

Válasz Prof. Dr. Pár Alajos Opponensi Bíráói Véleményére

Először is szeretném megköszönni Professzor Úrnak MTA doktori értekezésem bírálatát, pozitív, dicsérő szavait, értékes kérdéseit. Az alábbiakban válaszolok kérdéseire.

1) Kérdések 1

Köszönöm fontos kérdését. A krónikus pankreatitisz 60-70%-a nagymértékű alkoholfogyasztás következménye. Fontos megemlíteni, hogy az **alkoholisták 95%-ában soha sem fejlődik ki krónikus pankreatitisz**, illetve a **máj és a pankreász együttes alkoholos megbetegedése sem jellemző**. Ennek háttérében nagy valószínűséggel az alkohol különböző útvonalakon és különböző szervekben történő lebomlása áll.

Az ethanol lebomlása oxidatív illetve nem-oxidatív úton történhet. Az **oxidatív** folyamat révén az ethanolból alkohol dehidrogenáz illetve a cytochrome P450 2E1 enzim segítségével **acetaldehid** képződik. A **nem-oxidatív** lebomlás folyamán nem specifikus észterázok hatására az **ethanolból** előbb **zsírsav észterek**, majd a zsírsav szintáz hatására **zsírsavak** képződnek.

Az ethanol lebomlása elsősorban a májban, oxidatív úton történik. Alkohol fogyasztást követően az acetaldehid koncentrációja a májban a legnagyobb. Az **alkoholos máj károsodás** kialakulásáért jelentős részben az **ethanol** és az **acetaldehid** toxicitása felelős (Lieber CS. Alcohol, 2004). Az alkohol-dehidrogenáz koncentrációja is a májban a legnagyobb, a többi szervben csak elhanyagolhatóan alacsony mennyiségű enzim van jelen, ezért nem meglepő, hogy az acetaldehid a többi szervben jóval kisebb koncentrációban képződik, mely koncentrációban toxicitása elhanyagolható (Laposata E.A. et al., Science, 1986, Criddle D, et al., Gastroenterology, 2006, Petersen OH, Cell Calcium, 2009).

A **többi szervben** (pankreász, szív és agy) elsősorban az alkohol nem-oxidatív lebomlási végterméke, a **zsírsav-észterek** és **zsírsavak** felelősek a szövet károsodásáért. Poszt-mortem humán vizsgálatok kimutatták (Laposata E.A. et al., Science, 1986; Szecepiorkowski Z.M., Gastroenterology, 1995), hogy alkoholistákban kb. kétszer annyi zsírsav-észter képződik a pankréaszban, mint a májban. Az is fontos adat, hogy alkohol fogyasztást követően, azok a szervek (pankreász, szív és agy) tartalmazzak a legnagyobb koncentrációban zsírsav észtereket illetve észterázokat, amelyek a legfőképpen károsodnak alkohol abúzus hatására. (Laposata E.A. et al., Science, 1986).

A fenti irodalmi ismeretek alapján **valószínűsíthető**, hogy a májban és pankréászban levő enzimek aktivitásbeli különbsége - azaz **az ethanol lebomlásának útvonala** - határozza meg, hogy az adott betegnek a pankréása vagy a mája betegszik meg. Természetesen, ennek a hipotézisnek bizonyítása további vizsgálatokat igényel.

2) Kérdések 2

Köszönöm kérdését, mely ismét fontos, klinikai konzekvenciával járó pathofiziológiai folyamatokra mutat rá. 1865-ben írták le először ^(Speck L, Arch Verein Wissenschaftl, 1865), hogy a **hypertrigliceridaemia** (de nem a hypercholeszterinaemia) **akut pankreatitist indukálhat**. A hypertrigliceridaemia okozta pankreatitisz relatív módon ritka, az összes akut pankreatitisz kb. 1.3–3.8%-a, azonban a betegség lefolyása általában igen súlyos. Ennek hátterében több összetett pathofiziológiai folyamat állhat.

i) **Ischaemia.** A trigliceridből képződő szabad zsírsavak súlyosan károsítják a mikropillárásokat, ezáltal rontják a pankréász vérkeringését, oxigenizációját. Az oxigenizáció csökkenése, csökkent energia (ATP) képződéshez, toxikus kalcium szignálhoz, intraacinaris trypsinogén aktivációhoz, majd végül **sejthalál**hoz vezethet ^(Havel et al., Adv Intern Med., 1969).

ii) **Mitokondrium toxicitás.** Az oxigenizáció csökkenése mellett a zsírsavak direkt módon károsítják a mitokondriumokat. A mitokondrium károsodás szintén csökkent ATP képződéshez, toxikus kalcium szignálhoz, intraacinaris trypsinogén aktivációhoz, majd végül **sejthalál**hoz vezethet ^(Criddle D, et al., Gastroenterology, 2006, Petersen OH, Cell Calcium, 2009).

