

Ph.D. értekezés tézisei

NITROGÉN-MONOXID
MEMBRÁNOKBAN ÉS VIZES KÖZEGBEN:
SPINCSAPDÁZÁSA ÉS SPINJELZŐKKEL VALÓ KÖLCSÖNHATÁSA.
ELEKTRON PARAMÁGNESES REZONANCIA SPEKTROSZKÓPIAI TANULMÁNY

Saviana Nedeianu

Témavezető: Dr. Páli Tibor

Magyar Tudományos Akadémia,
Szegedi Biológiai Központ,
Biofizikai Intézet,
Szeged, Magyarország

2004

BEVEZETÉS

A nitrogén-monoxid (NO) a legkisebb molekulák egyike, melyet a XVII. század óta tanulmányoznak. A múltban elsősorban toxikus vegyületként volt ismert (mérgező gáz, cigaretta füstben és szmogban előforduló szennyező anyag, a savas eső prekursora, valamint egyike azon vegyületeknek melyek az ózonréteg sérülését okozzák), majd 1980-ban felfedezték, hogy az emlősök testében is jelen van, ahol fontos anyagcsere folyamatokban vesz részt. Számos funkciója között ma már ismert, hogy endogén értágító szerepet játszik, neurotranszmitter, gátolja a vérlemezek aggregációját, szerepet játszik gyulladásokban és immunreakciókban, jelen van a septicus sokk és rákos folyamatokban, a citotoxikus, daganatos vagy mikrobiális eredetű sejt és idegi sérüléseknél, a DNS szintézis alatt specifikus enzimeket gátol, szerepet játszik a mitokondriális légzésben, a vas és kalcium anyagcseréjében. A nitrogén-monoxid szintézisére különböző, enzimatis és nem enzimatis utak jelenléte ismert mind állati, mind mikrobiális és növényi rendszerekben.

Az NO különböző szövetekben való anyagcseréjének molekuláris szintű ismerete valamint keletkezési helyéről hatáshelyéhez való jutásának mikéntje ma is számos kérdést hagy nyitva a kutatók előtt. Biológiai rendszerekben az NO-nak számos helyen számos célpontja van. Nagy affinitása van az átmeneti fémekkel, főleg a vassal szemben, így könnyen reakcióba lép a hem és más vas típusú fehérjékkel, de úgyszintén reagál a tiol-, amino- vagy szulfidcsoportot tartalmazó molekulákkal, a szabadgyök tartalmú vegyületekkel, így a tirozil gyököt tartalmazó fehérjékkel is. Az NO reakcióba lép oxigénnel (O_2), nitrogén-dioxidot (NO_2), dinitrátot (N_2O_3), szuperoxid aniont (O_2^-), és peroxinitritet ($ONOO^-$) képezve, mely termékek általában reaktívabbak mint maga a nitrogén-monoxid, és szintén különböző anyagcsere károsító reakciókat eredményezhetnek. Sok esetben továbbra is kérdés, hogy a káros hatásokat maga az NO vagy pedig ennek származékai, gyűjtőnéven a reaktív nitrogén-oxid vegyületek (RNOS) hozzák-e létre. Különösen nehéz ezt *in vivo* körülmények

NO és más nitroxid származékok közvetlen vagy közvetett detektálására. Annak ellenére, hogy az NO egy szabadgyök, biológiai rendszerekben közvetlenül nem detektálható a klasszikus elektron paramágneses rezonancia spektroszkópia (EPR) segítségével, mivel élettartama túl rövid (0.01-6 s). Ennek a problémának az áthidalására fejlesztették ki az úgynevezett spincsapdázó EPR módszert, ahol az NO-t reakcióba hozzák egy spincsapdának nevezett vegyülettel, amivel komplexet képez és egy stabil, jellegzetes EPR spektrumot szolgáltat. Tovább szélesíthető az NO sejten belüli és sejt alkotóira kifejtett hatásának EPR-es vizsgálata a spincsapdázó módszernek a spinjelző módszerrel való egyidejű alkalmazásával. A sejt alkotói, (fehérjék, lipidek) többnyire diamágnesesek, ezért az EPR módszer számára láthatatlanok. A spinjelző módszer lényege abban áll, hogy az egyébként diamágneses sejtalkotóra, fehérjékre vagy lipidekre egy stabilis gyököt tartalmazó molekulát (általában nitroxid gyököt), kötnek majd az így kovalensen létrejött "spinjelzőt" a vizsgálandó rendszerbe építik, lehetővé téve ez által az illető rendszer EPR-es vizsgálatát. A nitroxid spinjelzők nagyon hasznosak lehetnek az O₂ és/vagy NO és származékai által indukált folyamatok (oxidáció, nitrozilálás, nitráció) megértésére irányuló vizsgálatokban, úgyszintén valamely redukáló anyag redukáló vagy védő hatásának vizsgálatában. Hasonló vizsgálatok eddig nem ismertek.

