



Oktatás, kutatás, gyógyítás: 250 éve
az egészség szolgálatában

SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar

I. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika

igazgató

Dr. Szabó Attila egyetemi tanár, az MTA doktora

Válasz Wittmann István professzor úr opponensi kérdéseire

Mindenekelőtt tisztelettel köszönöm, hogy Professzor úr elvállalta az értekezés bírálatát. Formai javaslatait, terminológiai korrekcióit tudomásul vettem, javítottam, a válaszban egyenként nem tüntettem fel. Külön köszönöm a rendkívül részletes és kiemelt klinikai relevanciával bíró tartalmi kiegészítéseit, melyeket az előadásba beépítettem.

A feltett kérdésekre a válaszaim a következők:

- 1- *Professzor úr több helyen felhívja a figyelmet, hogy egyes tényezők ismertetése megítélése szerint nem kapott kellő hangsúlyt a dolgozatban. pl. a T2DM egyéb okai, az eGFR klinikai jelentősége, a DKD patomechanizmusában az oxidatív stressz szerepe vagy a H2S bemutatása az iszkémiában, stb.*

Messzemenően egyetértek azzal, hogy ezek a faktorok igen fontos, patognomikus szereppel bírnak az adott folyamatokban, többet magunk is kísérletesen tanulmányoztunk. A folyamatok komplexitása (egy-egy közülük, pl. DKD patomechanizmusa egy teljes könyvet kitenne) és az értekezés terjedelmi korlátai miatt nem minden tényező került részletes ismertetésre. A disszertációban több helyen külön ki is emeltem és a fejezetek előtt indokoltam azt, hogy mely faktorokat tárgyalok részletesebben és mit hagyok ki a fenti okok miatt. Ugyanebből a megfontolásból nem mutattam be számos további, rangos nemzetközi publikációban megjelent eredményünket sem.

Még egyszer, köszönöm, hogy Professzor úr ilyen alapossággal áttekintette az értekezést, biztos vagyok benne, hogy az általa hiányolt területekre vonatkozó válaszok és hozzájuk tartozó saját kísérleteink valamelyik munkatársam, vagy PhD hallgatóm jövőbeni munkájában további kifejtésre kerülnek.

- 2- *A 20 oldalon kimaradt a prediabetes-diagnózis felállításának HbA1c-re alapozott módszere.*

Köszönöm, pótoltam. A hemoglobin A1c értéke prediabéteszben 5.7-6,4%.

- 3- *A 27 oldalon a BDNF jelátvitelét láthatjuk a 4. ábrán. A BDNF jelátvitelének közös pontja az inzulinnal (és még egyébként számos más hormonnal is) az IRS1/2-Akt aktivációja. Az inzulin-rezisztenciáról tudjuk, hogy az IRS1/2 szintjén alakul ki, foszforilációs zavar miatt. Létezik-e BDNF rezisztencia az említett jelátviteli eltérések miatt?*

Köszönöm Professzor úr érdekes felvetését. Tovább gondolva az analógiát, úgy kezdeném, hogy létezik-e BDNF rezisztencia a BDNF receptorának, a TrkB-nek a foszforilációs zavara miatt, vagyis ha nincs TrkB – mBDNF kapcsolat? Véleményem szerint az IRS foszforilációs zavarának ezt követően, a downstream jelátvitelben lehet szerepe.

Bár a TrkB-BDNF szignáltranszdukció jelentőségét perifériás szervekben alig vizsgálták, (diabétiszben egyáltalán nem) a központi idegrendszer vonatkozásában van arról irodalom, hogy normális BDNF szintek mellett is kialakulhat relatív BDNF hiány, amennyiben a TrkB S371 foszforilációja zavart szenved pl. Huntington betegségben [1]. Ugyanakkor egy másik, a *Nature Neuroscience*-ben megjelent vizsgálat alapján a TrkB S478 foszforilációjának zavara nem befolyásolja a receptor transzlokációját, sem a BDNF aktivált pErk-pAkt downstream jelátviteli utat. Ezzel szemben az NMDA receptor-dependens szignalizációs útvonalak szabályozásában fontos szerepet játszik és ezáltal csökkenti a memóriát és tanulást [2].

Az IRS vonatkozásában egérmódelben igazolták, hogy magas zsír-, illetve fruktóz-tartalmú étrend hatására, károsodik az IRS-1/2 aktivációja és csökken a BDNF expresszió [3, 4], mely következményesen neurológiai deficitet és kognitív zavart eredményez. Mindezek alapján elképzelhető, hogy T2DM-ben ez a mechanizmus is szerepet játszik a depresszió és a kognitív zavarok kialakulásában.

Ugyanakkor megfontolandó az is, hogy az általunk használt módelben, az STZ injekciót követően az inzulinhiány mellett az IRS-1/2 foszforiláció eltérően változik. Míg pl. a vázizomban csökken, addig a szívben vagy a májban, paradox módon fokozódik az IRS-1/2 foszforilációja [5, 6]. Wang és vizsgálatai arra utalnak, hogy STZ módelben, a szívben az inzulin jelátviteli út zavara az IRS-1/2-PI3 elemektől downstream a c-fos szintjén lehet. A vesében hasonló IRS-1/2-PI3 aktivációt írnak le, de a jelenség patognomikus szerepe további vizsgálatokat igényel [7].

4. Vitatható a disszertáció ama megállapítása, hogy a DKD-s betegek vesepótló kezelése már 30 ml/perc/1,73 m² esetén megindítható lenne.

Elnézést kérek a félreérthető megfogalmazásért. A szövegben az előző mondattal együtt olvasva egyértelmű, hogy a megállapítás a transzplantációs várólistára helyezésre vonatkozik, melyet a Magyar Nefrológus Társaság és a Magyar Transzplantációs Társaság által írt, az Egészségügyi Közlönyben megjelent Szakmai irányelvekből vettem át. Ez a protokoll különbséget tesz a cukorbetegség és az egyéb eredetű veseelégtelenség kezelése között, DKD esetén 30, míg a többi esetben 20ml/perc/1,73m² GFR a listára helyezés határértéke [8]. Ugyanakkor fontos a helyreigazítás, mert napjainkra ez a definíció is revideálásra került, még ha a szabályzatba egyelőre nem is került be, de az új protokolltervezetben már egységesen 20 ml/perc/1,73m² fog szerepelni és ez a klinikai gyakorlat is. Fontos kiegészítés, hogy szimultán vese-hasnyálmirigy átültetés esetén a várólistára kerülése határértéke továbbra is magasabb; 25 ml/perc/1,73m².

5. A hiperglikémia modellezésére a Jelölt 35 mmol/l-es glükóz koncentrációt használt. A szokványos koncentráció 15-25 mmol/l. Miért döntöttek emellett az extrém magas érték mellett? Végeztek-e glükóz koncentráció függési vizsgálatot.

Bár a 35 mmol/l koncentráció valóban a magas kategóriába tartozik, több cikkben alkalmazzák ezt a kezelést, akár magasabbat is a hiperglikémia okozta celluláris toxicitás/apoptózis vizsgálatára. Esetünkben a magas koncentráció választásnak több oka volt.

Irodalmi adatok alapján a 45-44 mM *in vivo* vércukor, 30-35 mM D-glükóz koncentrációjú tápfolyadékkal korrelál [9]. Egy másik vizsgálatban, amelyik kifejezetten az ECM felszaporodás tanulmányozására irányult szignifikáns kollagén akkumulációt csak emellett a magas koncentráció mellett észleltek [10]. Az SGLT2 inhibitorok tanulmányozása szempontjából külön előnyt jelent, hogy alacsonyabb koncentráció mellett a proximális tubulusban az SGLT2 50%-os kapacitáson működik, és transzportmaximumát csak 35 mM –t meghaladó koncentráció mellett éri el [11]. Koncentráció függést nem, de időfüggéses vizsgálatokat végeztünk, ezeknek egy részét a dolgozat tartalmazza.

Professzor úr kérdéseinek megválaszolásához ismételten áttekintve az irodalmat, ugyanakkor arra jutottunk, hogy a továbbiakban megfontolandó revideálnunk a módszert és célszerű a jövőben akár több; alacsony, közepes és magas glükózkonzentrációkat alkalmazni.

6. Az eredmények ismertetését a diabetes és depresszióval foglalkozó adataival kezdi. Nem teljesen logikus a sorrend, mert a módszereke fejezetben a DKD-modell leírásával indított. A szigma-1 receptor agonista fluvoxamin a disszertáció metodikai részében kellően jellemzett molekula, amint nem lehet elmondani a NE100, szigma-1 receptor szelektív antagonistáról. Szerencsés lett volna néhány mondatban ezt megtenni arra való tekintettel, hogy több fejezetben is kiterjedten alkalmazta.

Az eredmények ismertetése követi a módszerek rész sorrendjét, ahol először a diabéteszes állatmodell került bemutatásra. Ugyanazt a modellt és kezelési protokollokat alkalmaztuk a diabéteszhez társuló depresszió, illetve vesekárosodás vizsgálatára is, a módszerekben volt csak eltérés.

