 és 50 mg/kg) is dóziszfüggő módon, szignifikánsan csökkentette, míg az inozin (500 és 1000 mg/kg) fokozta az SWD-k számát és összesített időtartamát. Az önmagában i.p. alkalmazott musz cimol (1 mg/kg és 3 mg/kg) szignifikánsan növelte, míg a bikukullin (2 mg/kg és 4 mg/kg) és a teofillin (5 mg/kg és 10 mg/kg) szignifikánsan csökkentette az SWD számot. Az MK-801 két dózisének (i.p. 0,0625 mg/kg és 0,1250 mg/kg) önmagában történő alkalmazása dóziszfüggő módon és szignifikánsan csökkentette az SWD számot. A nukleozidok (inozin, guanozin, uridin) más szerekkel (muscimol, bikukullin, teofillin, MK-801) történő kombinált alkalmazása szignifikáns növekedést (muscimol + inozin, bikukullin + inozin, teofillin + inozin, muscimol + uridin) vagy csökkenést (guanozin + MK-801, teofillin + guanozin, teofillin + uridin, bikukullin + uridin) idézett elő az SWD számban a kontroll SWD számmal összehasonlítva. Ugyanakkor a musz cimol inozinnal történő kombinált alkalmazása megemelte az SWD-k számát az önállóan alkalmazott inozin hatásához

képest. Ehhez hasonlóan SWD szám fokozódást tapasztaltunk a musz cimol és az uridin kombinált alkalmazását követően az uridin önálló beviteléhez képest.

A **második kísérletcsoportban** kimutattuk, hogy a guanozin magasabb dózisa (i.p. 100 mg/kg) az alacsonyabb guanozin dózissal ellentétben megnövelte az SWD számot. A teofillin (i.p. 5 mg/kg), az indometacin (i.p. 10 mg/kg) és az SCH 58261 (i.p. 1 mg/kg) önmagában alkalmazva szignifikánsan csökkentette az SWD számot a kontroll értékekkel összehasonlítva. A különböző szerek kombinált alkalmazása szignifikánsan csökkentette az SWD számot (i.p. 5 mg/kg teofillin + 50 mg/kg guanozin: a kontrollhoz képest; i.p. 5 mg/kg teofillin + 100 mg/kg guanozin: a guanozin önmagában történő beviteléhez képest; i.p. 1 mg/kg SCH 58261 + 100 mg/kg guanozin és i.p. 10 mg/kg indometacin + 100 mg/kg guanozin: a kontrollhoz és a guanozin önmagában történő beviteléhez képest is).

A **harmadik kísérletsorozatban** igazoltuk, hogy az i.p. bevitt húgysav (100 mg/kg és 200 mg/kg), illetve allopurinol (50 mg/kg és 100 mg/kg) szignifikánsan és dóziszfüggő módon növelte meg az SWD számot. Az allopurinol (i.p. 50 mg/kg) és a húgysav (i.p. 100 mg/kg) kombinált alkalmazása szignifikánsan növelte az SWD számot a kontroll értékekkel és az allopurinol önmagában történő alkalmazásának hatásával összehasonlítva. Az allopurinol (i.p. 50 mg/kg) és az inozin (i.p. 500 mg/kg) kombinált alkalmazása szignifikánsan növelte meg az SWD számot a kontroll értékekkel, valamint az allopurinol és az inozin önmagában történő bevitelének hatásával összehasonlítva is. Az indometacin (i.p. 10 mg/kg) és a húgysav (i.p. 100 mg/kg) kombinált alkalmazása szignifikánsan csökkentette az SWD számot a húgysav önmagában történő alkalmazásának hatásával összehasonlítva. Ugyanakkor az inozin és a húgysav együttes bevitele a kontrollhoz és az önállóan alkalmazott inozin és húgysav hatásához képest is SWD szám növekedést váltott ki.

