

Válasz Dr. Tóth András egyetemi tanár, az MTA doktora opponensi bírálatára

Szeretném megköszönni Tóth András Professzor Úrnak, hogy elvállalta értekezésem bírálatát és azzal rendkívül alaposan foglalkozott. Köszönöm kritikus, de segítő megjegyzéseit és hálás vagyok értékes észrevételeiért és elgondolkodtató kérdéseire.

Az általános értékelés kapcsán tett megjegyzésekre a következőkben válaszolok.

Munkám során ugyan igyekeztem törekedni a magyaros írásmódra, van azonban néhány szó, aminek a latin írásmódja sajnos régről rögzült bennem. Ilyen szó pl. az „echocardiographia”, aminek a latin írásmódja különösen a tartalomjegyzékben szembetűnő, mivel pont alatta helyezkedik el a „vaszkuláris ultrahang” magyaros írásmóddal.

Megjegyzésként leírásra került az is, hogy az irodalomjegyzék nem a legfrissebb irodalmi hivatkozások szerepelnek, sok a régi hivatkozás. Tekintettel arra, hogy a jelen disszertációban szereplő kutatómunka effektíve 2003-2016 között zajlott, a cikkek 2005-2017 között jelentek meg és maga a disszertáció is végleges formát öltött 2018 legelejére, ezért véleményem szerint az irodalmi hivatkozások eloszlása ennek megfelelő. A hivatkozások harmada 2010 utáni. 2000 előtti hivatkozás pedig mindössze az összes hivatkozásszám 15 százaléka. Ezek jó része is metodikai hivatkozás, illetve ma már alapvetésnek tekintett adatok alátámasztására használtam fel ezeket a régi irodalmi adatokat. Itt szándékosan igyekeztem megkeresni az eredeti közleményeket.

Az Irodalmi Összefoglalóban a PARP rendszer és a PARP-gátlás hatásának bemutatása valóban vázlatos elsősorban a mai tudásunkkal nézve. A disszertáció bevezetésében azonban csak azokat a tényeket ismertettem, amik a kutatásaim kiindulásának időpontjában ismertek voltak. A Módszertan esetén valóban segítséget nyújthatott volna még néhány magyarázó ábra, különösen az MR és a vaszkuláris ultrahang esetében. Sajnálom, hogy emiatt nehezebben volt értelmezhető néhány módszer kiértékelésének a megértése.

Ugyancsak elnézést kérek, hogy egyes ábrák esetén az ábraaláírás olyan kicsi, hogy nehezen/alig olvasható. Monitoron többségük egész jól olvashatónak tűnt, azonban kétségtelen, hogy a nyomtatási minőségsökkenéssel nem számoltam és utólag sem ellenőriztem az olvashatóságot.

Az ábrák egy jó részénél valóban kimaradt az alkalmazott PARP-gátló dózisa. A módszereknel ugyan leírásra került a dózis (a vizsgálatok túlnyomó többségében 5 mg/kg L-2286-ot adtunk, azonban egy esetben ettől eltérő volt a dózis: az in vivo infarktus modellben 10 mg/kg egyszeri adást 5 alkalommal óránként 3 mg/kg dózis követett).

Az eredmények bemutatásánál az igen sok alfejezetre osztásnak az áttekinthetőségre gyakorolt negatív hatását említi az Opponens. Az eredményeken belül annak ellenére lett 2 fejezet esetén

igen sok alfejezet, hogy a módszertan és a célkitűzés alapján már három tematikus alegységet képeztem: 1. Előkísérletek (sejtkultúra, iszkémia-reperfúzió, in vivo infarktus modell), 2. Krónikus szívelégtelenség modellek, 3. Hipertenzív szervkárosodás és (kardiovaszkuláris remodelling). Ennél jobban nem tudtam tematikusan csoportosítani az eredményeket (nem teljesen egyező módszertan), azokat csak a Megbeszélés fejezetben fűztem szigorú tematikus egységekbe.

Az eredmények összefoglalását/áttekintését valóban segíthette volna egy összefoglaló ábra, azonban az vagy túl sematikus lett volna, vagy a részletek feltüntetése esetén maga is könnyen áttekinthetetlenné vált volna, ezért ugyan sokáig terveztem a megrajzolását, azonban végül elvettem az ötletet.