Az NE100 valóban nem került részletes ismertetése. A fluvoxamin esetében azért más a helyzet, mert egy, a piacon lévő, eltérő hatásmechanizmussal és más indikációban használt gyógyszerről van szó, mely tulajdonságok diszkutálása részletesebb ismertetést igényel. Ezzel szemben az NE100 talán egyetlen lényeges jellemzője, hogy a Sigma-1 receptor specifikus antagonistája, melyet először 1999-ben Japánban szintetizáltak. $K_i = 1.03 \pm 0.01$ nM, S1R szelektivitása 205x-öse a SR2-nek.

7. A diabetes a szigma-1 receptor BDNF rendszer fehérjeszintjeinek csökkenését okozta az agyban, amit a fluvoxamin megfordított, és amely hatást az NE100 gátolt, de az mRNS szintjén ennek nem volt nyoma. A fehérjékben látott változásokkal parallel eredmények voltak láthatók a funkcionális vizsgálatokban is. Jelölt véleménye ezzel kapcsolatban az, hogy a fehérjék poszt-transzlációs módosulásai állhatnak a háttérben. Felmerül a kérdés, hogy milyen változásokra gondol.

Az érett mBDNF képződése komplex folyamat, melyben több poszttranszlációs módosító mechanizmus is szerepet játszik. Az értekezésben a pre-pro-BDNF proteolitikus hasításában résztvevő enzimeket, mint a furin, MMP4, TPA vizsgáltuk és diszkutáltuk részletesen (27, 82, 85 oldal), de csak a RAASi antidepresszáns hatását tanulmányozó kísérleteinkben. Igazoltuk, hogy DM-ben lecsökken a furin aktivitása, ami magyarázhatja az alacsonyabb BDNF szintet a cukorbeteg állatokban. Kimutattuk továbbá, hogy a RAASi kezelés hatására a furin szint a cukorbeteg állatokban magasabb a kezeletlen csoporthoz képest, ami annak fényében, hogy az angiotenzin II gátolja a furin termelődését nem meglepő, de terápiás szempontból érdekes [12]. A fluvoxaminos kísérleteket előbb végeztük, ezt a kérdést akkor még nem tárgyaltuk, és az irodalomban sincs erre vagy más SSRI-ra vonatkozó adat a proteolitikus enzimek tekintetében.

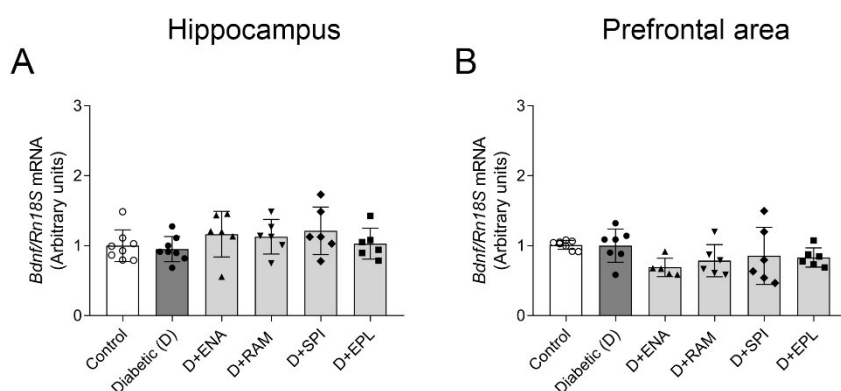
Korábban humán vizsgálatokban is felvetődött már a furin oki, ill. prognosztikus szerepe a DM kialakulásában. Leírták, hogy egy pontmutáció miatt a furin csökkent működése súlyos inzulin-rezisztens cukorbetegség kialakulásához vezet [13]. Egy másik, közel 5000 emberen végzett prospektív svéd tanulmányban a szérum furin változása korrelál a metabolikus szindróma és T2DM megjelenésével. [14].

Ugyanakkor a BDNF fehérje szintet más módosulások is befolyásolhatják, mint pl. a metiláció vagy a glikoziláció. Kimutatták, hogy depressziós betegek szérumában a BDNF IV exonjának metilációja csökken, és egyes vizsgálatok szerint ez befolyásolja az antidepresszáns készítmények iránti válaszkészséget is [15]. Más tanulmányok arról számolnak be, hogy a prekursor BDNF átalakulása során glikozilálódik, az ún. NXT/S helyen, és mivel ez a glikoziláció az összes neutrofinben azonos helyen történik, konzervatív, központi szerepe valószínűsíthető a proBDNF-mBDNF átalakulás során is [16]. Tekintettel arra, hogy a glikozilációs folyamatokat a hiperglikémia jelentősen befolyásolja – ahogy az saját vizsgálatainkban is láttuk- ez is egy elképzelhető, bár eddig az irodalomban nem vizsgált magyarázat lehet a BDNF csökkent szintjére

cukorbetegségben. Összességében számtalan faktor befolyásolja a neutrofinok termelődését és működését, mindet figyelembe venni szinte lehetetlen vállalkozás.

8. Ebben a modellben (STR-diabetes) az agyban a lozartán fluvoxamin-szerű fehérjehatást vált ki (82.o 29. ábra). Felmerül a kérdés, hogy az mRNA szinteket vajon mérték-e, és ha igen, abban volt-e változás lozartán hatására.

Feltételezem, hogy a BDNF –re vonatkozik Professzor úr kérdése. Az mRNA szintek változását egyik cikkünk reviewer-i kérésére lemértük, de a lozartános csoport ebben a közleményben nem szerepelt. A többi RAASi esetében sem a hippokampuszban, sem a prefrontális régióban sem változott a *Bdnf* mRNA szintje, sem diabétesz, sem a kezelések hatására. Mindezek alapján, illetve korábbi fluvoxaminos kísérleteink alapján feltételezzük, hogy a lozartános csoportban sem történik mRNA szintű változás.



1. ábra A BDNF mRNA szintje változatlan diabéteszes állatok hippokampuszában és prefrontális kortexében. A *Bdnf* mRNA expressziót kontroll, vehikulum (D) enalapril (D+ENA) ramipril (D+RAM) illetve spironolakton (D+SPI) vagy eplerenon (D+EPL) kezelt diabéteszes állatokban mértük. A teljes RNs mennyiségét a *Rn18S*, mint belső kontroll arányában határoztuk meg. Az oszlopok átlag±SD-t jelölnek az adatokat egyutas ANOVA-val értékeltük Holm-Sidak, Kruskal-Wallis és Dunn korrekcióval kiegészítve (n=8 kontrol és diabéteszes és n=6 kezelt csoportokban).

9. Nagy jelentőségű megfigyelés az, amit a RAAS-gátlás és a csökkenő depresszió kockázat közötti lehetséges kapcsolatra hívja fel a figyelmet. Szép alapkutatói adatokkal támasztja alá a hipotézisét. De vajon más gyógyszerek, amelyek ugyanígy a szisztémás szubklinikus gyulladás mérséklését okozzák, mint pl. a statinok, vagy az alacsony dózisú aspirin, létrehoz-e hasonló hatást? Lehetséges-e ezek és az antidepresszánsok közötti addíció a depressziót illetően?

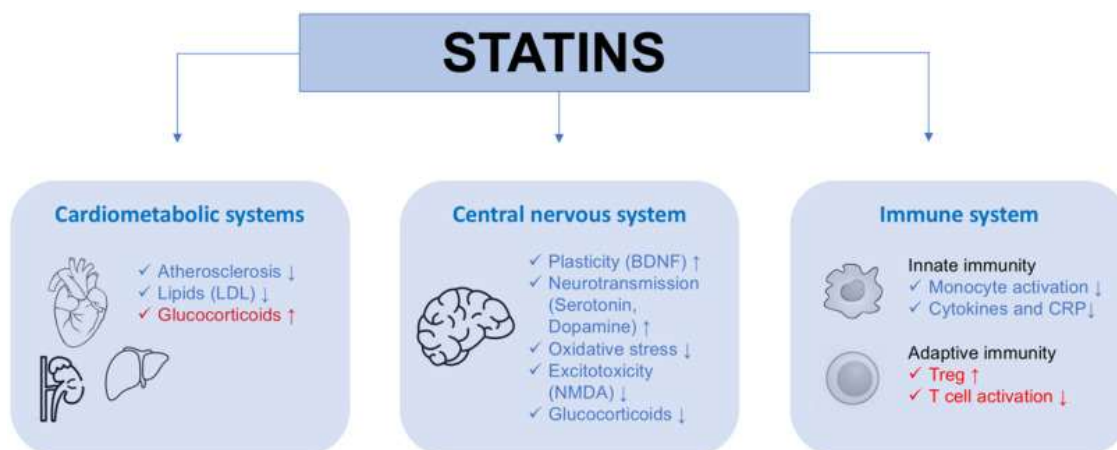
Saját kísérleti eredményeink nincsenek, az irodalom azonban kiterjedten tárgyalja a kérdést mindkét hatóanyag esetében. Az egyik potenciális hatásmechanizmusa a készítményeknek, a Professzor úr által is felvetett szubklinikus anti-inflammatorikus tulajdonság. Az első klinikai megfigyelések már a 90-es években megjelentek, azonban komolyabb klinikai tanulmányok csak az utóbbi pár évben történtek.