## 6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS ÖSSZEFOGLALÁS

Az irodalmi adatok, valamint az általunk vizsgált anyagoknak önmagukban és más szerekkel kombináltan történő i.p. bevitele után kapott eredményeink alapján feltételezhetjük, hogy az SWD számra és időtartamra kifejtett hatás (i) az inozin esetében főként az A<sub>2A</sub>R-ok és/vagy a GABA<sub>A</sub>R-ok stimulációján (Skolnick és mtsai., 1979; Haskó és mtsai., 2004), (ii) a guanozinnál – az alacsonyabb dózissal bevitelét követően – feltehetően a guanozin saját receptorán (Johansson és Fredholm, 1995; Traversa és mtsai., 2003; Di Iorio és mtsai., 2004; Volpini és mtsai., 2011) és/vagy az A<sub>1</sub>R-okon (Ciruela és mtsai., 2006; Kovács és mtsai., 2017;

Brunner és mtsai., 2021a), míg a magasabb guanozin dózis esetén az A<sub>2A</sub>R-okon (Cunha, 2005; Ciruela és mtsai., 2006; Cunha és mtsai., 2008; Ferre és mtsai., 2008), (iii) az uridin tekintetében pedig szintén annak saját receptorán (Guarneri és mtsai., 1985; Kimura és mtsai., 2001a, 2001b; Kovács és mtsai., 2013) és az A<sub>1</sub>R-okon keresztül valósulhatott meg (Brunner és mtsai., 2021b). Ugyanakkor, a húgysav valószínűleg az interleukin-1 receptor (IL-1R)/COX-2/prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) rendszeren (Kovács és mtsai., 2006; Van Luijteleaar és mtsai., 2012; Russo és mtsai., 2013, 2014; Citraro és mtsai., 2015), illetve az A<sub>2A</sub>R-okon keresztül (Dixon és Thurlow, 1924; Barber és Siegel, 1982; Tan és mtsai., 1993) fejthette ki SWD számot növelő hatását.

Eredményeink egyben arra is utalnak, hogy a vizsgált nem-adenozin nukleozidok közül az uridin alkalmazása ígéretes lehet az abszensz epilepszia (kiegészítő) kezelésében. A guanozin SWD-kre kifejtett hatása kapcsán további vizsgálatokra van szükség annak eldöntésére, hogy e nem-adenozin nukleozid legalábbis elméletileg felhasználható-e az abszensz epilepszia kezelésére. Kísérleteink arra is rávilágítanak, hogy a purin nukleozidok metabolizmusának a fokozott guanozin- és/vagy inozin-, adenozin-, illetve húgysavszintek felé történő elmozdítása, illetve az allopurinol terápiás alkalmazása az abszensz epilepsziában szenvedő páciensek esetében elméletileg fokozhatja az abszensz epilepsziás aktivitást. Ugyanakkor eredményeinket modellállatokon – WAG/Rij patkányokon – kaptuk, amely eredményekből származó következtetéseknek a humán abszensz epilepszia betegségekre történő vonatkoztatása (transzlálhatósága) egyelőre természetesen kétséges.

## 7. KITEKINTÉS

A fentiek eredmények és következtetések kapcsán (i) a nem-adenozin nukleozidok szintjének modulálásával, valamint ennek az SWD-kre kifejtett hatásával kapcsolatos eredményeink más modelleken való megerősítésére, (ii) az alkalmazott kezeléseink hatására feltételezhetően bekövetkező agyi nukleozidszintek megváltozásának igazolására, (iii) az egyes nukleozidok és metabolitjaik pontos hatásmechanizmusának, valamint (iv) antiepileptikumként történő alkalmazhatóságának vizsgálatára további kísérletekre van szükség. Így, például, a hatásmechanizmus felderítése a nem-adenozin nukleozidok és az adenozin receptor, illetve GABA<sub>A</sub>R inhibitorok lokális alkalmazásával, valamint a kiváltott jelátviteli folyamatokban bekövetkező változások vizsgálatával elengedhetetlen.