CÉLKITŰZÉSEK

A jelen tanulmány fő célja az volt, hogy elősegítse az NO képződésének és a különböző molekulákkal való kölcsönhatásának jobb megértését vizes oldatokban és lipid membránokban, mert ez biológiai és fiziológiai szempontból is fontos. Kísérleti

módszerként, az NO detektálására és hatásainak kimutatására legérzékenyebb módszert, a spincsapdázó EPR technikát valamint a spinjelző EPR módszereket kombináltam. Utóbbi biztosítja azt az előnyt, hogy a spinjelzők érzékenyen reagálnak környezetük változásaira és egyben az NO-val való reakciónak is ki vannak téve. A kísérletek megtervezésében a következő fő célkitűzéseket követtem:

- 1) A vas-ditiokarbamát (FeDTC_2) spincsapdázók és az NO reakciója során kialakuló nitrozil-termékek képződésének tanulmányozása és a stabilitásuk mérése vizes és hidrofob közegekben.
- 2) Különböző fizikai és kémiai paraméterek, mint a hőmérséklet, puffer összetétel, szerves oldószer, redukáló anyagok, O_2 , Fe:DTC arány a nitrozil komplexek kialakulására és azok jellemzőire gyakorolt hatásának vizsgálata.
- 3) Az NO-nak ezen spincsapdázókkal való csapdázásának hatékonysága és a detektálási határ meghatározása.
- 4) Az NO, O_2 valamint az aszkorbinsav, mint redukáló anyag és ezek kombinációinak stabilis, vízzoldékony spinjelzőkre gyakorolt hatásának mérése.
- 5) Az NO diffúziójának és az NO valamint a hidrofób, farmakológiai szempontból fontos NO donor, a SNAP membránba való behatolásának és a lipid láncokkal való kölcsönhatásuk mérése a lipid kettősréteg különböző mélységeiben, közel atomi felbontásban az O_2 -vel való összehasonlításban.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Spincsapdázó EPR módszer az NO detektálására vizes közegben és membránokban.

Spincsapdázás vizes közegben: A spincsapdázó EPR kísérletekben két, NO-ra specifikus vas-ditiokarbamát ($\text{Fe}(\text{DTC})_2$) típusú spincsapdát alkalmaztam: a vízzoldékony $\text{Fe}(\text{MGD})_2$ és a hidrofób (lipofil) $\text{Fe}(\text{DETC})_2$, vegyületeket.

oldatban való mérésére különböző puffereket (50 mM TRIS vagy PBS) vagy kétszeresen desztillált vizet (DDW) használtam. A lipid-oldékony $\text{Fe}(\text{DTC})_2$ vegyület kicsapódásának megelőzése céljából vagy tartalmaztak az oldatok 10% BSA-t, vagy pedig a vegyületet szerves oldószerben, etilacetátban választottam külön. A spincsapda komplexek oxidációjának megakadályozására redukáló anyagot alkalmaztam ami nátrium-ditionit ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) vagy aszkorbinsav (AsA) volt. A keletkezett nitrozil termékek ($\text{NO-Fe}(\text{DTC})_2$) jellegzetes triplet EPR spektrumát különböző hőmérsékleteken (298 K és 165 K) rögzítettem és a spektrális paramétereket, mint a g-érték, vonalszélesség, hiperfinom felhasadások, integrális intenzitás, vizsgáltam.