Az aszpirinnal kapcsolatos korábbi adatokat összegezi egy 2019-ben megjelent meta-analízis. Ebben közel 14000 közlemény átvizsgálását követően, végül 6 tanulmány (két randomizált, placebo kontrollált, kettős vak, kis betegszámú és 4, nagyobb betegszámú retrospektív vagy longitudinális kohort) elemzésével a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a kisdózisú aszpirinkezelés (80-100mg/nap) jól tolerálható és mérsékli a depressziós tüneteket [17]. Ugyanakkor a tavaly megjelent, kettős vak, randomizált, placebo-kontrollált, közel 20 000 betegen végzett ASPREE tanulmány eredményei alapján, idős betegekben, napi 100 mg aszpirin szedése nem csökkentette a depressziós tünetek megjelenését. Az adatok tehát továbbra is ellentmondásosak, további vizsgálatokra van szükség [18].

A statinokat illetően egy kiváló tavalyi közlemény összegzi a preklinikai, klinikai és epidemiológiai vizsgálatok eredményeit [19]. A statinok potenciális antidepresszáns hatásának komplex mechanizmusát az

alábbi ábra mutatja. Jól áttekinthető, egyértelmű, részletes ismertetésétől eltekintek, de egy dologra felhívnám a figyelmet.

A BDNF emelkedését a statinok az egyik proteolitikus hasítóenzim, a tPA aktivitásának és mennyiségének növelésével fejtik ki. Bár fluvoxaminnal nem, de a RAAS gátlókkal végzett kísérleteinkben a kezelések csak a furin, és az MMP3 szintjét növelték a tPA változatlan maradt. Ezek alapján akár feltételezhető az is, hogy a számos szisztémás hatás mellett (pl. anti-inflammatorikus, oxidatív stressz mérséklő stb.) a statinok a központi idegrendszer neuronjain közvetlenül hatva növelik a BDNF termelődését és így is kifejtik antidepresszáns tulajdonságukat [20].



2. ábra A statinok potenciális antidepresszív hatásának lehetséges mechanizmusai [19]

A klinikai vizsgálatok adatai nem egyértelműek. Tizenhat, major depresszióban szenvedő, vagy szubklinikai depressziós tüneteket mutató betegen végzett RCT tanulmány elemzése során három vizsgálatban a statinokat SSRI típusú gyógyszerek (fluoxetine ill. citalopram) mellé adták (fluvoxaminnal nem történt mérés) [19]. Mindhárom klinikai study Iránban készült, kis esetszámú (<100 beteg) populáción, 6-12 hét követési periódussal. Összesítve a három tanulmányt megállapították, hogy a kombinált kezelés a depresszióra jellemzésére használt Hamilton-score-t csökkenti, és kombináció biztonsággal alkalmazható (korábbi esettanulmányok a rhabdomyolízis megnövekedett kockázatáról számoltak be). Az eredmények az additív hatás tekintetében tehát biztatóak, ugyanakkor hangsúlyozandó, hogy ezek kis esetszámú, szelektált populáción végzett mérések, így mindenképpen további vizsgálatokra van szükség a biztonságos és hatékony klinikai bevezetés megkezdéséhez.

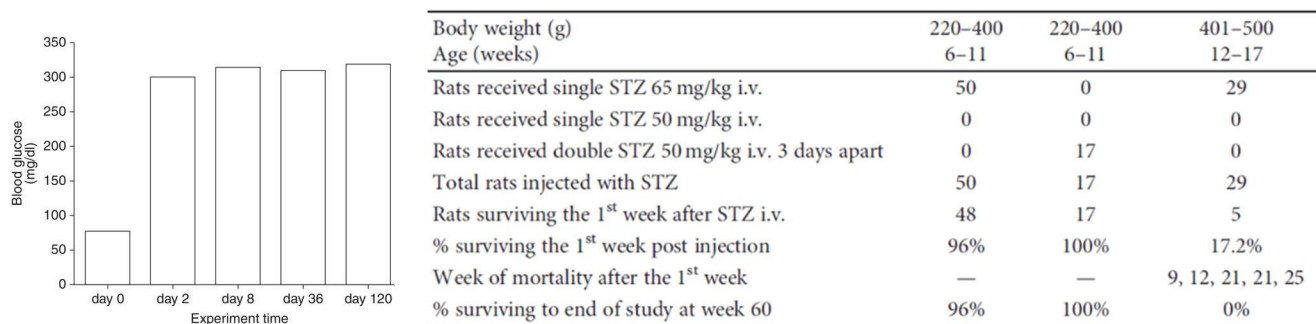
10. A DKD-kezelésével foglalkozó munkáinak RAAS gátlással kapcsolatos része jól bemutatja a RAAS-gátlók kedvező antifibrotikus vesehatását. De mi a helyzet hormonstimuláció esetén? Történt-e pl. inzulin stimuláció? Itt felmerül egy alapvető hibája az STZ diabetes T1DM modellnek. Amennyiben inzulinnal nem szupplementáljuk az állatokat gyorsan elpusztulnak. Amennyiben inzulint adunk már nem csak hiperglikémiás, hanem hiperinzulinémiás modell is, hiszen az inzulint szubkután adjuk. Mi és hogyan történt a Jelölt modell-kísérletei során?

Ez a modell, az egyik legáltalánosabban elterjedt rágcslómodell a DKD kísérletes tanulmányozására, mely megfelel az Animal Models of Diabetic Complications Consortium (AMDCC) ajánlásainak (<https://www.diacomp.org/shared/protocols.aspx>), úgy mint albuminuria, struktúrális elváltozások (mezangiális mátrix proliferáció, glomeruláris bazálmembrán megvastagodása, arteriolás hialinózis, tubulointersticiális fibrózis), és alkalmas, mind a T2DM, mind a T1DM következményeként kialakuló renális károsodás vizsgálatára.

A modell használhatósága és sikeressége számos tényezőtől függ, az STZ dózistól, az állatok korától és fajtájától, az STZ oldószertől stb. Az általunk is használt 65 mg/tskg az egyik legelterjedtebben használt dózis, mely hosszútávon stabilan magas vércukrot eredményez [21]. Az inzulinkezelés hiánya által lehetővé válik, hogy a hiperglikémia, mint önálló kockázati tényező (pl. inzulinrezisztencia, obesitas, kardiovaszkuláris elváltozások, hipertónia nélkül) tanulmányozható.

Az általunk alkalmazott modellben sem történt inzulinkezelés, ahogy az a disszertáció 54-55 oldalán leírásra is került. Az inzulin-kezelés hiánya nyilván felgyorsítja a hiperglikémia következtében létrejövő szervkárosodásokat és növeli a mortalitást, de gyors elpusztulás nem áll fenn, ha fiatal felnőtt állatokon végezzük az indukciót. Ezt tükrözi a Journal of Diabetes Researchben megjelent összehasonlító vizsgálat is, amely alapján jól látszik, hogy 400 gramm alatt, az összes állat túléli a vizsgálati periódust [22]. Saját kísérleteinkben (54.o.) az állatok testtömege az STZ beadásakor 180-230 gramm között volt, tehát megfelelt a stabil populációnak.

Természetesen – ahogy a preklinikai modellek esetében általában – ez a kísérleti felállás is csak limitációkkal alkalmas egy komplex, humán betegség modellezésére, illetve a szövődmények vizsgálatára.



3. ábra A. Éhomi vércukorszint változása a 65mg/tskg STZ beadását követő adott napokon.[21]. **B.** A mortalitás függ a patkányok STZ-indukciókor betöltött életkorától [22] (STZ-streptozotcin).

11. Hasonló a kérdésem a Na-K ATPázról is. A Na-K-ATP-áz enzim az intracelluláris, citoszolikus kompartmentből az inzulin hatására kerül a sejtmembránba és itt fejt ki iontranszport hatását. Tehát, hogyan viszonyult a Na-K-ATPáz vizsgálat a diabéteszes modellhez? Történt-e inzulinkezelés és ha igen, akkor az hogyan viszonyult a 102.oldalon, az 53.ábrán látható eredményekhez?