## 8. IRODALOMJEGYZÉK

- Al-Otaibi, A.; AlAayed, A.; Al Madhi, A.; Saeed, L.; Ng G.B.; Freeze H.H.; Almannai, M. Uridine monophosphate (UMP)-responsive developmental and epileptic encephalopathy: A case report of two siblings and a review of literature. *Mol. Genet. Metab. Rep.*, 2021, 30:100835. doi: 10.1016/j.ymgmr.2021.100835
- Avoli, M.; Louvel, J.; Pumain, R.; Köhling, R. Cellular and molecular mechanisms of epilepsy in the human brain. *Prog. Neurobiol.*, 2005, 77, 166-200. doi: 10.1016/j.pneurobio.2005.09.006.
- Barber, M.J.; Siegel, L.M. Oxidation-reduction potentials of molybdenum, flavin, and iron-sulfur centers in milk xanthine oxidase: variation with pH. *Biochemistry*, 1982, 21, 1638-1647. doi: 10.1021/bi00536a026.
- Beamer, E.; Kuchukulla, M.; Boison, D.; Engel, T. ATP and adenosine - Two players in the control of seizures and epilepsy development. *Prog. Neurobiol.*, 2021, 204:102105. doi: 10.1016/j.pneurobio.2021.102105.
- Boison, D. Adenosine as a neuromodulator in neurological diseases. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2008, 8, 2-7. doi: 10.1016/j.coph.2007.09.002.
- Brunner, B.; Ari, C.; D'Agostino, D.P.; Kovács, Z. Adenosine Receptors Modulate the Exogenous Ketogenic Supplement-Evoked Alleviating Effect on Lipopolysaccharide-Generated Increase in Absence Epileptic Activity in WAG/Rij Rats. *Nutrients*, 2021a, 13:4082. doi: 10.3390/nu13114082.
- Brunner, B.; Rauch, E.; Ari, C.; D'Agostino, D.P.; Kovács, Z. Enhancement of Ketone Supplements-Evoked Effect on Absence Epileptic Activity by Co-Administration of Uridine in Wistar Albino Glaxo Rijswijk Rats. *Nutrients*, 2021b, 13:234. doi: 10.3390/nu13010234.
- Callenbach, P.M.; Bouma, P.A.; Geerts, A.T.; Arts, W.F.; Stroink, H.; Peeters, E.A.; van Donselaar, C.A.; Peters, A.C.; Brouwer, O.F. Long-term outcome of childhood absence epilepsy: Dutch Study of Epilepsy in Childhood. *Epilepsy Res.*, 2009, 83, 249-256. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2008.11.011.
- Ciruela, F.; Casadó, V.; Rodrigues, R.J.; Luján, R.; Burgueño, J.; Canals, M.; Borycz, J.; Rebola, N.; Goldberg, S.R.; Mallo, J.; Cortés, A.; Canela, E.I.; López-Giménez, J.F.; Milligan, G.; Lluís, C.; Cunha, R.A.; Ferré, S.; Franco, R. Presynaptic control of striatal glutamatergic neurotransmission by adenosine A1-A2A receptor heteromers. *J. Neurosci.*, 2006, 26, 2080-2087. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3574-05.2006.
- Citraro, R.; Leo, A.; Marra, R.; De Sarro, G.; Russo, E. Antiepileptogenic effects of the selective COX-2 inhibitor etoricoxib, on the development of spontaneous absence seizures in WAG/Rij rats. *Brain Res. Bull.*, 2015, 113, 1-7. doi: 10.1016/j.brainresbull.2015.02.004.
- Coenen, A.M.; Van Luijckelaar, E.L. Genetic animal models for absence epilepsy: a review of the WAG/Rij strain of rats. *Behav. Genet.*, 2003, 33, 635-655. doi: 10.1023/a:1026179013847.
- Connolly, G.P.; Duley, J.A. Uridine and its nucleotides: biological actions, therapeutic potentials. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1999, 20, 218-225. doi: 10.1023/a:1026179013847.
- Crunelli, V.; Lőrincz, M.L.; McCafferty, C.; Lambert R.C.; Leresche, N.; Di Giovanni, G.; David, F. Clinical and experimental insight into pathophysiology, comorbidity and therapy of absence seizures. *Brain*, 2020, 143, 2341-2368. doi: 10.1093/brain/awaa072.
- Cunha, R.A. Neuroprotection by adenosine in the brain: From A(1) receptor activation to A(2A) receptor blockade. *Purinergic Signal.*, 2005, 1, 111-134. doi: 10.1007/s11302-005-0649-1.
- Cunha, R.A.; Ferré, S.; Vaugeois, J.M.; Chen, J.F. Potential therapeutic interest of adenosine A2A receptors in psychiatric disorders. *Curr. Pharm. Des.*, 2008, 14, 1512-1524. doi: 10.2174/138161208784480090