Spincsapdázás membránokban: A nitrozil termékek életidejének növelése céljából ezeket telített foszfolipidből, konkrétan DMPC-ből vagy DPPC-ből készült multilamelláris vezikulákba (liposzómákba) zártam. A liposzómákba zárt $\text{NO-Fe}(\text{DTC})_2$ komplex spektrumát különböző hőmérsékleteken és a készítés utáni különböző időpontokban mértem.

Vízben, illetve membránokban oldódó spinjelzőkkel végzett EPR mérések.

Vízoldékony spinjelzők: Az NO hatását aerob és anaerob körülmények között, három különböző vízoldékony nitroxid spinjelző, TEMPO, 3-maleimido-PROXYL és Fremy só esetében vizsgáltam, az EPR spektrumok változását figyelve. Ezekben a kísérletekben SNAP NO donort alkalmaztam. A nitrit (NO_2^-) képződését, mint az NO oxidációs termékét Griess reakció segítségével mutattam ki. Az AsA mint redukáló anyag hatását, szintén vizsgáltam. A SNAP, nitrogen-monoxid gáz, molekuláris O_2 és egyéb nitrogén származékok által létrejött NO hatását a spinjelzők spin-szaturációs tulajdonságaira folyamatos mikrohullámú teljesítmény-szaturációs EPR technikával mértem, szobahőn.

Spinjelzett lipidek: A membránkörnyezetben történt vizsgálatok esetében, DMPC lipid kettősrétegbe épített, az sn-2 zsírsavlánc különböző pozíciójában ($n=4-14$) jelölt lipid (PC) analóg spinjelzőket (n-PCSL) használtam. Folyamatos hullámú teljesítmény-szaturációs EPR technikával mértem a spinjelzők relaxációs idejét (T_1T_2), és az NO diffúzióját, valamint

I. SPINCSAPDÁZÓ EPR VIZSGÁLATOK

1. Nitrogén-monoxid vizes közegben

Az NO , $\text{Fe}(\text{DTC})_2$ típusú ($\text{Fe}(\text{MGD})_2$ vagy $\text{Fe}(\text{DETC})_2$) spincsapdákkal való kölcsönhatása során képződött nitrozil-termékek tipikus három vonalas EPR spektrumot adtak. A spektrum jellemzőit nem befolyásolta a kísérletekben használt oldat összetétele: TRIS, foszfát puffer vagy kétszeresen desztillált víz (DDW) esetén. Ezzel szemben a komplex kialakulása nagymértékben érzékeny volt az O_2 vagy redukáló anyag jelenlétére, a $\text{Fe}(\text{II}):\text{DTC}$ arányra, a hőmérsékletre és a reakcióban résztvevő vegyületek koncentrációjára. E faktorok hatását részletesen jellemeztem. SNP-t NO donorként használva, a módszer érzékenysége azt kaptam, hogy nagyságrendje anaerob feltételek mellett 4×10^{-10} M NO volt. A $\text{Fe}(\text{II})(\text{DTC})_2$ koncentrációja minden esetben magasabb kell legyen az NO koncentrációjánál, hogy biztosítsuk az összes szabad NO csapdázását.

2. Szerves oldószerben oldott $\text{NO-Fe}(\text{DETC})_2$ komplex

A kísérleteim megmutatták, hogy 60 μl etil-acetát elégséges 0.3 - 1 ml-ben képződött összes $\text{Fe}(\text{II})(\text{DETC})_2$ komplex kivonására. Azt találtam, hogy a $[\text{Fe}]:[\text{DETC}] = 1:1000$ aránya már elegendő spincsapdát hoz létre ahhoz, hogy 1 mM SNAP által kibocsájtott összes NO -t megkösse. Ez az eredmény arra utal, hogy már nagyon kicsi (1 μM vagy kevesebb) Fe elégséges $\text{Fe}(\text{DETC})_2$ -t képez a testben lévő fiziológiai mennyiségű (0.01-10 μM) NO teljes csapdázásához. A $\text{Fe}(\text{DETC})_2$ vagy $\text{NO-Fe}(\text{DETC})_2$ etil-acetátos kivonásának nagy előnye az, hogy a képződött nitrozil-termék hosszú ideig, több napig stabil marad.