A tartalmi kérdésekre adott válaszaimat az alábbiakban fogalmazom meg.

1. A kisállatokból származó eredmények klinikai felhasználhatóságra való transzlációjának problémáinak megemlítése abszolút jogos.

Kutatómunkám kezdetén scavenger, antioxidáns molekulákkal végeztem kísérleteimet, amelyek mind sejtkultúrák modellben, mind izolált mitokondriumokon, illetve iszkémia-reperfúziós modellekben egyaránt kiváló hatással rendelkeztek. Azonban az azóta eltelt időszakban elvégzett humán klinikai vizsgálatok mindegyike semleges eredményű volt, a scavenger molekulák alkalmazása nem befolyásolta a kardiovaszkuláris morbiditást és mortalitást. Kudarcot vallott az E-vitamin, a C-vitamin és a béta-karotin szupplementáció egyaránt. Alkalmazásuk esetén nem csökkent a szívinfarktusok, az iszkémiás stroke-ok száma és a halálozás sem. Sőt egyes adatok alapján az E-vitamin pótlás fokozhatja a haemorrhágiás stroke-ok számát. Dohányosokban pedig az antioxidánsok alkalmazása növelte a tüdőrák előfordulását (Sesso HW et al. JAMA. 300(18), 2123–2133, 2008.).

A mitokondrium a szabadgyökök egyik legfontosabb forrása a szívizomsejtekben. A mitokondriumokban felhalmozódó, hatását specifikusan itt kifejtő antioxidáns molekula a Bendavia, (MTP-131, SS-31 és Elamipretide néven is ismert). Pozitív preklinikai vizsgálatokat követően azonban a klinikai vizsgálatok lényegében negatívak lettek (Daubert MA et al. Circ Heart Fail. 2017 Dec;10(12). pii: e004389). Az mPTP inhibitor cyclosporin esetén szintén pozitív preklinikai vizsgálatokról olvashattunk, azonban a klinikai fázisban már csak marginális pozitív eredmények voltak észlelhetők (Zhang J et al. Br J Pharmacol. 2018 May 18. doi: 10.1111/bph.14363).

A PARP-gátló anyagok sejtkultúrától kezdve krónikus élőállat modellekig egyöntetűen védő hatással rendelkeznek olyan patológiás állapotokban, ahol az oxidatív stressz pathogenetikai szereppel bír. A PARP-gátló 3-aminobenzamidot nagyállat (sertés) infarktusmodellben (LAD-ligáció) is kipróbálták. A reperfúziós oldatban alkalmazva nem csökkent ugyan érdemben az infarktus mérete, azonban a reperfúzió alatt a szisztolés balkamra funkció visszatérésére egyértelműen pozitív hatást fejtett ki (Roesner JP et al. Shock. 33(5), 507-12, 2010).

Emellett a BGP-15-öt, amely PARP-gátló hatása mellett a mitokondriális fúzió promotere is, már humán klinikai vizsgálatban is kipróbálták. A vizsgálat eredménye pozitív volt, a BGP-15 javította az inzulinrezisztenciát (Literati-Nagy B et al. Horm Metab Res 41(5), 374-380, 2009.). A PARP-gátló kezelés protektív hatása ezért úgy tűnik, hogy független a vizsgált állat méretétől, illetve a speciestől.

Egyetemünkön lett volna mód nagyállatmodellre, hiszen a SOKI évtizedekkel ezelőtt is folytatott már nagyállatmodellen – kutya – kísérleteket. A PARP-gátló molekulákból azonban olyan nagy mennyiségekre lett volna szükség, amelyet nem lehetett volna előállítani a Szerves- és Gyógyszerkémiai Intézetben.

2. A hirtelen szívhalállal kapcsolatos kérdésre adott válaszom: A hirtelen szívhalál valóban igen fontos halálozási tényező szívelégtelenségben - elsősorban a NYHA-II és III funkcionális osztályban. Vizsgálataink közül a spontán hipertenzív patkányok esetén 76 hetes életkorban befejeződött, illetve a doxorubicin által kiváltott szívelégtelenség modellben észleltünk jelentős elhullást. Az állatok ellátása és ellenőrzése naponta egy alkalommal történt, így jellemző módon az elhullást ezen alkalommal észleltük. Az elektromos tevékenység monitorozására képes hordozható telemetriás készülék nem volt az állatokba beültetve, így nem tudok nyilatkozni a kamrai tachyarrhythmia meglétének gyakoriságáról. Jellemző módon azonban azon állatoknál észleltünk elhullást, ahol korábban a szívelégtelenség és a volumenretenció egyértelmű jelei kezdtek már kialakulni.