- Di Iorio, P.; Ballerini, P.; Traversa, U.; Nicoletti, F.; D'Alimonte, I.; Kleywegt, S.; Werstiuk, E.S.; Rathbone, M.P.; Caciagli, F.; Ciccarelli, R. The antiapoptotic effect of guanosine is mediated by the activation of the PI 3-kinase/AKT/PKB pathway in cultured rat astrocytes. *Glia*, 2004, 46, 356-368. doi: 10.1002/glia.20002.
- Dixon, M.; Thurlow, S. Studies on xanthine oxidase: the dynamics of the oxidase system. *Biochem. J.*, 1924, 18, 976-988. doi: 10.1042/bj0180976.
- Ferre, S.; Ciruela, F.; Borycz, J.; Solinas, M.; Quarta, D.; Antoniou, K.; Quiroz, C.; Justinova, Z.; Lluís, C.; Franco, R.; Goldberg, S.R. Adenosine A1-A2A receptor heteromers: new targets for caffeine in the brain. *Front. Biosci.*, 2008, 13:2391-9. doi: 10.2741/2852.
- Ganzella, M.; Faraco, R.B.; Almeida, R.F.; Fernandes, V.F.; Souza, D.O. Intracerebroventricular administration of inosine is anticonvulsant against quinolinic acid-induced seizures in mice: an effect independent of benzodiazepine and adenosine receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2011, 100, 271-274. doi: 10.1016/j.pbb.2011.09.001.
- Guarneri, P.; Guarneri, R.; La Bella, V.; Piccoli, F. Interaction between uridine and GABA-mediated inhibitory transmission: studies in vivo and in vitro. *Epilepsia*, 1985, 26, 666-671. doi: 10.1111/j.1528-1157.1985.tb05709.x.
- Guo, M.; Li, T. Adenosine dysfunction in epilepsy and associated comorbidities. *Curr. Drug Targets*, 2022, 23, 344-357. doi: 10.2174/1389450122666210928145258.
- Haskó, G.; Sitkovsky, M.V.; Szabó, Cs. Immunomodulatory and neuroprotective effects of inosine. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2004, 25, 152-157. doi: 10.1016/j.tips.2004.01.006.
- Héja, L. Astrocytic target mechanisms in epilepsy. *Curr. Med. Chem.*, 2014, 21, 755-763. doi: 10.2174/0929867320666131119160445.
- Howard, P.; Twycross, R.; Shuster, J.; Mihalyo, M.; Rémi, J.; Wilcock, A. Anti-epileptic drugs. *J. Pain Symptom Manage.*, 2011, 42, 788-804. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2011.10.007.
- Johansson, B.; Fredholm, B.B. Further characterization of the binding of the adenosine receptor agonist [3H]CGS 21680 to rat brain using autoradiography. *Neuropharmacology*, 1995, 34, 393-403. doi: 10.1016/0028-3908(95)00009-u.
- Katyayan, A.; Diaz-Medina, G. Epilepsy: epileptic syndromes and treatment. *Neurol. Clin.*, 2021, 39, 779-795. doi: 10.1016/j.ncl.2021.04.002.
- Kimura, T.; Ho, I.K.; Yamamoto, I. Uridine receptor: discovery and its involvement in sleep mechanism. *Sleep*, 2001a, 24, 251-260. doi: 10.1093/sleep/24.3.251.
- Kimura, T.; Miki, M.; Ikeda, M.; Yonemoto, S.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I.K.; Yamamoto, I. Possible existence of a novel receptor for uridine analogues in the central nervous system using two isomers, N3-(S)-(+) and N3-(R)-(-)-alpha-hydroxy-beta-phenethyluridines. *Biol. Pharm. Bull.*, 2001b, 24, 729-731. doi: 10.1248/bpb.24.729.
- Kovács, Z.; Kékesi, K.A.; Szilágyi, N.; Ábrahám, I.; Székács, D.; Király, N.; Papp, E.; Császár, I.; Szegő, É.; Barabás, K.; Péterfy, H.; Erdei, A.; Bártfai, T.; Juhász, G. Facilitation of spike-wave discharge activity by lipopolysaccharides in Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats. *Neuroscience*, 2006, 140, 731-742. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.02.023.
- Kovács, Z.; Slézia, A.; Bali, Z.K.; Kovács, P.; Dobolyi, A.; Szikra, T.; Hernádi, I.; Juhász, G. Uridine modulates neuronal activity and inhibits spike-wave discharges of absence epileptic Long Evans and Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats. *Brain Res. Bull.*, 2013, 97, 16-23. doi: 10.1016/j.brainresbull.2013.05.009.
- Kovács, Z.; Dobolyi, A. Anatomical distribution of nucleoside system in the human brain and implications for therapy. In: Adenosine: a key link between metabolism and brain activity; Masino, S.A.; Boison, D., Eds.; Springer Science, Business Media: New York, 2013; 621-656.
- Kovács, Z.; Kékesi, A.K.; Juhász, G.; Dobolyi, A. The antiepileptic potential of nucleosides. *Curr. Med. Chem.*, 2014, 21, 788-821. doi: 10.2174/1381612819666131119154505.