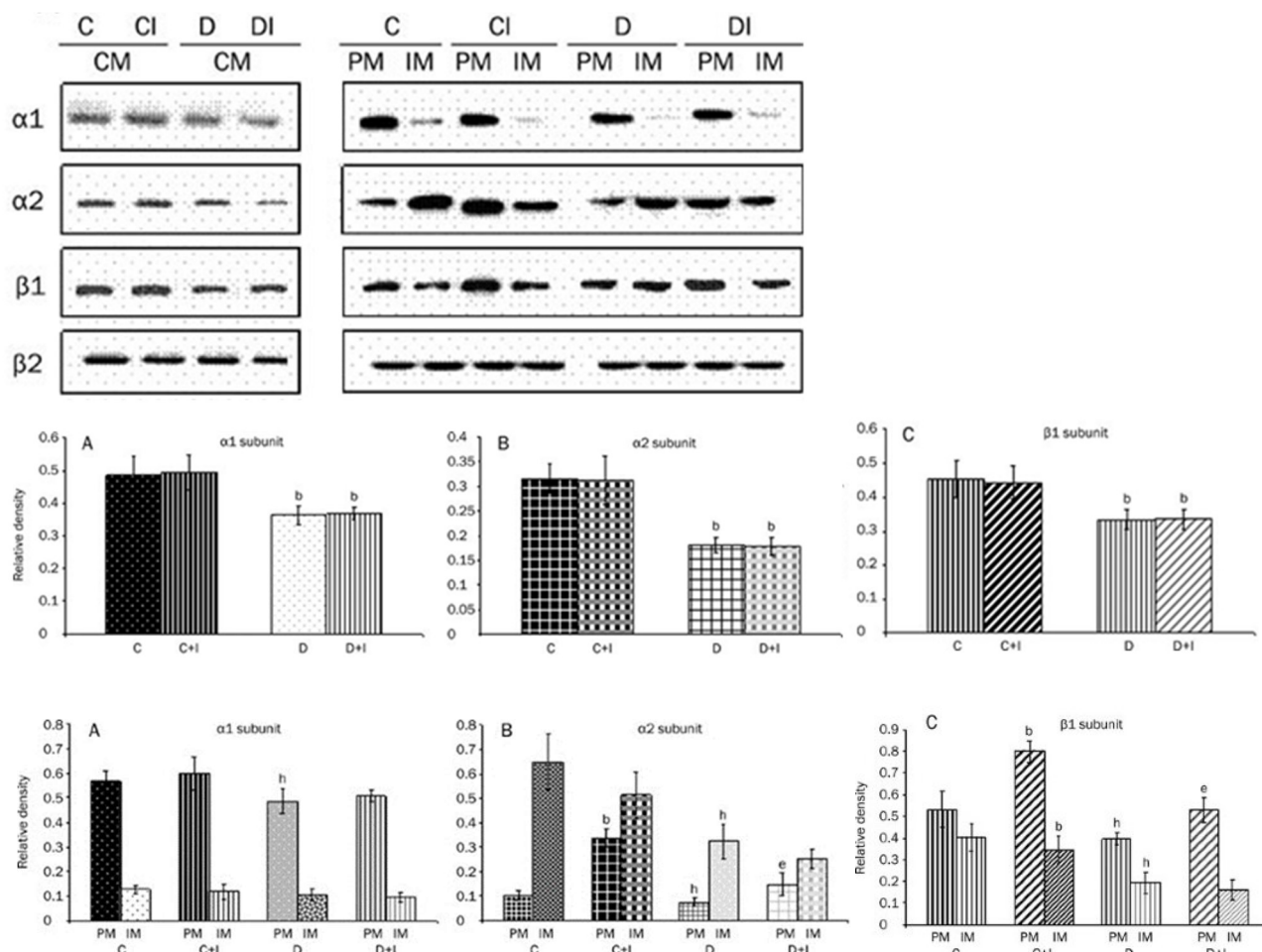
Ahogy az előző válaszban írtam, ezekben a kísérletekben nem alkalmaztunk inzulinkezelést. A szívet illetően korábban Dr. Vár Ágota docens asszony vezetésével, Dr. Rosta Klára hallgatómmal végeztünk erre vonatkozó méréseket, az eredményeket és a publikációt az a disszertációba nem tettem be [23].

Az inzulin kezelés hatását a Na⁺/K⁺-ATPáz alegységek intracelluláris megoszlására lépcsőzetes szacharóz gradiens centrifugálással elválasztott szubcelluláris frakciókban (plazmamebrán (PM) és intracelluláris membránokhoz asszociált (IM)) Western blot analízissel vizsgáltuk.

A K és a D szívizomban az $\alpha 1$ izoforma nagy része a PM-hoz kötötten helyezkedett el, mennyisége diabétesz hatására 17,3%-kal csökkent a kontrollhoz képest. Az $\alpha 2$ izoforma mind a kontroll, mind a diabéteszes szívizom IM frakciójában található. Diabéteszben ennek az alegységnek relatív mennyisége 40,2 % -kal ($p < 0,01$) csökkent. A β alegység izoformák mindkét membránfrakcióban kimutathatóak voltak, a $\beta 1$ alegység nagyobb mértékben fejeződött ki szívizomban, mint a $\beta 2$ izoforma (ábrán nincs

bemutatva). Diabétess hatására a $\beta 1$ izoforma mennyisége a PM-ban 25,9 %-kal ($p < 0,05$) az IM frakcióban 51,8 %-kal ($p < 0,01$) csökkent.

A Na^+/K^+ -ATPáz alegységeinek transzlokációját 20 perccel az akut inzulin kezelés után is vizsgáltuk. Inzulin hatására az $\alpha 1$ alegység sejten belüli elhelyezkedésében nem észleltünk változást. Az $\alpha 2$ és a $\beta 1$ alegységek mennyisége K szívizomban inzulin hatására a PM-ban 3,3-szorosára ($p < 0,01$) illetve 1,51-szeresére ($p < 0,01$) növekedett. DM-ban kevésbé kifejezett $\alpha 2$ és $\beta 1$ transzlokációt tapasztaltunk (1,92-szeres ($p < 0,01$) és 1,34-szeres ($p < 0,01$)).

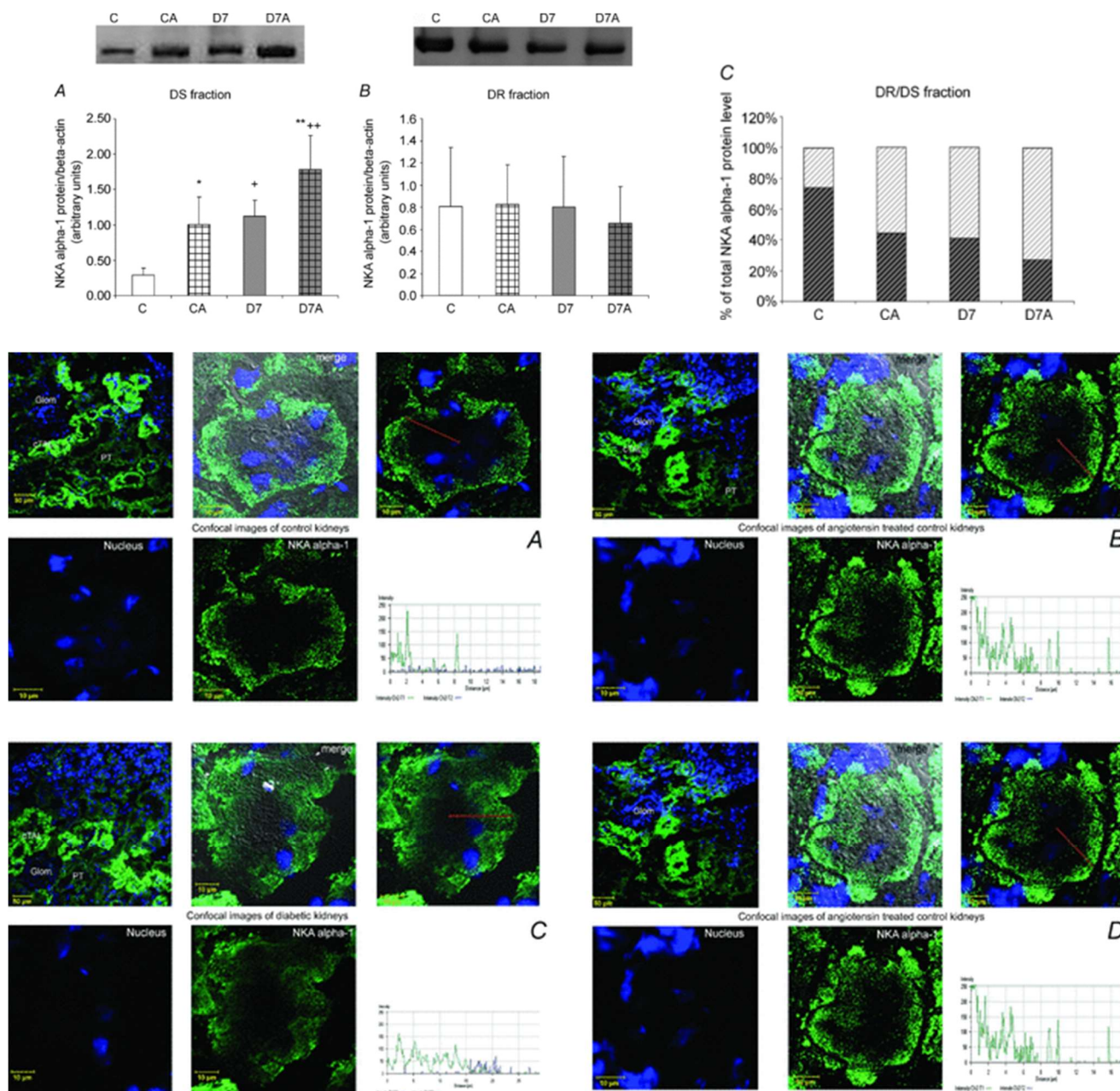


4. ábra Reprezentatív immunoblot képek Na^+/K^+ -ATPáz $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$ alegységek eloszlásáról kontroll és diabéteszes állatok szívében. Kontroll (C), Kontroll+inzulin (CI), STZ diabétesz (D), STZ diabétesz +inzulin (DI). A: Fehérje tartalom, a szeparált plazma membrán (PM) és intracelluláris membrán (IM) frakciókban $p < 0,05$ vs. kontroll [23]