Jól érzékelhetően mindkét folyamat a **nekrózis** irányába tereli a pankréász károsodást. Tovább nehezíti a képet, hogy a trigliceridek nem csak exogén úton kerülhetnek a szervezetbe, de **endogén módon is termelődhetnek** a májban. Fontos megjegyezni, hogy az alkoholfogyasztás jelentősen fokozza a máj triglicerid szintézisét. Annak ellenére, hogy fiziológiás körülmények között az étkezéssel bevitt triglicerid 8 órával a bevitel után már kiürül (a **chylomikronokhoz** kötött triglicerid szint lecsökken) a **VLDL**-hez (májban szintetizált) kapcsolt triglicerid szint továbbra is magas maradhat ^(Chait A, Adv Intern Med, 1992).

A betegséghez sokszor **genetikai** abnormalitás is kapcsolódik ^(Farmer RG, Am J Med 1973). A familiáris (primer) lipoproteinaemia közül az I. (chylomikron↑) és az V. (chylomikron↑ és VLDL↑) típus önmagában, másodlagos tényezők nélkül is pankreatitiszhez vezethet, míg a IV. típus (VLDL↑) mellé általában másodlagos károsító tényező is szükséges.

3) Kérdések 3

Külföldi kutatómunkám illetve hazai tudományos tevékenységem miatt az elmúlt években nem vettem részt a betegellátásban, azonban az SZTE I. sz. Belgyógyászati Klinikán **Prof. Takács Tamás** által vezetett pankreász osztály statisztikai adatait folyamatosan követem. A leggyakoribb etiológiai tényezők (alkohol, epekövesség) kizárását követően az ún. idiopathias esetekben az esetleges vírusfertőzés lehetősége gyakorta felmerül, de csak ritkán igazolható. Klinikákon évente néhány (10 alatti) betegnél állapítható meg, hogy vírus indukálta pankreatitise van. Ezeknél a betegeknél általában a **mumps, coxsackie B, adenovírus illetve cytomegalovírus** állt a fertőzés hátterében.

Hepatitis A, B vagy C vírussal történő **akut fertőzés** okozhat akut pankreatitist^(Turi S et al., The Pancreas, 2008, book chapter). Ezek közül a legtöbb esetben az akut pankreatitisz kialakulásáért a hepatitis A vírusfertőzés okolható. Általánosságban az is megállapítható, hogy a betegség lefolyása korrelál a hepatitis súlyosságával. A betegség lefolyása általában aszimptómás, amiláz emelkedés a pankreatitiszes betegeknek mindössze 30-40%-ban jelentkezik^(Achord JL, JAMA, 1968).

Krónikus vírus hepatitiszhez jóval ritkábban társul pankreatitisz, bár azt is meg kell említeni, hogy a betegség diagnózisát nehezíti, hogy a krónikus hepatitisben szenvedő betegek 20-35%-ban is előfordulhat pankreatitisz nélküli amiláz emelkedés^(Pezzili et al., Dig Dis Sci, 1999). Ennek kialakulásáért elsősorban a pankreász enzimek májban történő lassult metabolizációját tartják felelőssé^(Katakura Y, WJG, 2005). A legújabb tanulmányban 202 krónikus májbeteg közül hepatitisz C vírus talaján 1 esetben találtak pankreász betegségre utaló morfológiai elváltozásokat. Azaz megállapítható, hogy a **krónikus vírus hepatitiszhez társuló pankreász megbetegedés nagyon ritkán fordul elő**. Meg kell viszont említeni, hogy a betegségben alkalmazott **antivirális gyógyszerek** (pl. interferon- α és ribavirin) **már gyakrabban okozhatnak akut pankreatitist**^(Ozdogan O, Pancreas, 2007). Ezek hátterében elsősorban a fenti gyógyszerek által okozott **mitokondriális károsodás** állhat^(Reiberger T, J Infect Dis, 2010).