- Kovács, Z.; D'Agostino, D.P.; Dobolyi, A.; Ari, C. Adenosine A1 Receptor Antagonism Abolished the Anti-seizure Effects of Exogenous Ketone Supplementation in Wistar Albino Glaxo Rijswijk Rats. *Front. Mol. Neurosci.*, 2017, 10:235. doi: 10.3389/fnmol.2017.00235.
- Kutzing, M.K.; Firestein, B.L. Altered uric acid levels and disease states. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2008, 324, 1-7. doi: 10.1124/jpet.107.129031.
- Lewin, E.; Bleck, V. Electroshock raises pentylenetetrazol threshold: possible role of inosine. *Life Sci.*, 1983, 32, 433-436. doi: 10.1016/0024-3205(83)90135-2.
- Lewin, E.; Bleck, V. Effect of inosine on seizures induced with pentylenetetrazole, bicuculline, or picrotoxin. *Epilepsia*, 1985, 26, 258-261. doi: 10.1111/j.1528-1157.1985.tb05415.x.
- Löscher, W.; Luna-Tortós, C.; Römermann, K.; Fedrowitz, M. Do ATP-binding cassette transporters cause pharmacoresistance in epilepsy? Problems and approaches in determining which antiepileptic drugs are affected. *Curr. Pharm. Des.*, 2011, 17, 2808-2828. doi: 10.2174/138161211797440212.
- Merighi, S.; Mirandola, P.; Varani, K.; Gessi, S.; Leung, E.; Baraldi, P.G.; Tabrizi, M.A.; Borea, P.A. A glance at adenosine receptors: novel target for antitumor therapy. *Pharmacol. Ther.*, 2003, 100, 31-48. doi: 10.1016/s0163-7258(03)00084-6.
- Nascimento, F.P.; Macedo-Júnior, S.J.; Lapa-Costa, F.R.; Cezar-Dos-Santos, F.; Santos, A.R.S. Inosine as a tool to understand and treat central nervous system disorders: A neglected actor? *Front. Neurosci.*, 2021, 24:15:703783. doi: 10.3389/fnins.2021.703783.
- Perucca, P.; Gilliam, F.G. Adverse effects of antiepileptic drugs. *Lancet Neurol.*, 2012, 11, 792-802. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70153-9.
- Porkka-Heiskanen, T.; Alanko, L.; Kalinchuk, A.; Stenberg, D. Adenosine and sleep. *Sleep Med. Rev.*, 2002, 6, 321-332. doi: 10.1053/smr.2001.0201. doi: 10.1053/smr.2001.0201.
- Rinaldi, V.E.; Di Cara, G.; Mencaroni, E.; Verrotti, A. Therapeutic options for childhood absence epilepsy. *Pediatr. Rep.*, 2021, 13, 658-667. doi: 10.3390/pediatric13040078.
- Russo, E.; Citraro, R.; Donato, G.; Camastra, C.; Iuliano, R.; Cuzzocrea, S.; Constanti, A.; De Sarro, G. mTOR inhibition modulates epileptogenesis, seizures and depressive behavior in a genetic rat model of absence epilepsy. *Neuropharmacology*, 2013, 69, 25-36. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.09.019
- Russo, E.; Andreozzi, F.; Iuliano, R.; Dattilo, V.; Procopio, T.; Fiume, G.; Mimmi, S.; Perrotti, N.; Citraro, R.; Sesti, G.; Constanti, A.; De Sarro, G. Early molecular and behavioral response to lipopolysaccharide in the WAG/Rij rat model of absence epilepsy and depressive-like behavior, involves interplay between AMPK, AKT/mTOR pathways and neuroinflammatory cytokine release. *Brain Behav. Immun.*, 2014, 42, 157-168. doi: 10.1016/j.bbi.2014.06.016.
- Schmidt, A.P.; Lara, D.R.; De Faria Maraschin, J.; Da Silveira Perla, A.; Onofre Souza, D. Guanosine and GMP prevent seizures induced by quinolinic acid in mice. *Brain Res.*, 2000, 864, 40-43. doi: 10.1016/s0006-8993(00)02106-5.
- Schmidt, A.P.; Lara, D.R.; Souza, D.O. Proposal of a guanine based purinergic system in the mammalian central nervous system. *Pharmacol. Ther.*, 2007, 116, 401-416. doi: 10.1016/j.pharmthera.2007.07.004.
- Skolnick, P.; Syapin, P.J.; Paugh, B.A.; Moncada, V.; Marangos, P.J.; Paul, S.M. Inosine, an endogenous ligand of the brain benzodiazepine receptor, antagonizes pentylenetetrazole-evoked seizures. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1979, 76, 1515-1518. doi: 10.1073/pnas.76.3.1515.
- Tan, S.; Radi, R.; Gaudier, F.; Evans, R.A.; Rivera, A.; Kirk, K.A.; Parks, D.A. Physiologic levels of uric acid inhibit xanthine oxidase in human plasma. *Pediatr. Res.*, 1993, 34, 303-307. doi: 10.1203/00006450-199309000-00013.