Vizsgálataink szerint diabéteszben szívizomban akut inzulin adagolás hatására nagyobb mértékű intracelluláris Na^+/K^+ -ATPáz aktivitás csökkenés figyelhető meg, mint a plazmamembránban mért növekedés. Úgy tűnik, hogy diabéteszben az inzulin hatás összességében csökkent mértékű és a mozgósított Na^+/K^+ -ATPáz egy része transzlokáció közben "elveszik". Ennek a megfigyelésnek a hátterében elképzelhető az a magyarázat, hogy az aktív pumpafunkcióhoz mindkét alegység szükséges. A nem katalitikus alegységek közül a $\beta 1$ alegység kifejeződése nagyobb mértékben csökken cukorbetegségben, mint az $\alpha 2$ alegységé.

A $\beta 1$ alegység nagyrészt a plazmamembránhoz kötve heterotetramert képez az amúgy is túlsúlyban lévő $\alpha 1$ alegységgel és az $\alpha 1\beta 1$ összetételű Na^+/K^+ -ATPáz kisebb mértékben reagál az inzulin hatásra. Felmerül, hogy a $\beta 1$ alegység mennyiségének nagymértékű csökkenése szab gátat a kihelyeződésre alkalmas hetero-tetramerek kialakulásának. Mindezek azonban feltételezések, konkrét bizonyításukra további vizsgálatok kellene.

A vesét illetően saját kísérleteket diabéteszben csak az angiotenzin II kezelésre vonatkozóan végeztünk és közzeltünk a J Physiology-ban, ezeket szintén nem mutattam be a disszertációban [24]. Igazoltuk, hogy mind a diabétesz, mind az ANGII kezelés növeli a Na⁺/K⁺-ATPáz fehérje összmenyiségét és az IM frakcióba történő transzlokációját, azonban ez nem jelenti, hogy az enzim fiziológias pumpafunkciót lát el.



5. ábra Reprezentatív immunoblot és fluoreszcens immunhisztokémiai képek a Na⁺/K⁺-ATPáz α1 fehérjeszintek változása a szolubilis citoszól (DS), és a membrán (DR) frakcióban kontroll és diabéteszes kezletlen és angiotenzin II-vel kezelt állatok vesejében.

A vesében inzulin-hatásra vonatkozóan ellentmondásos adatok vannak már önmagában a Na⁺/K⁺-ATPáz összaktivitás és fehérje-változás tekintetében is. Egy 2020-ban megjelent összefoglaló közleményben [25] leírják, hogy általában a rövid távú (<30 min) inzulinkezelés növeli, míg a 24 órát meghaladó kezelés csökkenti a nátrium-pumpa aktivitását. Az inzulin Na⁺/K⁺-ATPáz-az transzlokációt vizsgáló sejten belüli hatásáról irodalmi adatot nem találtam és egyelőre nem tervezünk erre vonatkozó saját méréseket sem.

12. Remekül egybevág a klinikumban tapasztalt, az SGLT2 –gátlókezelés kezdetén észlelt eritropoetin-emelkedéssel a 109 oldalon található 60.ábra mondanivalója. A klinikumban az eritropoetin-szint emelkedése csak az SGLT-2 gátlókezelés első periódusában észlelhető, utána visszatér a kiindulási értékére, ellenben a hematokrit-emelkedés változatlan marad, változatlan hemodinamikai viszonyok (volumenstátusz) mellett. Hogyan illeszthetők be ezek a klinikai tapasztalatok az alapkísérleti modelljébe?

A klinikai adatok alapján, mind a cukorbetegség, mind a krónikus veseelégtelenségben szenvedő betegekben csökken az eritropoetin termelés, következményesen anémia alakul ki. Ahogy Professzor úr is írja, ismert, hogy az SGLT2i kezelés javítja a hematokrit és hemoglobin értéket. Ugyan logikus lenne, hogy ez hematokrit emelkedés az SGLT2i kezdeti diurézis fokozó hatása miatti hemokoncentrációnak köszönhető, de a klinikai adatok alapján is egyértelmű, hogy nem csak erről van szó.

Az EPO termelést az újabb eredmények szerint a proximális tubuláris sejtek mellett, nagyobb részben az intersticiális fibroblaszt- szerű renal erythropoietin-producing sejtek végzik (REPs) Tubuláris hipoxia esetén ezek a sejtek miofibroblasztá transzformálódnak, és a továbbiakban nem vesznek részt az EPO termelésben [26], ez okozhatja pl. diabéteszben az EPO hiányt.

Thiele és mtsai 2021-ben megjelent, randomizált, placebo kontrollált klinikai vizsgálata még inkább egyértelműsíti ezt a hipotézist. Kimutatták, hogy az empagliflozin indukált cukor-ürítés, azaz a tubuláris sejtek alacsonyabb glükózfelvetele és következményes enyhébb oxigénigénye (mérsékeltebb hipoxiája) erős korrelációban ($p < 0,08$) van az EPO szinttel és a hemoglobin értékekkel. A korreláció azonban a kezelés kezdeti szakaszában nem; csak később a 3 hónaptól kezdve mutatható ki [27].

Alapkísérletes eredményeink jól alátámasztják, hogy a gliflozinok a tubuláris hipoxia mérséklésével javíthatják az EPO termelést és mérsékelhetik a renális anémiát. Sajnos technikai okok miatt (a laboratóriumi vér analizáló automatát a rácsáló minták eltömítik) az állatokban sem a Hgb, sem a Htk értékek mérésére nem volt lehetőség a kísérletek folyamán, pedig érdekes kérdés lenne párhuzamosan figyelni a volumenstátusz, a Hgb és Htk értékek és az EPO szint időbeli lefutását az SGLT2i kezelés során.

13. Igazolta, hogy a fluvoxamin javította a vesefunkciót, csökkentette a mezangiális mátrix túltermelést és a renális fibrózist. Felmerül a kérdés ezek alapján, hogyan befolyásolja a fluvoxamin a mezangiális mátrix expanszióját, ha a szigma-1 receptor nem expresszálódik a glomerulusban, csak a tubuláris sejtekben?

A mezangiális mátrix expansziója komplex folyamat eredménye, melyben a glomerulust alkotó számos sejtípus részt vesz. A mezangiális sejtek proliferációja és hipertrófiája, miofibroblasztá differenciálódása, illetve az általuk is termelt ECM komponensek felszaporodása több patognomikus tényező eredménye (csak néhány közülük: profibrotikus faktorok (TGF β , CTGF, PDGF), angiogenetikus faktorok (VEGF, stb), proinflammatorikus citokinek). A fluvoxamin kezelés lokális és szisztémás hatásai egyaránt befolyásolhatják ezeknek a faktoroknak a szintézisét, még akkor is, ha a S1R a mezangiális sejteken közvetlenül nem expresszálódik. Hasonló az SGLT2 gátlók hatásmechanizmusa is, az SGLT2 sem expresszálódik a glomerulusban, gátlószerei mégis mérséklék a mezangiális mátrix proliferációt.

Saját kísérleteinkben is kimutattuk, hogy a FLU csökkenti az epithélsejtekben a profibrotikus faktorok expresszióját, illetve a rezidens fibroblaszt-miofibroblaszt átalakulást és ezáltal az ECM termelődést (pl. 114 o.). Igazoltuk továbbá, hogy a FLU kezelés csökkenti a proinflammatorikus citokinek szintjét, ami közvetve szintén hozzájárul az enyhébb mezangiális proliferációhoz.

14. Lehet-e direkt összefüggés a női nemi hormonok, a magasabb szigma-1 receptorfehérje-szint és az Akt foszforiláció, valamint a megtartott Na-K ATPáz fehérjeszint között, amint azt a bevezetésben a jelölt sugallta? Továbbá felmerül annak lehetősége, hogy az antikoncipiens-kezelés ezt befolyásolhatja? Amennyiben igen, milyen irányú változás antikoncipiens hatására?