3. A vizsgált molekulák elektromos remodellingjével kapcsolatos kérdésre az alábbi választ szeretném adni.

A PARP-gátlók kapcsán nem ismert az irodalomban ioncsatornákra gyakorolt direkt hatás. Potenciális - indirekt - antiarrhythmias hatással azonban rendelkezhetnek ezek a molekulák. A különböző kardiovaszkuláris patológiás állapotok során a szívizomsejtek között kötőszövet halmozódhat fel (pl. szívelégtelenség, iszkémia) és ennek hatására az ingerületvezetés inhomogén lesz a myocardiumban, ami arrhythmia szubsztrátként szolgálhat. Emellett a PARP-1 enzim blokkolása révén normális maradhat a sejtenergetika állapota patológiás állapotokban is. A magas energiájú foszfát szintek (ATP, kreatin-foszfát) a normális/normálishoz közeli szinten maradnak ezáltal az ioncsatornák és az ion pumpák működése is normális marad egy ideig, ami indirekt módon szintén antiarrhythmias hatású.

A rezveratrol azonban direkt védő hatással bír néhány, a szív ingerképzésében és az ingerület vezetésében fontos szerepet betöltő ioncsatornára és ionáramra. Ilyenek például a feszültségfüggő Na-csatornák csúcs- és késői komponensének gátlása (Baczko I et al. Ann N Y Acad Sci 1348, 68–74, 2015; Frommeyer G, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 46, 94–98, 2019.). A rezveratrol emellett növeli a myofilamentumok Ca^{2+} -érzékenységet, valamint gátolja az L-típusú Ca^{2+} -áramot, így a kalcium intracelluláris koncentrációjának csökkenése következik be, aminek antiarrhythmias hatása van (Liu W et al. Ann N Y Acad Sci 1403, 82–91, 2017.).

4. A Langendorff kísérletekkel kapcsolatos kérdésre áttérve sajnálom, ha esetleg félreérthető volt a különféle állatmodellek leírása és az ezekkel elérni kívánt célok. A Langendorff-szívperfúziós vizsgálatok (iszkémia-reperfúzió), illetve az in vivo miokardiális infarktus modell egy bevezető kísérletsorozat volt az L-2286 molekulával. Ezek során az alapvető tulajdonságok, ill. a megfelelő dózis megtalálására törekedtünk csak. Ezek az állatok nem voltak tehát szívelégtelenek.

A Langendorff kísérletek során változó hosszúságú reperfúziós időszakokat alkalmaztunk. A jelen disszertációban bemutatott NMR mérések során a reperfúzió valóban csak 15 perc volt. A reperfúzió optimális időtartamának meghatározására több kísérletet végeztünk és mivel azt találtuk, hogy a 15. perc után a magas energiájú foszfátok szintjében már nincs, vagy csak minimális az emelkedés, ezért döntöttünk ilyen rövid reperfúzió mellett (feleslegesen nem akartuk az NMR-t sem foglalni). Amennyiben azonban az oxidatív sejtkárosodás egyéb paramétereit (lipid peroxidáció, protein oxidáció, DNS törés mérés) kívántuk meghatározni, akkor általában 30-45 perces reperfúziót használtunk (Halmosi R. et al. J Cardiovasc Pharmacol. 40(6), 854-67, 2002).

A posztinfarktusos szívelégtelenség modellben az irodalomban meghatározott isoproterenol dózist és kezelési időtartamot alkalmaztuk első alkalommal, majd a későbbiekben a markánsabb hatás elérésére mind a dózist, mind a vizsgálat időpontját megnöveltük kissé. Az állatok egyenkénti ellenőrzésére tehát nem került sor echocardiographiával, vagy BNP méréssel.

5. Opponensem következő kérdése az SHR modell relevanciájára vonatkozik humán hipertónia, illetve szívelégtelenség vonatkozásában.

