

Dr. Sonkodi Sándor Professor Úr opponensi kérdéseire adott válaszaim.

Igen tisztelt Professor Úr!

Először is szeretném megköszönni a disszertációmmal kapcsolatban végzett munkáját. Köszönöm a részletekbe menő elemzést, a dicséretet, a kérdéseket és a kritikát is, amely segíti munkám reális értékelését és a hibák kijavítását.

A kérdésekre és a kritikai felvetésekre adott válaszaim:

Formai megjegyzések:

- 1. Kritikai felvetés: Az értekezés szerkesztésével kapcsolatban a 22 oldalas „Bevezetés”-t hosszúnak tartom, főleg azt figyelembe véve, hogy ezt minden további alfejezetben újabb 'Bevezetés' követi.*

Válasz: A formai kritikát köszönettel fogadom, valóban helyesebb lett volna **egy** bevezetést írni. Ami abban motivált, hogy az egyes, kisebb részek előtt is rövid bevezetést írjak, az az egy fonalra felfűzött határterületi témák különbözőségének megmutatása volt. Így tehát azt, ami egyformán igaz mindegyik témára, a közös bevezetésben, azt, amiben különböztek, a fejezet előtti bevezetésben írtam le.

- 2. Kritikai felvetés: Rövidítések magyarázata több helyen van az értekezésben elhelyezve, néha nem könnyen áttekinthetően. Szerencsés lett volna a rövidítések magyarázatát az értekezés elején együtt felsorolni.*

Válasz: Valóban a rövidítésjegyzék nem sikerült teljesre, miközben követtem azt az általánosan elfogadott elvet is, hogy a szövegbeli első megjelenéskor kiírtam a fogalmat és zárójelben közöltem a rövidítést.

Tartalmi megjegyzések:

1. *Kérdés: „... a glikációs végtermék (AGE)-fluoreszcencia és a karboximetil-lizin (CML) szérumszintje, jó szénhidrátháztartás mellett csak vesefunkció beszűkültség esetén növekszik, a beszűkültség mértékével arányosan. Kérdésem: A jelenséggel kapcsolatban a vérnyomás szintjének volt-e befolyása?*

Válasz: A GFR>80ml/perc és a GFR<80ml/perc csoportok vérnyomása nem különbözött egymástól, és így nem is mutatott összefüggést a vérnyomás az AGE-értékekkel. Irodalmi és saját eredményeink egybevágnak azt illetően, hogy a veseelégtelenség minden más állapotnál (a cukorbetegségnél is) jobban növeli a szérum-AGE szintjét. A cukorbetegség mérsékelt, 2,5-szörös növekedést okoz pl. a pentozidin szintjében, ezzel szemben a CKD5D stádium hozzávetőlegesen 23-szorosára emeli az AGE-k szintjét (Odetti P, Fogarty J, Sell DR, Monnier VM. Chromatographic quantitation of plasma and erythrocyte pentosidine in diabetic and uremic subjects. Diabetes. 1992 Feb;41(2):153-9.). Ismerve azt, hogy az AGE-k érkárosítók, nem meglepő, hogy a cukorbetegség ugyan hozzávetőlegesen 2-3-szorosára emeli a kardiovaszkuláris betegség kockázatát (Wei M, Gaskill SP, Haffner SM, Stern MP Effects of diabetes and level of glycemia on all-cause and cardiovascular mortality. The San Antonio Heart Study. Diabetes Care. 1998 Jul;21(7):1167-72.), de a CKD5D 10-szeresére növeli azt (Brown JH, Hunt LP, Vites NP, Short CD, Gokal R, Mallick NP. Comparative mortality from cardiovascular disease in patients with chronic renal failure. Nephrol Dial Transplant. 1994;9(8):1136-42.). Tisztelettel mutatok rá az AGE-szint emelkedése és a mortalitás növekedése közötti paralelizmusra.

2. *Kérdés: A jelenség közlése után 3 évvel holland szerzők ezt a jelenséget leírták 1-es típusú diabetesesekben (Mariska L.M et al. NDT 2004;19:631-36) Wittmann dr.-éknak vannak-e megfigyeléseik 1-es típusú diabetesesekkel kapcsolatban?*

Válasz: Valóban az idézettek a mienkéhez hasonló megfigyelést tettek 1-es típusú cukorbetegségben. Az idézett cikkbeli két csoport sem különbözött a vérnyomás tekintetében, hasonlóan a mieinkhez. Az említett tanulmányban a CML- és a CEL szintje is magasabb volt az alacsonyabb GFR-ű csoportban, hasonlóan, mint a mi vizsgálatunkban a CML tekintetében.