A 118 oldalon. szereplő kísérletben az ovariectomia hatására a S1R mennyisége lecsökkent a hím állatokéra, a különbség még kifejezettebb volt az iszkémiás inuzultust követően. Véleményem szerint ez az eredmény, kiegészítve a 117 oldalon, az ösztrogén proximális tubuláris sejteken a S1R transzlokációra kifejtett hatásával, illetve a hatás elmaradásával NE-100 esetén kielégítő adat az ösztrogén-S1R közvetlen hatás alátámasztására. További kísérletekben kimutattuk, hogy a S1R gátlása, gátolja az Akt foszforilációt (125 o.), illetve, hogy ösztrogén hiányában (ovariectomia) is elmarad a pAkt növekedése (118 o.).

A folyamat többi lépésére saját kísérletes adataink nincsenek, az erre vonatkozó irodalom is kevés. Vesét illetően összesen két adat van. Leírják, egyrészt hogy az Akt szubsztrát AS160 közvetlenül részt vesz a Na/K ATPáz sejt felszíni expressziójában [28], illetve hogy renális iszkémiát követően az AS160 kapcsolat befolyásolja a pumpa intracelluláris redisztribúcióját [29].

Az Akt gátlás és Na/K ATPáz aktivitás direkt bizonyítására vonatkozó eredményt csak tüdő epithélsejtben találtam. A korábbiakban IRI kísérletekben általunk is használt Akt VIII inhibitor hatására csökkent az enzimaktivitás és a plazmamebránhoz kötött Na/K ATPáz mennyiség (transzlokáció indirekt növekedése az Akt gátlás miatt) [30]. A további direkt összefüggéseket csak minden egyes jelátviteli lépés egyéni, majd kombinációban történő, szelektív specifikus gátlásával lehetne bizonyítani, ami rendkívül bonyolult kísérleti felállásokat tesz szükségessé még *in vitro* körülmények között is, mindezek feltérképezése nem volt célunk a vizsgálatokban.

Hasonló a helyzet a fogamzásgátlók vonatkozásában is, különös tekintettel arra, hogy a progeszteron és az ösztrogén ellentétesen hat a S1R affinitására. Míg az ösztrogén agonista, addig a progeszteron enyhén ugyan, de antagonizáló hatású. Mindezeket figyelembe véve az egyes fogamzásgátló csoportok (kombinált készítmények vs. csak progeszteron tartalmú gyógyszerek) önálló kísérleti és klinikai elemzést igényelnének.

15. Látna a szigma-1 receptor és az inzulin-receptor intracelluláris jelátvitelére közös vonásai és ismerve az inzulin jelátvitel zavarát oxidatív stressz hatására (inzulin rezisztencia), felmerül a kérdés, hogy létezik-e szigma-1 receptor jelátviteli zavar, azaz szigma-1 receptor rezisztencia?

Egyetlen olyan irodalmi adatot találtam, amely a S1R jelátvitel zavarát írja le, bár szigorúan rezisztenciának ez sem tekinthető. A S1R-nak, ahogy azt a disszertáció 29-30 oldalán részletesen leírtam több transzmembrán domainje van, melyek egyes szakaszai önmagukkal kapcsolódva oligomert tudnak képezni. Az S1R-nek számos oligomer variációja van, az oligomer forma feltétele a ligand kötésnek, de nem tisztázott, hogy melyik ligand - melyik oligomerhez kötődik és van-e valamilyen szabályozottság ebben. Úgy tűnik, hogy az antagonisták a nagyobb oligomereket részesítik előnyben, míg az agonisták a kisebbeket. Az oligomerizáció, és így a ligandkötés feltétele, GXXXG motif megléte, ennek mutációjában elmarad az oligomerizáció és a kötődés, tehát a receptor nem tudja ellátni a funkcióját.[31]

Egyetlen olyan állapotot igazoltak eddig, amikor a S1R E102Q mutációja következtében létrejövő hibás szerkezetű receptoron az oligomerizáció nem történt meg, és ez motoneuron funkciózavart eredményezve amiotrófiás lateralszklerózisban manifestálódott [32]. Ennek mintájára elképzelhető más mutáció vagy szerkezeti zavar is mely S1R rezisztenciát okozhat, azonban egyelőre több irodalmi adat nem áll rendelkezésre.

16. Felmerül a kérdés, hogy kialakul-e fluvoxamin rezisztencia az iszkémia reperfüzió hatására, azaz hogyan változik a hatékonysága, ha az iszkémia-reperfúzió közben adjuk? Ennek nyilván nincs jelentősége transzplantáció során, hiszen a szigma-1 receptor agonistával elő lehet kezelni, de fontos lehet a natív, in situ vese iszkémiás károsodás után.

Erre vonatkozó irodalmi adat nincs, nem csak a vese esetében, de más szervben sem. A kísérletekben minden esetben az iszkémiás inzultust megelőzően adták a kezelést.

Tekintettel arra, hogy semmilyen irodalmi adat nem volt a vesét illetően, mielőtt megkezdjük a fluvoxaminos IRI modellt, előkísérleteket végeztünk (N=5/csoport) az ideális dózis, illetve kezelési protokoll beállítására. Három különböző kezelést alkalmaztunk (i) kezeletlen-VEH (ii) 2mg/tskg 30 perccel az inzultus előtt – FLU2, (iii) 20 mg/tskg 30 perccel az inzultus előtt - FLU20, (iv) 20 mg/tskg 2x, először 30 perccel az inzultus előtt, majd a reperfüzió első órája végén- FLU40. 24 óra múlva szokásos protokoll szerint leöltük az állatokat, értékeltük a laboratóriumi paramétereket és a hisztológiai elváltozásokat.

	kreatinin (μmol/L)	karbamid (mmol/L)	Trombocita ($\times 10^9$/L)	tubulus károsodás (score)	glom.károsodás (score)
VEH	356,67	46,42	1244,83	8,2	2,8
FLU2	325	44	1119	7,4	1,3
FLU20	318, 13	42,00	904,71	7,1	1,1
FLU40	324,00	40,30	828,50	7,0	1,8

A pilot kísérletek után megállapítottuk, hogy a kétszeri adagolás az akut szakban nem hoz jelentős javulást a mért paraméterekben (számos más értéket is mértünk, ott a kontroll vs. IRI inzultuson átesett csoportok között sem volt különbség ezért nem mutattam be itt sem). Mindezek alapján döntöttünk, az egyszeri, a noxát megelőző adagolás mellett. A következő lépés valóban az lenne, hogy megvizsgáljuk, hogy a károsodást követően adva, hogyan alakul a renoprotektív hatás. Ezekre a vizsgálatokra a jövőben sort fogunk keríteni, egyelőre más irányba folytattuk a kísérleteket.

17. Iszkémiában az oxigénhiány miatt sem az NO, sem a CO nem termelődik normális mennyiségben, reperfüzióban pedig a fokozott szuperoxid szabadgyök-képződés miatt, a termelődött NO a szuperoxid szabad gyökkel peroxinitritet képez, ami vazokonstriktor. Ismert viszont, hogy hipoxiában a H2S-út vonal intakt marad és átveszi az NO-CO-út vonal vazodilatációs szerepét. Van-e arra adat, hogy a fluvoxamin hogyan befolyásolja H2S képződését?

A kérdést a hatámechanizmust figyelembe véve valóban nagyon aktuális, logikus, releváns, azonban semmilyen erre vonatkozó adatot nem találtam az irodalomban. A H2S-t az elmúlt pár évben kezdték vizsgálni a depresszió patomechanizmusában. Kimutatták, hogy a hippocampusban serkenti a TrkB receptort és így antidepresszáns hatású célmolekulaként is felvetődött a szerepe [33]. Ennek ellenére még a központi idegrendszeri folyamatokban sincs irodalma sem a fluvoxamin, sem más S1R agonista vagy SSRI készítmény H2S hatásának. Nagyon érdekes új kutatási terület lehet, köszönöm az ötletet.

18. A fluvoxamin jelátviteléből kiindulva (Akt aktiváló hatását figyelembe véve, amely az inzulin-jelátvitelében is szerepel és döntő az inzulin vércukorcsökkentése szempontjából) inkább hipoglikémizálónak kellene lennie. Hogyan látja a kérdést a jelölt?

Egyetértek Professzor úrral és ezt támasztják alá a kísérletes adataink is. A disszertáció 111 oldalán található 13. táblázatból látszik, hogy a FLU kezelés (még a 2 mg/tskg is) csökkentette a vércukorszintet, érdekes azonban, hogy a fruktózin értékeket nem befolyásolta. Ugyanakkor úgy tűnik, hogy ez a hipoglikémizáló hatás a kontrollokban nem érvényesült (az adatok a disszertációban nem szerepeltek: kontroll: $17,8 \pm 3,34$ mmol/l, kontroll + FLU: $18,06 \pm 4,89$ mmol/l).