A spontán hipertenzív állatmodell a tudományos közvélemény szerint valóban a humán hipertónia egyik legrelevánsabb állatmodellje. Populációs szinten a hipertónia a szívelégtelenség legfontosabb rizikófaktora szívelégtelenség hátterében férfiaknál az esetek 40 százalékában, a nőknél 60 százalékában áll magas vérnyomás betegség. Így természetesen a szívelégtelenségnek is egy abszolút releváns modellje az SHR. (Pugliese NR et al. Heart Fail Rev. 2019 Sep 11. doi: 10.1007/s10741-019-09855-5.). Ennek megfelelően véleményem szerint az itt nyert eredmények humán szívelégtelenségre is transzlálhatók.

Krónikus magas vérnyomás (SHR) hatására kialakult szívelégtelenség közül a balkamra hipertrófia és a diasztolés funkció romlása már a korai stádiumban kialakul, a szisztolés balkamra funkció romlása csak a késői stádiumban figyelhető meg.

Annak ellenére, hogy releváns, kétségtelenül nem a legjobb és legproduktívabb modell az SHR. A krónikus magas afterload által kiváltott szívelégtelenség modellek közül a leggyorsabb és leginkább produktív modellnek a tranzverz aorta konstrikció, illetve az abdominális aorta konstrikció tekinthető. Ezek használatával jóval rövidebb idő alatt alakul ki a szívelégtelenség. Ugyanakkor a korai szervkárosodások vizsgálata könnyebb SHR állatokban, mert a folyamat lassabb és időben jól különválik a korai stádium a késői, már manifeszt szívelégtelenséggel járó stádiumtól.

6. Bírálóm a következő kérdésében az L-2286 és régebbi, illetve az utóbbi évtizedben kifejlesztett PARP-gátlók összehasonlítását kérte tőlem, különösen a hatékonyságukat és szelektivitásukat illetően. Emellett a hatóanyag választás okát tudakolta meg.

Ebben a disszertációban az összes PARP-gátlóval végzett kísérlet során L-2286-ot használtam. PhD munkám során azonban dolgoztam nikotinamiddal (3 mM) 3-aminobenzamiddal (3 mM) BGP-15-el (120 μ M) és 4-hidroxikinazolinnal (100 μ M) is. Ezen hatóanyagok ebben a dózisban kb. egyenértékű citoprotektív és PARP-gátló hatással rendelkeztek. Az L-2286 a 4-hidroxikinazolin továbbfejlesztése, mely Langendorff-perfúzió során már 10 μ M koncentrációban is képes volt a fent említett PARP-gátlók hatékonyságát elérni.

Egy svéd munkacsoport szisztematikusan meghatározta az új generációs (onkológiai indikációval kifejlesztett) PARP-inhibitorok szelektivitását a PARP enzimesalád különböző izoenzimjeire. Ezen molekulák döntő többsége nagyságrendileg azonos koncentrációban gátolja a PARP 1 és 2 izoenzimet. A PARP1/2 vs. többi izoenzim vonatkozásában viszont több nagyságrendnyi különbség van ezen molekulák esetén (Thorsell AG, Schüler H. doi: <https://doi.org/10.1101/119818>).

A „hagyományos” oxidatív sejtkárosodás csökkentése céljából kifejlesztett és csak alapkutatásokban használt PARP-gátlók közül ugyanez a munkacsoport a PJ-34-et és az 5-AIQ-t vizsgálta. Mindkét molekula hasonló dózistartományban képes gátolni a PARP-1 és a PARP-2 izoenzimeket. A PJ-34 és az 5-AIQ szelektivitása a PARP 1 és 2 vs többi izoenzim között pedig lényegesen alatta marad az onkológiai indikációval kifejlesztett új PARP-gátlókéktől (Wahlberg E et al. Nat Biotechnol. 30(3), 283–288, 2012., Thorsell AG, et al. J. Med. Chem. 60, 1262–1271, 2017.). A kérdésben említett INO-1001 esetén szelektivitási vizsgálati adatot nem találtam. Az L-2286 esetén sem történt szelektivitási vizsgálat. A PARP-gátlók a PARP-1 és 2 izoenzimre (ez a két izoenzim felelős a sejtekben a poli(ADP-ribóz)ilációs aktivitás mintegy 95 %-ért) az irodalmi adatok alapján tehát nagyon hasonló IC₅₀ értékkel bírnak. Igaz ez az isokinolin származékokra is (L-2286 is ilyen molekula), így nagy valószínűséggel a két izoenzim között az L-2286 sem bír érdemi effektivitás különbséggel. Disszertációmban ennek megfelelően a szelektivitás szót egyetlen alkalommal sem használtam.