3. Az NO spincsapdázása multilamelláris lipid vezikulákban

Tovább növelendő a vas- γ -tiokarbamát nitrozil komplex ($\text{NO-Fe}(\text{DTC})_2$) életidejét, azt többretegű lipid vezikulákba (liposzómákba) zártam, megnövelve ezáltal a levegővel szembeni védettségüket is, ami könnyebb kezelhetőséget biztosított. A $\text{NO-Fe}(\text{MGD})_2$ DMPC liposzómákba való zárásakor nagyon gyenge

szemben a NO-Fe(DETC)_2 komplex liposzómába záráskor nagyon erős EPR jelet adott, aminek intenzitása 5-8 nap után is csak kevesebb mint 20%-kal csökkent, majd állandó maradt több mint 30 napig.

II. SPINJELZŐ EPR VIZSGÁLATOK

1. Vízőoldékony nitroxid spin jelzők

Vízőoldékony nitroxid spinjelzők (SL) mint a TEMPO, 3-maleimido-PROXYL és a Fremy só spektrumát különböző feltételek mellett vizsgáltam és jellemeztem, szobahőn (25°C). A nitroxid SL-re jellemző tipikus, tripllett EPR jelet kaptam. A kísérletekben használt, fent említett spinjelzők kissé eltérő vonalszélességű és hiperfinom csatolási állandójú (A_0) spektrumot adnak, mivel a molekulaszervezetük is eltérő. A szolubilis spinjelzők közül kettő (TEMPO és 3-maleimido-PROXYL) ciklikus aromás nitroxid, míg a harmadik, a Fremy só lineáris szerkezetű vegyület. Ezekben a kísérletekben NO forrásként a SNAP donort vagy NO gázt használtam.

1.1. Az NO és O_2 hatása vízőoldékony spinjelzőkre

A ciklikus nitroxid spinjelzőkkel (TEMPO és 3-maleimido-PROXYL) szemben, a lineáris szerkezetű Fremy só nitroxid csoportjára látszólag kevésbé hatott mind az NO mind pedig az NO_2^- . Az eredmények azt igazolták, hogy a SNAP és O_2 , vagy NO_2^- (jelenlétét Griess reakció igazolta) együttes hatása mindegyik SL esetében növeli az EPR jel intenzitásának lecsengését, de leginkább a ciklikus nitroxidok (TEMPO and 3-maleimido-PROXYL) esetében, és az intenzitás csökkenés a koncentrációtól nem, csak az időtől függött. Folyamatos hullámú (CW) teljesítmény telítődési kísérletekkel igazoltam, hogy a spinjelzők NO_2^- által indukált spin-relaxációjának gyorsulása a különböző spin-spin kölcsönhatásoknak tulajdonítható, mint azt a T_1T_2 relaxációs idő szorzat értékének csökkenése mutatta. Az NO, O_2 , NO_2^- és NO_2 gyökök indukáltak⁶ vonalkiszélesedést is a nitroxid spinjelzők EPR spektrumában, ami a Heisenberg-féle spin kicserélődésnek tulajdonítható.