- Thyron, L.; Raedt, R.; Portelli, J.; Van Loo, P.; Wadman, W.J.; Glorieux, G.; Lambrecht, B.N.; Janssens, S.; Vonck, K.; Boon, P. Uric acid is released in the brain during seizure activity and increases severity of seizures in a mouse model for acute limbic seizures. *Exp. Neurol.*, 2016, 277, 244-251. doi: 10.1016/j.expneurol.2016.01.001.
- Togha, M.; Akhondzadeh, S.; Motamedi, M.; Ahmadi, B.; Razeghi, S. Allopurinol as adjunctive therapy in intractable epilepsy: a double-blind and placebo-controlled trial. *Arch. Med. Res.*, 2007, 38, 313-316. doi: 10.1016/j.arcmed.2006.10.010.
- Tomé, A.R.; Silva, H.; Cunha, R.A. Role of the purinergic neuromodulation system in epilepsy. *Open Neurosci. J.*, 2010, 4, 64-83. doi: 10.2174/1874082001004010064
- Traversa, U.; Bombi, G.; Camaioni, E.; Macchiarulo, A.; Costantino, G.; Palmieri, C.; Caciagli, F.; Pellicciari, R. Rat brain guanosine binding site. Biological studies and pseudo-receptor construction. *Bioorg. Med. Chem.*, 2003, 11, 5417-5425. doi: 10.1016/j.bmc.2003.09.043.
- Van Luijtelaar, G.; Lyashenko, S.; Vastyanov, R.; Verbeek, G.; Oleinik, A.; Van Rijn, C.; Volokhova, G.; Shandra, A.; Coenen, A.; Godlevsky, L. Cytokines and absence seizures in a genetic rat model. *Neurophysiology*, 2012, 43, 478-486. doi: 10.1007/s11062-012-9252-6
- Vinadé, E.R.; Schmidt, A.P.; Frizzo, M.E.; Izquierdo, I.; Elisabetsky, E.; Souza, D.O. Chronically administered guanosine is anticonvulsant, amnesic and anxiolytic in mice. *Brain Res.*, 2003, 977, 97-102. doi: 10.1016/s0006-8993(03)02769-0.
- Volpini, R.; Marucci, G.; Buccioni, M.; Dal Ben, D.; Lambertucci, C.; Lammi, C.; Mishra, R.C.; Thomas, A.; Cristalli, G. Evidence for the existence of a specific g protein-coupled receptor activated by guanosine. *Chem. Med. Chem.*, 2011, 6, 1074-1080. doi: 10.1002/cmcd.201100100.
- Wang, T.; Zhou, X.; Bai, Y.; Zhang, L.; Li, L.; Wu, C. Antiepileptic effect of uridine may be caused by regulating dopamine release and receptor expression in corpus striatum, *Brain Res.*, 2018, 1688, 47-53. doi: 10.1016/j.brainres.2018.03.011.
- Zhao, Q.; Marolewski, A.; Rusche, J.R.; Holmes, G.L. Effects of uridine in models of epileptogenesis and seizures. *Epilepsy Res.*, 2006, 70, 73-82. doi: 10.1016/j.epilepsyres.2006.03.003
- Zhao, Q.; Shatskikh, T.; Marolewski, A.; Rusche, J.R.; Holmes, G.L. Effects of uridine on kindling. *Epilepsy Behav.*, 2008, 13, 47-51. doi: 10.1016/j.yebeh.2008.02.002.