4) Kérdések 4

A krónikus pankreatitiszek (CP) kb. 6%-a tartozik az **autoimmun pankreatitiszek** csoportjába. A klasszikus CP tünetek mellett diagnózisának alappillérei a pankreász

lymphoplasmacytás infiltrációja, az emelkedett szérum **γ -globulin, IgG** vagy **IgG4** szint, az **autoantitestek** jelenléte és a kifejezett **interlobularis fibrózis**. A leggyakoribb extrapankreatikus léziók a diabetes mellitus (50%), szklerotizáló cholangitis (26%) illetve a rheumatoid arthritis (23%).

Az autoimmun pankreatitisz **pathogenezeise a mai napig tisztázatlan**. A fentebb említett szövettani és laboratóriumi elváltozások jól tükrözik azokat az immunfolyamatokat, amelyek szerepet játszhatnak a betegség kialakulásában. A limfociták keletkezése és érése közben mindig képződnek olyan sejtek (ún. **autoreaktív limfociták**), melyek saját antigéneket képesek felismerni. Ezért a szervezetben olyan **centrális** (klonális delécio csontvelőben vagy a thymusban) és **perifériás** (apoptózis, klonális anergia illetve domináns szuppresszió) mechanizmusok alakultak ki, amelyek megakadályozzák, hogy immunreakció induljon el az autoantigének ellen. Ezt a folyamatot **immunológiai toleranciának** hívják. Az **autoimmun pankreatitisz pathogenezisének** hátterében az **immunológiai faktorok** (elsősorban a perifériás tolerancia károsodása), **genetikai tényezők** (a HLADRB1, HLADQB1 haplotípus gyakori), **infektológiai faktorok** (streptococcus, vírusok, mikroorganizmusok) illetve **környezeti hatások** (kémiai anyagok, gyógyszerek, stb.) is szerepet játszhatnak.

A betegség lefolyása általában benignus. **Szteroid** terápia hatására a betegek rendszerint meggyógyulnak. **Sebészeti** beavatkozás ritkán, a duktális rendszer károsodása esetén válhat szükségessé. A betegség hosszútávú prognózisa nem ismert. A klinikai és laboratóriumi paraméterek a terápia után általában normalizálódnak. Az autoimmun pankreatitisz **lefolását sokszor az extrapankreatikus szövődmények** (diabetes mellitus, epeúti szűkület, cholangitisz) határozzák meg.

5) Kérdések 5

Jelen kísérletsorozatunkban az **ursodeoxycholsav** hatását nem vizsgáltuk. Fontos azonban megállapítani, hogy kísérleteink egyértelműen rávilágítottak, hogy a pankreász epitél sejteket a nagy dózisú **nem konjugált** epesavak károsítják. Ezzel szemben, a **konjugált** epesavaknak még nagy dózisban sincs károsító hatásuk. A sejtbe bejutott konjugált epesavak nem károsítják a sejtorganellumokat. Tekintettel arra, hogy a **nem konjugált epesavak** az akut szakaszban relatíve **gyorsan károsítják a sejteket**, nem tűnik valószínűnek, hogy a mitokondrium károsodást szenvedett sejtekben a konjugált **ursodeoxycholsav** javulást okozna. **Érdekes elméleti kérdés**, hogy ha a **sejteket előzetesen feltöltenénk a**

cytoprotektív membránstabilizáló hydrophil ursodeoxycholsavval, akkor ez a folyamat mennyire védené ki a chenodeoxycholsav toxikus hatását.

6) Kérdések 6

Külön köszönöm Professzor Úr terápiás lehetőséget feszegető kérdését, hiszen kutatásaink végső célja, hogy az **élettani** és **kórélettani** megfigyelések mellett **új terápiás** lehetőségeket ismerjünk fel, illetve dolgozzunk ki. Jelenleg sajnos **nincs olyan klinikai alkalmazásban levő gyógyszer, mely a CFTR Cl⁻ csatornát stimulálná**, vagy más specifikus módon javítaná a pankreatitisz lefolyását. Az utóbbi időkben az alábbi terápiás lehetőségek merültek fel:

