

DEBRECENI EGYETEM
Általános Orvostudományi Kar
Kardiológiai Intézet
Igazgató: Prof. Dr. Édes István egyetemi tanár
Tel. / Fax: 52-255-928



UNIVERSITY OF DEBRECEN
Faculty of Medicine
Institute of Cardiology
Director: Prof. Dr. István Édes M.D., Ph.D., D.Sc.
Phone / Fax: 36-52-255-928

Klinikai Fiziológiai Tanszék
Tanszékvezető: Prof. Dr. Papp Zoltán egyetemi tanár
pappz@med.unideb.hu
Tel. / Fax: 52-255-978

Division of Clinical Physiology
Head of division: Prof. Dr. Zoltán Papp M.D., Ph.D., D.Sc.
pappz@med.unideb.hu
Phone / Fax: 36-52-255-978

Hungary, 4032 Debrecen, Móricz Zsigmond krt. 22., e-mail: klinfiz@med.unideb.hu

Prof. Dr. Varró András
egyetemi tanár
Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet
Szegedi Tudományegyetem

Tisztelettel köszönöm Varró András bírálatát!

A bíráló kérdéseire válaszolva: az 1. kérdés a TRPV1 esetleges feszültségfüggő tulajdonságaira utalt. A TRP családba tartozó ioncsatornák jelentős része feszültségfüggő tulajdonságokat mutat, csakúgy, mint a TRPV1-gyel szerkezetileg hasonlóságot mutató feszültségfüggő K^+ csatorna. A TRPV1 szerkezetéből az S4 szakaszból azonban hiányoznak azok a bázikus aminosavak (lizin és arginin oldalláncok), amelyek a feszültségfüggés szenzorai lehetnének. Újabban elérhetőek olyan közlemények, amelyek felvetik a TRPV1 C-terminális régiójában egy feszültségszenzor létét, azonban összességében a TRPV1 modulációjában ennek jelentőségét minimálisra teszik. Úgy tűnik, hogy a TRPV1 más fizikai ingerekre, nevesül a hőmérsékletre érzékeny a kémiai hatásokon kívül. A TRPV1 élettani szabályozásával kapcsolatban az kezd kristályosodni, hogy a receptor kapuzását leginkább a hőmérsékleti küszöbének modulálása befolyásolja. A különböző ingerekre a receptor hőküszöbének megváltoztatásával válaszol, és amennyiben ez a hőküszöb megközelíti a testhőmérsékletet, a receptoron keresztül megindul az ionok áramlása. Talán érdemes megjegyezni, hogy a kapszaicin kötőhelyen történő stimuláció funkcionális hatásait is befolyásolja a környezet hőmérséklete, jóllehet kapszaicin alacsony hőmérsékleten is aktiválja a TRPV1-et. Mindezek alapján a TRPV1 feszültségfüggő kapuzásának jómagam a szakirodalommal összhangban kicsiny jelentőséget tulajdonítok.

A bíráló második kérdése a TRPV1 multimerizációjára és annak jelentőségére utalt. A TRPV1 biztosan multimer fehérjeként funkcionális. A fehérje tetramer formában alkot funkcionális csatornát, a K^+ csatornák egy részéhez hasonlóan. Ismert hogy a TRPV1b-nek hívott alternatív splicing révén képződő forma is képes a tetramerekbe beépülni. Jóllehet az irodalomban ezzel kapcsolatban vannak ellentmondó adatok is, a leginkább elfogadott nézet szerint a TRPV1b expressziója elsősorban a központi idegrendszerben figyelhető meg, és a TRPV1 funkció csökkentésében ölt testet. Ezen elképzelés szerint a TRPV1 aktivitás tehát expressziós kontroll alatt is állna, amennyiben a TRPV1b expressziójának fokozódása a TRPV1 aktivitás csökkenéséhez vezethet. Sajnos közvetlen kísérletekben endogén rendszerekben még nem sikerült beállítani megfelelő

jelölési módszereket, amelyekkel ezek a kérdések kétséget kizárólag alátámaszthatóak lettek volna. Ezzel összhangban a TRPV1 multimerizáció részletei továbbra is jelentős kérdéseket vetnek fel, melyeket a jövő kutatásai fognak megválaszolni.