nitroxid SL-re. Kísérleti modellrendszeremben vízoldékony SL-
ket vizsgáltam NO donor (SNAP) jelenlétében, aerob és anaerob
körülmények között. Az eredmények azt mutatták, hogy szobahőn
az AsA redukálta a használt spinjezők nitroxid csoportját,
csökkentve az EPR triplett intenzitását. Az AsA az O₂ és SNAP
hatásától eltérően befolyásolta a három vizsgált spinjelző
spektrumát. AsA-ra a Fremy só volt a legérzékenyebb, melynek
EPR jele AsA hozzáadása után már nem is volt detektálható. A
ciklikus nitroxid SL-k esetében az AsA hozzáadása 38% illetve
70% -kal csökkentette az EPR jel intenzitását, 3-maleimido-
PROXYL illetve TEMPO esetében. Azt találtam, hogy az AsA
hatékonyabb volt a TEMPO esetében és az AsA és SNAP együttes
alkalmazása a TEMPO EPR jelének teljes eltűnéséhez vezetett.
Továbbá, megfigyeltem, hogy AsA:SL = 10:1 molarány nagyon
effektíven redukálja a SL nitroxid csoportját, valószínűleg
hidroxilamin képződésen keresztül. Mind a 3-maleimido-PROXYL,
mind a TEMPO esetében a SNAP jelenlétében történő intenzív
oxidáció az EPR jel intenzitását közel nullára csökkenti. Az
AsA hozzáadása SNAP és O₂ kezelés után, de nem előtte,
csökkentette ezt az effektust, visszaállítva az EPR jelek
intenzitását. A Fremy só esetén az AsA hozzáadása a SNAP és O₂
bármilyen kombinációjával történő kezelés után, az EPR jel
elvesztéséhez vezetett.

2. Az O₂ és NO hatása PC (n-PCSL) spinjelzőkre DMPC multilamelláris vezikulákban.

Annak megértésére, hogy az NO milyen hatást gyakorol egy
valódi sejtmembránra, azon belül a lipidek rotációs
dinamikájára a membrán különböző mélységeiben, a továbbiakban
olyan lipid analóg (PC) spinjelzőket (n-PCSL) használtam,
melyekben a nitroxil csoport a lipid zsírsavlánc különböző
pozíciójára van kovalensen kötve. DMPC multilamelláris
vezikulákba jelölő:lipid = 4:100 arányban épített n-PCSL
spinjelzők EPR spektrumát tanulmányoztam a SNAP NO donor

jelenlétében és annak hiányában, 10 °C és 30 °C hőmérsékleteken. A deoxigenált mintákban felvett kontroll spektrumok viszonylag nagy vonalszélességűek gél fázisban (10 °C), ami részben a spin-spin kölcsönhatásnak, részben pedig, az $n=8-12$, n -PCSL spinjelzők esetén, a spinjelző ismert szegregációjának tulajdonítható. A SNAP oldatban való jelenléte telítési koncentrációban (9 mM) jelentősen csökkenti ezt a spin-spin kölcsönhatást. A DMPC fluid fázisában (30 °C), ahol nem lép fel a spinjelző szegregációja, a SNAP nagy mértékben perturbálja az EPR spektrumokat és ez a hatás fokozatosan nő a PC zsírsavláncok C10-C11 pozíciója felé közeledve a membránban. A SNAP-nak a lipid láncok dinamikájára kifejtett hatását az n -PCSL jelzők hiperfinom felhasadásában bekövetkező változással kvantitáltam, NO donor hiányában illetve annak jelenléte mellett. Megfigyeltem, hogy gél fázisban a SNAP legnagyobb hatását a membrán középső rétegére ($n=10-12$) fejti ki a pozíció mélységével arányosan. Fluid fázisban kvalitatívan hasonló hatást, a kettősréteg középső $n=10-14$ régiójában a legnagyobb, de ellentétes előjelű változásokat tapasztaltam.

Az NO és O₂ penetrációs profilját DMPC kettősrétegben az általuk előidézett, az n -PCSL jelzők spin-relaxációjának erősödésével mértem, 1:800 spinjelző:lipid mólarány és 2 mM SNAP vizes oldatbeli koncentrációja mellett. A lassúbb telítődésű görbék (mint a 14-PCSL 10 °C-on vagy a 4-PCSL 30 °C-on) gyorsabb relaxációjú, azaz nagyobb $1/T_1T_2$ értékkel rendelkező molekulákat jelentenek. A T_1T_2 értékét elsősorban a spinjelző csoport dinamikája, rotációs diffúziójának sebessége, amplitúdója és szimmetriája határozza meg. A dinamikai paraméterek nagysága a lipid kettősréteg közepe felé növekszik, ennek megfelelően a T_1T_2 értéke pedig a hőmérséklet növekedésével monoton csökken. Ezen adatokat tekintettem viszonyítási értéknek a SNAP- és O₂-kezelt minták vizsgálatánál. A SNAP befolyásolja a lipid láncok mobilitását is, ami azt igazolja, hogy a SNAP behatol a membrán hidrofób régiójába.