A vizsgálatom kezdetén nem volt elérhető hatékonyabb PARP-gátló az L-2286-nál, később pedig már nem akartunk váltani egy jól bevált, és számunkra olcsón elérhető PARP-gátlón. Kétségtől a később kifejlesztett PJ-34 és az INO-1001 esetében az IC₅₀ érték jóval alacsonyabb, mint az L-2286 esetén (Malyuchenko NV et al. Acta Naturae. 7(3), 27–37, 2015., <https://www.selleckchem.com>).

A plazma koncentrációra és a félélettídre vonatkozóan ilyen részletes összehasonlító adatokat nem ismerek. Az L-2286 esetén azonban a felezési idő mintegy 5-6 óra, ami napi 3x, vagy inkább 4x adagolást tett volna szükségessé. Krónikus állatkísérleteink során ezért minden alkalommal az ivóvízzel juttattuk be a hatóanyagot.

A scavenger aktivitás minden heteroaromás molekula esetén potenciális lehetőségként felmerül. PhD munkám végén végzett szerkezet-hatás vizsgálatok során azonban úgy tűnt, hogy

a kettős kötéssel nem bíró piperidin gyűrűt tartalmazó molekulák ebből a szempontból elég gyenge hatású scavenger anyagok.

7. Az összehasonlító vizsgálatok dózisainak megválasztásával kapcsolatos a következő kérdés.

A PARP-gátló esetében ugyanazt a dózist alkalmaztuk, mint a többi vizsgálatban, ez 5 mg/kg/nap volt per os. Átlagos felszívódást, biohasznosulást feltételezve 10 μ M plazmakoncentrációt igyekeztünk elérni ezzel a dózissal, mely Langendorff perfúziós vizsgálatokban lényegében maximális hatékonyságot ért el. Néhány évvel ezelőtt Sümegi Prof. Úr munkacsoportja meghatározta a valódi plazma koncentrációt, amely 4-5 μ M volt (IC₅₀ 2,6 μ M).

A komparátor molekuláknál olyan dózist igyekeztünk választani, amelyek lényegében maximális hatást fejtenek ki.

Enalapril széles dózistartományban használják rágszálókban (2 - 20 mg/kg/nap). Ezek közül egy átlagos dózist (10 mg/kg/nap) választottunk. Ez a dózis még így is lényegesen magasabb, mint a klinikai gyakorlatban alkalmazott hatékony dózisok (enalapril esetén 40 mg/nap a maximum). Patkányban napi 10 mg/kg enalapril közel teljes ACE-gátlást okoz (>90 %-os gátlás (Longman SD et al. European Journal of Pharmacology, 123, 379-386, 1986.).

A SOD-mimetikus Tempol esetében 20-60 mg dózistartományban lényegében azonos hatásérősség észlelhető, a dózis további emelésével azonban már csökken a védő hatás (talán a redukív stressz okán) (Talebianpoor MS et al. ISRN Pharmacology. 2012, Article ID 187208.).

8. A toxikus szívelégtelenség modellben a doxorubicin és a Tempol dózisával kapcsolatos kérdésre válaszolok most.

Az általunk alkalmazott DOX dózisát irodalmi adatok átnézését követően választottuk. Az általunk alkalmazott 24 mg/kg kumulatív összdózis átlagosnak számít (14-36 mg/kg) (Papadopoulou LC et al. Biochem Pharmacol 57, 481-9, 1999., Delgado RM et al. Circulation 109, 1428-33, 2004., Yi X et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol 290, H1098-1102, 2006.). A klinikailag irreleváns alkalmazási módok, az egyszeri nagy dózisú doxorubicin bevitele nem merült fel (Kunisada K et al. PNAS 97, 315-9, 2000., Pacher P et al. JPET 300, 862-7, 2002). Az ip. beadás mellett alig található szérum koncentráció-idő összefüggés az irodalomban, ellentétben az iv. beadással. Egy cikkben (Johanson PB. Cancer Chemother Pharmacol 5, 267-270, 1981) 12 mg egyszeri ip. beadást követően a szérum csúcskoncentráció 120 μ M, 24 óra múlva pedig 30 μ M volt a szérum koncentráció. Az általunk alkalmazott 3 mg/kg egyszeri dózis esetében a csúcsdózis is arányosan kevesebb, 30 μ M körüli érték lehetett.