1) **Kalcium toxicitás csökkentése, SOCE (Store Operated Calcium Entry) csatorna gátlása**

Élettani körülmények között, amikor a sejtek kalcium raktára kiürül, a sejtmembránon levő **raktár-függő kalcium csatornák (SOCE)** kinyílnak és jelentős mennyiségű kalcium áramlik be a sejtbe, feltöltve ezzel a sejt kalcium raktárait. Abban az esetben, ha a kalciumot raktározó intracelluláris organellek kalcium csatornái (SERCA) gátlódnak (pl. epesav vagy ethanol hatására), akkor **a sejt kalcium raktárai még magas intracelluláris kalcium szint esetén is üresek maradnak. A sejt, az üres raktárak miatt úgy érzi, hogy kalcium hiánya van**, ezért **kinyitja a sejtmembránon levő SOCE csatornákat**, ami az amúgy is magas intracelluláris kalciumot a letális kalcium koncentráció fele sodorja. Ez a folyamat a **sejt halálához** vezet. Jelenleg több kutatócsoport is foglalkozik SOCE csatorna gátló kifejlesztésével, ami elméletileg kivédhetné a sejthalált.

2) **A pankreász duktuszok bikarbonátban gazdag folyadékszekréciójának helyreállítása**

Ismert, hogy pankreatitiszben a pankreász duktuszok folyadék és bikarbonátszekréciója károsodott. Apikális **CFTR Cl⁻ csatorna, anion cserélő transzporter vagy kálium csatorna stimuláló** vegyület beindíthatná a bikarbonát szekréciót, ezzel segítene az intrapankreatikusan aktiválódott enzimek pankreászból történő kimosásában. Munkacsoportunk az elmúlt években egy új, **kálium csatorna stimuláló vegyületet (NS11021)** karakterizált, **melyről** kimutattuk, hogy szerepet játszhat a kis dózísú epesavak indukálta duktális védekezésben. A közlemény 2011. januárjában jelent meg a Gut c. folyóiratban (Venglovecz et al., Gut, 2011).

3) **Energia helyreállítás**

Véleményem szerint a **legígéretesebb** lehetőség a sejt energetikájának helyreállításában van, ez ugyanis mind az acinusokban mind pedig a duktális sejtekben végbemenő toxikus reakciók megállítását eredményezhetné.

A pankreatitisz akut szakaszában fontos változás a mitokondriumok károsodása és a következményes, súlyos fokú energia (ATP) csökkenés. Ebben az állapotban a sejt funkciói (beleértve az iontranszporterek működését is) leállnak. A sejt úgynevezett „**klinikai halál**” állapotába kerül. Criddle D. és mtsai kimutatták (a tézis 44-46 közleményei), hogy patch pipetta segítségével **a sejtbe visszajuttatott ATP kivédi a toxikus kalcium szignál illetve sejthalál kialakulását**. Azaz, amennyiben a betegek pankreász sejtjeibe sikerülne ATP molekulát bejuttatni, a sejt túlélhetné az akut szakot, a pankreász „restitutio ad integrum” gyógyulhatna. A fő problémát az okozza, hogy az ATP-t a hidrolázok gyorsan elbontják, továbbá a molekula félélet ideje nagyon rövid, mindössze 1-2 perc. További nehézséget okoz, hogy a molekula hidrofób, ezért nem képes átjutni a sejtmembránon. Az elmúlt évben nagy energiát fordítottunk arra, hogy az **ATP-t liposzómába becsomagolva** bejuttassuk a pankreász epitél sejtjeibe. A Szegedi Tudományegyetem Gyógyszerészeti Karával közösen sikerült egy olyan liposzómát kifejleszteni, melybe az ATP-t becsomagolva energiát tudunk bejuttatni a sejtbe. Ezen elő kísérleteinket felhasználva nemzetközi pályázatot nyújtottunk be az European Research Council-hoz, ahol a pályázatról júliusban várható döntés.

Humán klinikai adatok még nem állnak rendelkezésünkre.

Legvégül ismét szeretném megköszönni Professzor Úr értékes bírálatát, kérdéseit. Köszönöm, hogy a nyilvános védés kitűzését javasolta. Egyúttal **kérem Professzor Urat válaszaim elfogadására**.

Tisztelettel és Köszönettel:



Hegyi Péter
doktorjelölt

2011-03-22