Az NO legtöbb kémiai reakciója diffúzió által szabályozott és az NO molekula célmolekulákkal vagy funkciós

csoportokkal való ütközési gyakoriságától függ. Az NO ütközési gyakorisága célmolekulákkal arányos az NO koncentrációja és diffúziós sebességének szorzatával, amit a jelen vizsgálatokban nagy pontossággal mértem a foszfolipid membrán normálisa mentén. Ezek a vizsgálatok lehetőséget nyújtottak arra, hogy megkülönböztessük az NO és O₂ hatásait valamint megállapíthassuk a SNAP helyzetét a membránban. Ezek mellett a jelen munka az első szisztematikus vizsgálata a SNAP NO donor molekula hatásainak foszfolipid membránokban.

KÖVETKEZTETÉSEK

Eredményeim mutatják, hogy az EPR módszer az egyik legjobb, ha nem a legjobb, módszer az NO képződésének és biológiai ill. orvosi szempontból fontos vegyületekkel való kölcsönhatásának detektálására. A spincsapdázó EPR módszer alkalmazásával az Fe(DTC₂) vegyületek nagyon érzékenyek és szelektívek az NO csapdázására. Ezeket sikeresen alkalmaztam az NO-Fe(DTC₂) vegyületek képződését befolyásoló faktorok eddiginél jobb jellemzésére. Ennek során meghatároztam a Fe(DTC₂) vegyületek detektálási limitjét és csapdázási hatékonyságát is.

A hidrofob NO-Fe(DETC₂) komplex stabilitását növelni tudtam szerves oldószerben illetve többrétegű lipid membrán vezikulákban (liposzómákban). Ennek jelentőségét az az ismert tény adja, hogy gyógyszerek, hatóanyagok hatékonysága és célba juttatásának biztonsága javul *in vivo* körülmények között, ha azokat liposzómákba zárják. Így a fenti vegyületek (konkrétabban az NO donor ill. Fe(DETC₂) csapdázó) liposzómákba zárva potenciálisan alkalmasak klinikai vizsgálatokra.

A spinjelző EPR módszerrel az NO-nak a számos lehetséges célmolekuláira gyakorolt hatását modelleztem kísérletileg. A nitroxid spinjelzők (SL) két csoportját használtam: vízoldékony spin jelzők, amelyeket pl. fehérjék spinjelzésére is használnak, valamint spinjelzett lipid analóg molekulákat. A nitroxid spinjelzők redukálásának módja függ a szerkezetüktől, koncentrációjuktól és az oldatban jelen lévő

A lipofil spinjelzők különösen hasznosak az anyagcsere folyamatok tanulmányozásában, hiszen ezek a spinjelzők a membránban lokalizálódnak, ahol nagy a redox aktivitás. Ezen túlmenően, szerkezeti analógok segítségével a membrán különféle mélységeire koncentrálhatunk. Az NO, lévén egy kicsi és meglehetősen hidrofób molekula, viszonylag szabadon diffundál membránokban és membránokon keresztül, hacsak nem találkozik valamelyik membrán-kötött célmolekulájával. Eredményeim azt mutatják, hogy a fluid membrán hidrofób belseje biológiai rendszerekben az NO-függő kémiai reakciók egyik fontos színtere és ezek a reakciók erősen függenek a membránbeli vertikális pozíciótól. Meghatároztam az NO és O₂ membránba való hatolásának mélységi profilját és diffúzióját lipid vezikulákban. Az NO egyik, a terápiás kísérletekben relaxáló faktorként is használt hidrofób donorjának (SNAP) a lipid láncokra gyakorolt hatását is tanulmányoztam a DMPC membrán különböző mélységeiben. Az NO és O₂ esetén, a gél és fluid membránok közötti általunk megfigyelt nagy különbség pedig arra utal, hogy az NO és az O₂ membránsíkbeli eloszlása valószínűleg jelentős heterogenitást mutat, ha a membránban eltérő összetételű vagy mobilitású domének (szigetek, tutajok) vannak.