A bíráló harmadik kérdése a részvételemmel folytatott molekulafejlesztési program kézzelfogható hatékonyságára utalt. Ez egyike azon kérdéseknek, melyet mindhárom bíráló fontosnak tartott feltenni. A Pintér Erikának adott válaszomat megismételve, a kifejlesztett antagonisták jelentős részére szabadalmi oltalmat kértek. Tudomásommal egyedül a JYL-1421 kódjelű vegyülettel folytattak klinikai kipróbálásokat, azonban *in vivo* stabilitása (a kapszazepinhez hasonlóan) nagyon alacsonynak bizonyult. Ennek megfelelően próbáltunk olyan molekulákat szintetizálni, amelyek esetében az „A” és „B” régiókban található metabolikusan labilis csoportokat kicseréltük. Sajnos a második generációs TRPV1 ligandok vonatkozásában nincsenek adataim, a klinikai kipróbálások nemzetközi regiszterébe mindenesetre nem került velük kapcsolatos gyógyszerkísérletre utaló adat.

Varró András negyedik és ötödik kérdése a TRPV1 antagonisták váratlan klinikai mellékhatásának hátterére kérdezett rá. Számos mechanizmust feltételeztek a TRPV1 antagonisták hipertermiás hatása mögött. Szolcsányi és Jancsó Gábor-Aranka már 1975-ben leírták, hogy a kapszaicin receptor stimuláció és deszenzitizáció fontos szerepet játszhat a hőháztartásban, de ezek a korai eredmények feledésbe merültek. A kapszaicin receptor klónozását követően megerősítették a receptor hőérzékenységét, azonban a kapszaicin receptor knock-out egértörzs első jellemzésekor nem találtak arra utaló jelenséget, hogy az állat hőháztartását érintette volna a TRPV1 deléciója. Ennek megfelelően a jelenség feledésbe is merült, míg a TRPV1 antagonisták klinikai alkalmazása során jelentkező súlyos, hagyományos módon nem uralható hipertermiára fény nem derült. Az elmúlt évtizedben aztán újra kialakult az a kép, hogy a TRPV1-nek fontos szerepe lehet a hőháztartásban és ílymódon a TRPV1 antagonisták alkalmazása során jelentkező hipertémia on-target mellékhatás. Ugyanakkor az is kiderült, hogy nem minden TRPV1 antagonistának van hipertémiát kiváltó hatása, ami arra utal, hogy a receptor kapszaicin kötőhelyen keresztüli modulációja nem egyformán érinti a szervezeten belüli receptorokat. Számos modalitást hoztak összefüggésbe a hipertermiás hatással, de kielégítő mechanizmust még mindig nem találtak a kérdésre. Ezen adatok arra utalnak, hogy a TRPV1 élettani funkcióival kapcsolatos ismereteink még mindig nem teljesek. A modalitások kétségkívül léteznek, de összefüggésük a hipertermiás hatással a publikált kísérleti eredmények szerint nem tekinthető egyértelműnek sem a ligandok szerkezetét, sem a TRPV1-re gyakorolt *in vitro* hatásaikat tekintve.

A bíráló hatodik kérdése a vaszkuláris TRPV1 funkcionális jelentőségét érintette, Ferdinandy Péter hasonló kérdésével megegyezően. Azt gondolom, hogy olyan körülmények között, amikor az értónus emelésére lenne szükség és a hagyományos kezelési lehetőségek eredménytelenek. Ilyen lehet például a sokk, amikor a hipotenzió csökkentésére optimálisnak tűnik egy olyan szer, ami nem