## 9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK

### Tudományometriai adatok:

- MTMT azonosító: 10071510
- Lektorált folyóiratban megjelent tudományos folyóiratcikkek száma: 6
- Összesített impakt faktor: 18,614
- Idézetek száma: 74 (független: 47)

### Az értekezés alapjául szolgáló saját publikációk

1. Kovács, Z.; Kékesi, K.A.; Dobolyi, Á.; **Lakatos, R.**; Juhász, G. Absence epileptic activity changing effects of non-adenosine nucleoside inosine, guanosine and uridine in Wistar Albino

Glaxo Rijswijk rats. Neuroscience, 2015, 300, 593–608. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.05.054. (Q2, IF 3,231; független idézet: 17)

2. **Lakatos, R.K.**, Dobolyi, Á., Todorov, M.I., Kékesi, K.A., Juhász, G., Aleksza, M., Kovács, Z. Guanosine may increase absence epileptic activity by means of A2A adenosine receptors in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rats. Brain Res. Bull., 2016, 124, 172-181. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.05.001 (Q2, IF 3,033; független idézet: 6)

3. **Lakatos, R.K.**; Dobolyi, Á.; Kovács, Z. Uric acid and allopurinol aggravate absence epileptic activity in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rats. Brain Res., 2018, 1686, 1-9. doi: 10.1016/j.brainres.2018.02.012. (Q1; IF 2,929; független idézet: 4)

#### **Az értekezés témájához kapcsolódó, abban felhasznált további saját publikációk**

1. Kovács, Z.; Kékesi, K.A.; Juhász, G.; Barna, J.; Héja, L.; **Lakatos, R.**; Dobolyi, Á. Non-adenosine Nucleoside Inosine, Guanosine and Uridine as Promising Antiepileptic Drugs: a Summary of Current Literature. Mini-Rev. Med. Chem., 2014, 14(13), 1033-1042. doi: 10.2174/1389557514666141107120226. (Q2, IF: 2,841; független idézet: 17)