Konkréten a fluvoxaminra vonatkozóan az irodalomban még egy tanulmány találtam a disszertációban említett két cikkhez képest. Ebben clozapin terápiában részesülő skizofréniás betegeken kimutatták, hogy a clozapin fluvoxaminnal történő kiegészítése esetén nem csak a pszichotikus tünetek mérséklődnek, de csökken az inzulinrezisztencia és a vércukor-szint, illetve fokozódik a súlycsökkenés is a betegekben[34]. Ez eredetileg nem diabéteszes populáció, a szénhidrátanyagcsere-zavart a clozapin kezelés mellékhatásának tulajdonították, de a kombinációs kezelés kedvező hatása így is érvényesült.

Ugyanakkor megjelent egy érdekes 16 közleményt összefoglaló meta-analízis is az SSRI-ok szénhidrátanyagcserét befolyásoló hatásáról [35], amiben kimutatták, hogy az SSRI terápiában részesülő betegekben csökkent a vércukorszint, de csak a diabéteszes szubpopulációban. Az érdekesség az, hogy az egyes kezelésekre vonatkoztatva a legerősebb összefüggés a fluoxetine, majd a citalopram, escitalopram esetében volt, míg a paroxetin nem hatott a szénhidrát-anyagcserére. Ez a sorrend a hatásereőségben megegyezik az adott SSRI-ok S1R kötő affinitásával. A fluvoxamint ebben a tanulmányban a kis esetszám, illetve a kombinációs kezelés miatt külön nem vizsgálták.

19. A FIDELIO vizsgálatban a finerenont már a meglévő RAS gátlás mellé adták. A klinikai és a saját adatok alapján mi a jelölt vélemény az ACEI+MRB vagy az ARB+MRB kombinációs kezelés DKD-ban történő alkalmazásáról? Továbbá lehet-e a jövőben eme kombinációkat preferálni depressziós betegek esetében?

Saját adatainkból kiindulva úgy gondolom, hogy a kombinációs kezelésnek van létjogosultsága. Az in vitro és in vivo eredményeink egyaránt megerősítik, hogy a hiperglikémia indukált fibrózis mechanizmusában az MRB szerek más támadásponton (is) hatnak, mint az ACEi-k vagy az ARB-k. In vitro vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a vese eredetű fibroblaszt sejtek profibrotikus faktorok által indukált proliferációját legnagyobb mértékben az eplerenon és a spironolakton védte ki és a sejtek SMA termelődésének csökkenése is az eplerenon csoportban volt a legkifejezettebb (95-96 o, 44-45. ábra). Mindezekkel párhuzamosan in vivo igazoltuk, hogy a renális PDGF és CTGF felszaporodást (91.o, 37 ábra) csak az MRB-k gátolták, és a fibronectin felszaporodás mérséklésében is ez a csoport bizonyult a leghatékonyabbnak. Mindezek alapján úgy tűnik, hogy a direkt antifibrotikus hatás tekintetében az MRB készítményeknek komoly szerepe lehet.

A FIDELIO vizsgálat eredményeit az értekezés beadását követően közölte a NEJM, így ezek a klinikai eredmények nem kerültek diszkutálásra. Ezt a vizsgálatot megelőzően is voltak olyan nagyrészt metaanalízisekből származó adatok, melyek felvetették, hogy az MRB-k adása jótékony a GFR csökkenés kivédése szempontjából, bár a proteinuria nem változott, ugyanakkor a hiperkalémia veszélye nőtt a kombinált kezelés esetén [36].

Bár a meta-analízisek relevanciája vitatott, a FIDELIO tanulmányban, randomizált, placebo kontrollált vizsgálati elrendezés mellett erősítették meg az MRB-k adásának additív előnyeit. A vizsgálati eredmények egyértelműen alátámasztották a kombinált kezelés előnyeit az elsődleges végpontok (GFR csökkentés, renális ok miatti halálozás), illetve egyes szekunder végpontok (kardiovaszkuláris események, sztróke, stb) esetében is. Mindezek mellett az akut vesekárosodással összefüggő mellékhatások gyakorisága nem, de a hiperkalémia előfordulása itt is emelkedett [37].

Azóta még egy placebo kontrollált vizsgálat született diabéteszes betegekben. Bár kis esetszámú és rövid követési periódust (8 hét) vizsgáló tanulmány: 15 CKD 2-3 stádiumú cukorbetegben nézték az eplerenon terápia hatását, marginálisan szignifikáns hatást ($p=0.08$) így is mértek a kreatinin-szint tekintetében. Érdekes eredmény emellett, hogy tömegspektrometriás módszerrel szérumból detektálták a betegek Ang I, Ang II, Ang(1-7) és aldoszteron szintjeit és megállapították, hogy az eplerenon kezelt csoportban az Ang I és az Ang (1-7) mennyisége nagyobb volt a placebo csoporthoz viszonyítva [38].

Ismerve az Ang (1-7) antiinflammatorikus, vazodilatatív és antifibrotikus hatásait, önmagában ez is magyarázhatja a kombinációs terápia nagyobb hatékonyságát. Fontos megjegyezni azonban, hogy az eplerenon hiperkalémizáló tulajdonsága, már ilyen rövid kezelési időtartamnál is egyértelmű volt.

Depressziós betegek esetében még indokoltabb az MRB kezelés, hiszen az aldoszteron szorongásnövelő és depressziós tüneteket fokozó hatása az elmúlt évtized állatkísérletes és klinikai vizsgálatai alapján talán már egyértelmű [39-42]. Egy idén megjelent klinikai tanulmányban igazolták, hogy primer aldoszteronizmusban szenvedő betegekben az MRB kezelés jelentősen javította a szorongásos panaszokat [42]. Mindezek alapján úgy gondolom, hogy a kombinációs kezelésnek helye van a diabéteszes szövödmények (vesekárosodás, depresszió) terápiájában, azonban további RCT vizsgálatok szükségesek és a káliumszint szoros monitorozása kiemelten fontos.

20. Ami a dapagliflozin és a RAAS gátlók együttadásának a kérdését illeti, amit a jelölt a 143.oldalon taglal, egyszerűnek tűnik, hiszen a nagy klinikai tanulmányok mindegyikében a betegek igen nagy része szedett RAAS-gátlót, így tehát ezek az RCT-k, ebből a szempontból kombinációs kezeléssel vizsgálatnak tekintendők. A kérdés talán inkább úgy merül fel, hogy az SGLT-2 gátlók vajon hatékonyak maradnak-e akkor, ha esetleg kiterjedtebben alkalmazzuk az ACEI+MRB vagy az ARB+MRB kezelést? Jelölt hogyan látja ezt a kérdést?

Kettéválasztanám a választ. A diszkusszió 143 oldalán nem azt diszkutáltam, hogy az SGLT gátlóval történő kombinációs kezelésnek van-e additív hatása a RAASi monoterápiához képest (hiszen erre a Professzor úr által is felsorolt vizsgálatok valóban választ adnak), hanem sokkal inkább azt, hogy az SGLT2 gátlókkal történő monoterápia renoprotektív hatékonysága hogyan viszonyul a kombinált kezeléshez. Hiszen azt várnánk, hogy további jótékony hatás lesz, ezzel szemben a mi kísérleti felállásunkban additív hatást nem találtunk. Erre a kérdésre viszont a fenti vizsgálatok nem adnak választ, hiszen a betegek igen nagy része már szedett RAASi-t az SGLT2 gátló terápia megkezdésekor. Olyan jelentős RCT vizsgálat tudomásom szerint továbbra sincs, ahol DKD-ban szenvedő betegeket csak SGLT2 gátlóval kezeltek és ezt hasonlították a kombinációs terápiához.

Ugyanakkor Professzor úr kérdésére válaszolva úgy gondolom, hogy az SGLT2 gátlószeres adásának kiterjedtebb ACEi+MRB duál blokádnál esetén is lehet jelentősége, az eltérő hatásmechanizmusok és targetpontok miatt. Erre utalnak a FIDELIO vizsgálat adatai is, melyek szerint a primer végpontokban a csoportok közötti eltérés a CREDENCE vizsgálatban kifejezettebb volt, (vagyis a GFR csökkenés >40%, a veseeredetű halálozás gyakorisága), mint a FIDELIO tanulmányban. Ez azt sugallja, hogy az SGLT2-vel történő kombináció hatékonyabb, mint a RAASi+MRB kezelés, de a konklúzióban számos tényező szerepet játszhat (eltérő betegpopuláció, eltérő design: a CREDENCE-ben MRB kezeltek nem lehettek, a FIDELIO-ban SGLT2-t kaptak igen, a CREDENCE-ben az elsődleges végpontok között kardioresztázis szempont is szerepelt stb.).

A rendelkezésre álló adatok alapján nem ítélem meg egyértelműen bármelyik kombinációs terápia szuperioritása a többivel szemben, az azonban egyértelmű, hogy komplex, holisztikus szemléletű kezelésre van szükség a hatékony renoprotekció eléréséhez.

Mégegyszer köszönöm a részletes bírálatot, bízom benne, hogy sikerült kielégítően megválaszolni Professzor úr kérdéseit.

Budapest, 2021. augusztus 30.