A Tempolt csak ebben az egy dózisban adtuk (20 mg/kg/nap) és csak ebben az egy vizsgálatban használtuk. Saját adataink nincsenek egyéb toxikus modellekről.

9. A PARP-gátlásnak klinikai alkalmazhatóságára és az esetleges mellékhatások, kedvezőtlen hatásokra vonatkozik a következő kérdés.

A PARP-gátlás klinikai vizsgálatban inzulin szenzitizáló szerként diabetesesekben hatékonynak bizonyult (Literati-Nagy B et al. Horm Metab Res 2009; 41(5): 374-380).

Emberben szívelégtelenségben, posztinfarktusos remodellingben még nem került alkalmazásra a PARP-gátló, azonban nagyállat modellben is hatékony volt. A PARP-gátló 3-aminobenzamidot sertés infarktusmodellben a reperfusios oldatban alkalmazva a szívfunkció recovery egyértelműen javult (Roesner JP et al. Shock. 33(5):507-12, 2010).

Saját preklinikai adataink alapján mind a szívelégtelenség kialakulásának megelőzésében, mind manifest szívelégtelenség kezelésében ígéretes lehet a használata (SHR). Humán klinikai vizsgálatban azonban eddig nem vizsgálták a PARP-gátlás hatását szívelégtelenségben.

A PARP-gátlás egyetlen ismert veszélye a potenciális tumorképződést provokáló hatásuk. Tumorképződést mi a kísérleteink során nem észleltünk, noha a leghosszabb kezelési idő megközelítette az egy évet. Ismert, hogy PARP-1 és 2 kettős KO állatokban a DNS károsodások javítására nincs mód, mert mindkét enzim teljesen hiányzik (ezért a korai embrionális korban letális ez a mutáció). PARP-1^{-/-} állatokban nem alakul ki spontán tumor, de bizonyos addicionális provokáló behatásokra (alkiláló ágensek) érzékenyebben reagálnak, mint a vad-típusú állatok. Farmakológiai PARP-gátlás esetén nem érhető el teljes enzim-gátlás és ez magyarázhatja meg a különbséget a genetikailag módosított állatokkal és a farmakonokkal tapasztalt eredmények különbségét.

Jelen tudásom szerint nem tudnék megnevezni olyan komorbiditást, amelyben a PARP-gátlás kontraindikált lenne. Hipertóniában saját adatok állnak rendelkezésre, diabetesben humán klinikai vizsgálat mutatta pozitív hatását. Asthma, COPD (Zaffini R et al. Drug Des Revel Ther 12, 281-93, 2018) esetén is védő hatást igazoltak. Vese- és (Kapoor K. et al. Moll Cell Biochem 400, 153-62, 2015) májbetegségekben is védő hatást mutattak ki (Mukhopadhyay P et al. J Hepatol. 66, 589-600, 2017), akárcsak sepsisben (Radnai B et al. JPET 310, 247-55, 2004.) és neurodegeneratív betegségekben (Xu JC et al. Sci Trans Med 8, 333-48, 2016).

10. kérdés a PARP túlaktivációjának az esetleges pozitív hatásairól, illetve PARP aktivátorok elérhetőségéről szól.

Irodalmi ismereteim szerint, a PARP aktiváció minden esetben káros, ha az nagymértékű. Mérsékelt aktiváció azonban a DNS károsodások kivédése és a genom stabilitás fenntartása révén pozitív szerepet játszik. Emellett egy érdekes vizsgálat (Inaba H et al. Mol Brain.8(1), 63, 2015.) azt találta, hogy a poli(ADP-ribóz)iláció fontos szerepet játszik a hosszú távú memória, illetve a kontextuális félelem kiépülésében és megszűnésében. PARP-gátló kezelés mellett természetesen gátlódnak ezen folyamatok.