2. Kovács, Z.; Kardos, J.; Kékesi, K.A.; Juhász, G.; **Lakatos, R.**; Héja, L. Effects of Nucleosides on Glia - Neuron Interactions Open up New Vistas in the Development of More Effective Antiepileptic Drugs. Curr, Med, Chem., 2015, 22(12), 1500-1514. doi: 10.2174/0929867322666150212153210. (Q2, IF: 3,455; független idézet: 1)

3. Kovács, Z.; **Lakatos, R.K.**; Barna, J.; Dobolyi, Á. Absence epileptic activity in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rat mothers. Brain Res., 2017, 1657, 368-376. doi: 10.1016/j.brainres.2017.01.005 (Q1, IF 3,125; független idézet: 2)

#### **Az értekezés témájához kapcsolódó prezentációk**

##### **Poszterek**

1. **Renáta Krisztina Lakatos**, Árpád Dobolyi, Katalin A. Kékesi, Magdolna Aleksza, Zsolt Kovács: Guanosine may increase absence epileptic activity in Wistar Albino Glaxo Rijswijk rats. [https://pcongress.hu/pdf/lakatos\\_68\\_110.pdf](https://pcongress.hu/pdf/lakatos_68_110.pdf) In Program Booklet of FENS Regional Meeting. Pécs, 2017. szeptember 20-23.

<http://fensfrm.hu/uploads/docs/1/fens2017booklet.pdf> 2016

2. **Renáta Lakatos**, Árpád Dobolyi, Katalin A. Kékesi, Gábor Juhász, Zsolt Kovács: Inosine, guanosine and uridine modulate the lipopolysaccharide-evoked changes in spike-wave

discharge activity in Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats. IBRO Workshop Budapest. Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, 2016. január 21-22.

[http://www.ibro2016.hu/images/downloads/IBRO\\_poster\\_sessions.pdf](http://www.ibro2016.hu/images/downloads/IBRO_poster_sessions.pdf) 2015

3. Zsolt Kovács, Katalin A. Kékesi, Árpád Dobolyi, **Renáta Lakatos**, Gábor Juhász: Inosine, guanosine and uridine change the absence epileptic activity in Wistar Albino Glaxo/Rijswijk rats. XV. Biannual Conference of the Hungarian Neuroscience Society. Magyar Tudományos Akadémia, Budapest, 2015. január 22-23.

[http://www.mitt2015.hu/files/4414/2132/1205/MIIT2015\\_Abstract\\_Book\\_v\\_20150115.pdf](http://www.mitt2015.hu/files/4414/2132/1205/MIIT2015_Abstract_Book_v_20150115.pdf)

### **Előadások**

1. **Lakatos Renáta Krisztina**, Kovács Zsolt: A guanozin hatása az abszensz epilepsziás aktivitásra WAG/Rij patkányban. XII. Regionális Természettudományi Konferencia, NYME-SEK TTMK, Szombathely, 2017. január 25.

2. **Lakatos Renáta Krisztina**, Kovács Zsolt: A nem-adenozin nukleozidok hatása az LPS indukálta abszensz epilepsziás aktivitásra WAG/Rij patkányban. XI. Regionális Természettudományi Konferencia, NYME SEK TTMK, Szombathely, 2016. január 27.

## **10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

Szeretném kifejezni hálámat témavezetőmnek, Dr. habil. Kovács Zsoltnak (ELTE BDPK, Biológiai Tanszék, Szombathely), aki lehetővé tette a kutatómunkába való bekapcsolódásomat. Az ő útmutatása és tanácsai nélkül a PhD munkám nem valósulhatott volna meg.

Köszönettel tartozom az Eötvös Loránd Tudományegyetem Savaria Egyetemi Központ Biológiai Tanszékének, a Pécsi Tudományegyetem Biológiai és Sportbiológiai Doktori Iskolájának, valamint a kutatásokban részt vevő kollégáknak a szakmai segítségükért és az infrastrukturális háttér biztosításáért.

Köszönöm a családomnak a doktori tanulmányaim és a disszertációm elkészítése során nyújtott támogatásukat.