befolyásolja a szívritmust közvetlenül és nincs szüksége a betegség által érintett intracelluláris jelátviteli útvonalakra. Ebben az esetben a receptoron keresztül közvetlenül belépő Ca^{2+} alkalmas lehet arra, hogy a simaizomsejtekben szelektíven emelje a Ca^{2+} koncentrációt és fokozza az értónust. Ehhez persze a simaizomsejteken specifikusan ható agonistákra lenne szükség. A TRPV1 kardiovaszkuláris szerepére utaló adatok a knock out egértörzsben mindössze a vesefunkció és a magas só terhelésére bekövetkező hipertónia vonatkozásában kerültek napvilágra. A knock out és a vad típusú egerek vérnyomásában nincs eltérés. A szövetek vérellátásának szabályozásában a knock out és a vad típusú állatok esetében részletes vizsgálatok nem történtek, azonban nem zárnam ki a koronária rendszer működését és a vázizom vérellátását, továbbá a vér-agy gát működését, mint lehetséges érterületeket, ahol a TRPV1 élettani szereppel bírhat. Összességében úgy gondolom, hogy a vaszkuláris TRPV1 nyilvánvaló szisztémás funkcióval nem rendelkezik, de a szöveti vérellátás szabályozásában lehet fontos szerepe, melyet közvetlen kísérletekkel kell majd vizsgálni. Egy további megjegyzés ezen a területen, hogy a vaszkuláris TRPV1-nek ugyanakkor lehet szerepe kardiovaszkuláris betegségek pathogenezisében, amennyiben diszregulálódik, amely potenciális hatás egér modellben, még a knock out egér felhasználása mellett is nehezen vizsgálható.

Varró András hetedik és egyben utolsó kérdése a vaszkuláris simaizomban expresszáldó TRPV1 modalitásaira és élettani szabályozására utalt. Ezen a területen a disszertáció beadását követően fogadták el azt a tanulmányunkat, amelyben leírtuk, hogy a vaszkuláris TRPV1 expresszió meglehetősen szorosan szabályozott. A vázizom esetében az erek jelentős része rendelkezett TRPV1 expresszióval, azonban a kép nem volt ilyen egyöntetű más szövetekben, mint a bőr, mezenterialis szövetek esetében. Ezen utóbbi szövetekben TRPV1 expressziót mutató és TRPV1-et jelentős mennyiségben nem expresszáló erek egyaránt megfigyelhetők voltak ugyanabban a metszetben, ami arra utal, hogy a TRPV1 expressziójában jelentős különbségek lehetnek egymástól néhány száz mikrométerre elhelyezkedő erek esetében is. Ennek megfelelően a vaszkuláris TRPV1 élettani szerepe feltehetőleg nem teljes szervekre hanem a szöveteken belüli lokális hatásokra lehet jelentős. Az potenciális élettani szerep kapcsán felmerülhet az iszkémia során jelentkező pH csökkenés, illetve a gyulladásos mediátorok által szenzitizált TRPV1 szerepe. A kérdés könnyen eldönthető lenne, ha a TRPV1 antagonisták egyforma hatással rendelkeznének a vaszkuláris receptoron és nem lenne mellékhatásuk. Ezzel szemben azonban a kereskedelmi forgalomban elérhető, szenzoros funkciókban sikeresnek bizonyult, TRPV1 szelektívnek tekintett antagonistákkal végzett beható vizsgálataink vázizomerek esetében egyaránt mutattak dilatatív, konstriktív hatásokat és hatástalanságot is. Ezen adatok alapján nem lehet eldönteni, hogy a vaszkuláris TRPV1 gátlása milyen élettani hatásokhoz vezethet. A TRPV1 génhiányos egér esetében vaszkuláris fenotípust nem írtak le, azonban ugyanez igaz volt a hőszabályozásra is, így ebből határozott következtetést nem tudunk levonni. Összességében azt gondolom, hogy a TRPV1 vaszkuláris biológiai hatásait tekintve a lokális vérellátás szabályozásában lehet szerepe, azonban ennek igazolása és a TRPV1 általi szabályozás jelentőségének megítélése további vizsgálatokat igényel.

A kérdések megválaszolása után még egyszer köszönöm Varró András bírálatát és tisztelettel kérem válaszaim elfogadására!

Debrecen, 2014. április 7.

Üdvözlettel:

Tóth Attila