Tisztelettel:

Dr. Fekete Andrea

REFERENCIÁK

1. Nguyen, K.Q., V.V. Rymar, and A.F. Sadikot, *Impaired TrkB Signaling Underlies Reduced BDNF-Mediated Trophic Support of Striatal Neurons in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease*. Front Cell Neurosci, 2016. **10**: p. 37.
2. Lai, K.O., et al., *TrkB phosphorylation by Cdk5 is required for activity-dependent structural plasticity and spatial memory*. Nat Neurosci, 2012. **15**(11): p. 1506-15.
3. Mi, Y., et al., *EGCG ameliorates high-fat- and high-fructose-induced cognitive defects by regulating the IRS/AKT and ERK/CREB/BDNF signaling pathways in the CNS*. FASEB J, 2017. **31**(11): p. 4998-5011.
4. Liu, Z., et al., *High-fat diet induces hepatic insulin resistance and impairment of synaptic plasticity*. PLoS One, 2015. **10**(5): p. e0128274.
5. Wang, P.H., et al., *In vivo insulin signaling in the myocardium of streptozotocin-diabetic rats: opposite effects of diabetes on insulin stimulation of glycogen synthase and c-Fos*. Endocrinology, 1999. **140**(3): p. 1141-50.
6. Giorgino, F., J.H. Chen, and R.J. Smith, *Changes in tyrosine phosphorylation of insulin receptors and a 170,000 molecular weight nonreceptor protein in vivo in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats: effects of insulin and glucose*. Endocrinology, 1992. **130**(3): p. 1433-44.
7. Thirone, A.C., et al., *Modulation of growth hormone signal transduction in kidneys of streptozotocin-induced diabetic animals: effect of a growth hormone receptor antagonist*. Diabetes, 2002. **51**(7): p. 2270-81.
8. MANET and MTT, *Az Egészségügyi Minisztérium szakmai irányelve vese-transzplantációra való alkalmasság megállapításának szakmai szabályairól*. 2009.
9. Sun, L., et al., *Rap1b GTPase ameliorates glucose-induced mitochondrial dysfunction*. J Am Soc Nephrol, 2008. **19**(12): p. 2293-301.
10. Cortes, P., et al., *Role of glomerular mechanical strain in the pathogenesis of diabetic nephropathy*. Kidney Int, 1997. **51**(1): p. 57-68.
11. Hummel, C.S., et al., *Glucose transport by human renal Na⁺/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2*. Am J Physiol Cell Physiol, 2011. **300**(1): p. C14-21.
12. Tamura, Y., et al., *Water Deprivation Increases (Pro)renin Receptor Levels in the Kidney and Decreases Plasma Concentrations of Soluble (Pro)renin Receptor*. Tohoku J Exp Med, 2016. **239**(3): p. 185-92.
13. Yoshimasa, Y., et al., *Insulin-resistant diabetes due to a point mutation that prevents insulin proreceptor processing*. Science, 1988. **240**(4853): p. 784-7.
14. Fernandez, C., et al., *Plasma levels of the proprotein convertase furin and incidence of diabetes and mortality*. J Intern Med, 2018. **284**(4): p. 377-387.
15. Tadic, A., et al., *Methylation of the promoter of brain-derived neurotrophic factor exon IV and antidepressant response in major depression*. Mol Psychiatry, 2014. **19**(3): p. 281-3.
16. Mowla, S.J., et al., *Biosynthesis and post-translational processing of the precursor to brain-derived neurotrophic factor*. J Biol Chem, 2001. **276**(16): p. 12660-6.
17. Ng, Q.X., et al., *Clinical Role of Aspirin in Mood Disorders: A Systematic Review*. Brain Sci, 2019. **9**(11).
18. Berk, M., et al., *Effect of Aspirin vs Placebo on the Prevention of Depression in Older People: A Randomized Clinical Trial*. JAMA Psychiatry, 2020. **77**(10): p. 1012-1020.
19. Kohler-Forsberg, O., et al., *Statins in the treatment of depression: Hype or hope?* Pharmacol Ther, 2020. **215**: p. 107625.
20. Tsai, S.J., *Statins may enhance the proteolytic cleavage of proBDNF: implications for the treatment of depression*. Med Hypotheses, 2007. **68**(6): p. 1296-9.
21. Furman, B.L., *Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats*. Curr Protoc, 2021. **1**(4): p. e78.
22. Wang-Fischer, Y. and T. Garyantes, *Improving the Reliability and Utility of Streptozotocin-Induced Rat Diabetic Model*. J Diabetes Res, 2018. **2018**: p. 8054073.
23. Rosta, K., et al., *Insulin induced translocation of Na⁺/K⁺ -ATPase is decreased in the heart of streptozotocin diabetic rats*. Acta Pharmacol Sin, 2009. **30**(12): p. 1616-24.
24. Fekete, A., et al., *Na⁺/K⁺-ATPase is modulated by angiotensin II in diabetic rat kidney--another reason for diabetic nephropathy?* J Physiol, 2008. **586**(22): p. 5337-48.
25. Pereira-Moreira, R. and E. Muscelli, *Effect of Insulin on Proximal Tubules Handling of Glucose: A Systematic Review*. J Diabetes Res, 2020. **2020**: p. 8492467.
26. Souma, T., N. Suzuki, and M. Yamamoto, *Renal erythropoietin-producing cells in health and disease*. Front Physiol, 2015. **6**: p. 167.
27. Thiele, K., et al., *Effects of empagliflozin on erythropoiesis in patients with type 2 diabetes: Data from a randomized, placebo-controlled study*. Diabetes Obes Metab, 2021.

28. Alves, D.S., et al., *AS160 associates with the Na⁺,K⁺-ATPase and mediates the adenosine monophosphate-stimulated protein kinase-dependent regulation of sodium pump surface expression*. *Mol Biol Cell*, 2010. **21**(24): p. 4400-8.
29. Alves, D.S., et al., *Akt Substrate of 160 kD Regulates Na⁺,K⁺-ATPase Trafficking in Response to Energy Depletion and Renal Ischemia*. *J Am Soc Nephrol*, 2015. **26**(11): p. 2765-76.
30. Lei, J. and D.H. Ingbar, *Src kinase integrates PI3K/Akt and MAPK/ERK1/2 pathways in T3-induced Na-K-ATPase activity in adult rat alveolar cells*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011. **301**(5): p. L765-71.
31. Gromek, K.A., et al., *The oligomeric states of the purified sigma-1 receptor are stabilized by ligands*. *J Biol Chem*, 2014. **289**(29): p. 20333-44.
32. Al-Saif, A., F. Al-Mohanna, and S. Bohlega, *A mutation in sigma-1 receptor causes juvenile amyotrophic lateral sclerosis*. *Ann Neurol*, 2011. **70**(6): p. 913-9.
33. Hou, X.Y., et al., *Rapid Antidepressant Effect of Hydrogen Sulfide: Evidence for Activation of mTORC1-TrkB-AMPA Receptor Pathways*. *Antioxid Redox Signal*, 2017. **27**(8): p. 472-488.
34. Lu, M.L., et al., *Effects of adjunctive fluvoxamine on metabolic parameters and psychopathology in clozapine-treated patients with schizophrenia: A 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study*. *Schizophr Res*, 2018. **193**: p. 126-133.
35. Tharmaraja, T., et al., *The Association Between Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Glycemia: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. *Psychosom Med*, 2019. **81**(7): p. 570-583.
36. Alexandrou, M.E., et al., *Effects of mineralocorticoid receptor antagonists in proteinuric kidney disease: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. *J Hypertens*, 2019. **37**(12): p. 2307-2324.
37. Bakris, G.L., et al., *Effect of Finerenone on Chronic Kidney Disease Outcomes in Type 2 Diabetes*. *N Engl J Med*, 2020. **383**(23): p. 2219-2229.
38. Kovarik, J.J., et al., *Effect of Mineralocorticoid Receptor Antagonism and ACE Inhibition on Angiotensin Profiles in Diabetic Kidney Disease: An Exploratory Study*. *Diabetes Ther*, 2021. **12**(9): p. 2485-2498.
39. Hlavacova, N. and D. Jezova, *Chronic treatment with the mineralocorticoid hormone aldosterone results in increased anxiety-like behavior*. *Horm Behav*, 2008. **54**(1): p. 90-7.
40. Segeda, V., et al., *Aldosterone concentrations in saliva reflect the duration and severity of depressive episode in a sex dependent manner*. *J Psychiatr Res*, 2017. **91**: p. 164-168.
41. Bitran, D., et al., *Corticosterone is permissive to the anxiolytic effect that results from the blockade of hippocampal mineralocorticoid receptors*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1998. **60**(4): p. 879-87.
42. Murck, H., et al., *Differential effects of reduced mineralocorticoid receptor activation by unilateral adrenalectomy vs mineralocorticoid antagonist treatment in patients with primary aldosteronism - Implications for depression and anxiety*. *J Psychiatr Res*, 2021. **137**: p. 376-382.