Fenti eredményeim az alábbi szempontok miatt fontosak: (i) az NO generálásának és spincsapdázásának javítása vizes és hidrofob környezetben, (ii) az NO és más szabadgyökök közötti kölcsönhatások jobb megértése, valamint (iii) a biomembránokban zajló és az NO-hoz kapcsolódó (bio)kémiai folyamatok jobb megértése.

PUBLIKÁCIÓS LISTA

A tézisekhez felhasznált cikkek

1. **Nedeianu, S.** and Pali, T. (2002) ¹⁰ "EPR spectroscopy of common nitric oxide - spin trap complexes", Cellular and Molecular Biology Letters 7(1): 142-143.
2. **Nedeianu, S.**, Pali, T., Marsh, D. (2003) „Membrane

complexes: electron paramagnetic resonance features and relative trapping efficiency." (előkészítés alatt)

4. **Nedeianu, S.**, Pali, T., Marsh, D. (2004) "Interaction of nitric oxide and its donor, SNAP, with nitroxyl radicals commonly used in spin labelling: an EPR spectroscopic study." (első piszkozat elkészítve a FEBS Lettersben való közlésre)

A tézisekhez felhaszált konferencia kivonatok

1. **Saviana Nedeianu** and Tibor Pali,

"Characterisation of paramagnetic nitric oxide complexes by spin trapping methods in polar and apolar environments".

First International Meeting of Romania Society of Biochemistry and Molecular Biology, Bucharest, Romania, September, 23-27, 1998. The abstract published in Rev. Roum. Biochim 35 (1-2) 145 poster position: S7-11, 1998.

2. **Saviana Nedeianu** and Tibor Pali,

"Characterisation of paramagnetic nitric oxide complexes by spin trapping methods"

FEBS Advanced Course co-sponsored by SFRR "Free Radicals, Nitric Oxide and Antioxidants in Health and Disease", International Summer School for Postdoctoral Scientists and Advanced Students, Antalya, Turkey, September, 18-24th, 1999.

3. **Saviana Nedeianu** and Tibor Pali,

"Characterisation of paramagnetic nitric oxide complexes by EPR spectroscopy and molecular modelling", presentation at "Straub days", Szeged, Hungary, December, 7-9th, 1999.

4. **Saviana Nedeianu** and Tibor Pali,

"Characterisation of paramagnetic nitric oxide complexes by spin trapping methods"

6th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON SPIN TRAPPING "Spin Traps, Nitroxides and Nitric Oxide: Spectroscopy, Chemistry and Free Radical Biology", Marseille, France, August 27-31st, 2000.

5. **Saviana Nedeianu** and Tibor Pali,

"Characterisation of NO spin traps: EPR properties and trapping efficiency"

abstract published in "Nitric Oxide - Basic Research and Clinical Applications" vol. 317, pp. 206, by Ed. R.J. Gryglewski and P. Minuz, IOS Press, Series A Life Sciences, 2001.

Egyéb közlemények

1. Csont, T., Szilvassy, Z., Fulop, F, **Nedeianu, S.**, Pali, T., Tosaki, A., Dux, L. and Ferdinandy P. (1999) "Direct myocardial anti-ischaemic effect of GTN in both nitrate-tolerant and nontolerant rats: a cyclic GMP-independent activation of KATP", Brit. J. Pharmacol. 128 (7): 1427-1434.
2. Fejer, G., Lazar, G., Szalay, K., Gyory, I., Fejes, M., Kusz, E., **Nedeianu, S.**, Schmidt, T., Kontoyiannis, D., Hobbs, M., Siklodi, B., Páli, T., Kollias, G., Horwitz, M., Duda, E. (2003) "Adenovirus infection dramatically augments bacterial endotoxin induced TNF- α production and sensitises to lethal shock." (közlésre előkészítve)