Farmakológiai PARP-aktivátort nem ismerek, azonban a legtöbb pathofiziológiai folyamat során keletkező szabad gyökök, az ionizáló sugárzás és genotoxikus ágensek mind effektíven váltják ki a PARP enzimek aktivációját.

11. A rezveratrol vizsgálatokat NEM szívelégtelen humán páciensecsoporton végezték. Mi az oka? Vannak-e saját, vagy irodalmi adatok szívelégtelen humán páciensekből?

A rezveratrollal végzett humán vizsgálatunkban posztinfarktusos, de megtartott balkamra funkciós betegek kerültek bevonásra (az átlagos EF 50-55% volt). Természetesen voltak a vizsgálatban olyan betegek is, akiknek alacsonyabb volt az EF-je (40-50 %), azonban manifest szívelégtelenségre utaló tüneteket nálunk sem észleltünk. Ennek a vizsgálatnak a pozitivitása, illetve rezveratrolnak kisállat szívelégtelenség modellben észlelt védő hatása miatt léptünk tovább és indítottunk el szisztolés szívelégtelen betegekben egy újabb humán klinikai vizsgálatot. Ez a vizsgálat nemrégiben fejeződött be, az adatok feldolgozása még jelenleg is tart, azonban annyi elmondható, hogy szívelégtelenségben is egyértelmű védő hatása van a rezveratrolnak (szisztolés, diasztolés szívfunkció javult, terhelhetőség nőtt, légzésfunkció javult, biomarkerek és a gyulladásos citokinek szintje csökkent).

12. A rezveratrolnak az érfalra gyakorolt hatás mellett van-e hatása a szívmuscle sejtekre is? Oki összefüggés a PARP-gátlás és a rezveratrol között. Kardioprotekció hátterében egyéb szervekre gyakorolt hatás áttételes szerepe?

Kétségtelenül a legtöbb adat a rezveratrol kapcsán az érfali protekcióval kapcsolatban lelhető fel az irodalomban. Azonban a rezveratrol a szívmuscle sejtekre is markáns protektív hatást gyakorol. Rezveratrol javítja a mitokondriális funkciót a SIRT1 és az AMPK aktivációjával, mely faktorok emelik a PGC-1 α aktivitását és ezáltal fokozzák az új mitokondriumok keletkezését, a mitokondriális biogenezis folyamatát (Price NL et al. Cell Metab. 15(5), 675-90, 2012.).

A rezveratrol emellett (ahogy a 3. kérdésre adott válaszban már írtam) direkt védő hatással bír néhány, a szív ingerképzésében és az ingerületvezetésében fontos szerepet betöltő ioncsatornára és ionáramra. Ilyenek hatás például a feszültségfüggő Na-csatornáé csúcs- és késői komponensének gátlása (Baczko I et al. Ann N Y Acad Sci 1348, 68–74, 2015; Frommeyer G, et al. Clin Exp Pharmacol Physiol. 46, 94–98, 2019.). A rezveratrol emellett növeli a myofilamentumok Ca²⁺-érzékenységét, valamint gátolja az L-típusú Ca²⁺-áramot, így a kalcium intracelluláris koncentrációjának csökkenése következik be, aminek antiarrhythmias hatása van (Liu W et al. Ann N Y Acad Sci 1403, 82–91, 2017.).

A mitokondriális protektív hatás az, ami átfedésben lehet a PARP-gátlás hatásaival, mely szintén mitokondrium protektív hatással bír, bár elsősorban antioxidáns és a mitokondriális dinamikát kedvezően befolyásoló hatásainak köszönhetően.

A rezveratrol endothelvédő és érfali védő hatása komoly szerepet játszhat a kardioprotektív hatás kialakulásában. Humán klinikai vizsgálatunkban igazoltuk, hogy rezveratrol javítja az endothel funkciót, ezáltal az erek tágulékenységét és csökkentheti ezáltal a szív munkáját.

Végezetül szeretném ismételtlen megköszönni Professzor Úrnak az értekezésem tanulmányozására fordított idejét, értékes bírálatát, szakértő kérdéseit. Köszönöm, hogy a nyilvános védés kitűzését javasolta. Egyúttal kérem Professzor Urat válaszaim elfogadására.

Pécs, 2019. 10. 14.

Tisztelettel és köszönettel:

Dr. Halmosi Róbert