Kontroll csoport nem szerepelt ebben a tanulmányban, ezért az 1-es típusú cukorbetegség AGE-kra kifejtett hatását nem tudták vizsgálni.

Más szerzők (Sugisawa E, Miura J, Iwamoto Y, Uchigata Y. Skin autofluorescence reflects integration of past long-term glyceemic control in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2013 Aug;36(8):2339-45.) azonban igazolták (bőr autofluoreszcenciát detektálva), hogy 1-es típusú cukorbetegségben szintén megnő a nem enzimátikus glikáció mértéke, ami a mikrovaszkuláris szövődményekkel korrelál. Mi magunk ilyen vizsgálatokat 1-es típusú cukorbetegségben nem végeztünk.

3. *Kérdés: Metilglioxál patkányok ventromedialis hypothalamusába injiciálva metabolikus szindróma kialakulásához vezet, ennek hatására a vese tubulointersticiumban az AGE-imidazolon és a renin akkumulálódik, melyek felelőssé tehetőek a vese-papilla fibrózisáért. Kérdés és megjegyzés: A szóban forgó állatmodellben feltehetően ki lehetne mutatni a vizelettel ürülő oxidatív stressz-markereket, felvetődött-e ennek vizsgálata?*

Válasz: A vizsgálatok elvégzésekor még nem rendelkezünk metabolikus ketreccel, ezért nem tudtuk a patkányok vizeletmintáit analizálni. Röviddel később azonban humán vizsgálatban igazoltuk, hogy a cukorbetegségben megnő az oxidatív stressz, egészen pontosan a hidroxil szabad gyök hatására keletkező orto-tirozin vizeletürítése. Ezek a vizsgálatok vezettek bennünket arra a gondolatra, hogy a cukorbetegségre jellemző hyperglykaemia miatti inzulin-rezisztencia kialakulásában szerepet játszhatnak a sejtek fehérjéibe beépülő kóros tirozinok, az orto- és a meta-tirozin. Ezzel kapcsolatos európai szabadalmunkat, azóta a javaslattevő az Európai Szabadalmi Hivatal számára elfogadásra ajánlotta. Szintén új fejlemény, hogy a kóros tirozinoknak az inzulin okozta vazodilatációban játszott szerepéről szóló egyik cikkünk közlésre került (a disszertáció 6.4.2. fejezete, Szijártó IA, Molnár GA, Mikolás E, Fisi V, Laczy B, Gollasch M, Koller A, Wittmann I. Insulin-induced relaxations of consecutive arterial segments increase toward the periphery. Role of vascular oxidative state. *Free Radic Res*. 2014 Mar 17. [Epub ahead of print]). Hasonlóképpen a kóros tirozinoknak az eritropoetin-rezisztenciában játszott szerepéről írt elméleti (Mikolás E, Kun S, Laczy B, Molnár GA, Sélley E, Kőszegi T, Wittmann I. Incorporation of Ortho- and Meta-Tyrosine Into Cellular Proteins Leads to Erythropoietin-Resistance in an Erythroid Cell Line. *Kidney Blood Press Res*. 2014 Apr 9;38(2-3):217-225.) és humán vonatkozású munkánkat is közöltük (Kun S, Mikolás E, Molnár GA, Sélley E, Laczy B, Csiky B, Kovács T, Wittmann I. Association of plasma ortho-tyrosine/para-tyrosine ratio with responsiveness of erythropoiesis-stimulating agent in dialyzed patients. *Redox Rep*. 2014 Apr 3. [Epub ahead of print]).

4. *Kérdés: Mivel human vizsgálatban kimutatták, hogy angiotensin-II (AII) receptor blokkoló kezelés hypertoniás diabeteses nephropathiában csökkenti vizeletben az oxidatív stresszmarkerek mennyiségét (Ogawa S. et al. AngiotensinII (AII) Type Receptor Blockers Reduce Urinary Oxidative Stress Markers in Hypertensive Diabetic Nephropathy Hypertension 2006;47:699-705) érdemesnek tartanám megvizsgálni AII-receptor blokkoló kezelés hatását metilglioxal-lal kiváltott metabolikus szindrómás patkánymodellben. Mi erről a jelölt véleménye?*

Válasz: Meggyőződésem, hogy az oxidatív stressz **akut** hatásának a kivédésére az egyik legjobb módszer a renin-angiotenzin-aldoszteron-rendszer gátlása, hiszen az angiotenzin-II és az aldoszteron is aktiválja a NAD(P)H-oxidáz enzimet, ami erre szuperoxid szabad gyököt termel, amiből SOD hatására hidrogén-peroxid képződik, ami hidroxil szabad gyök termelődéséhez vezet. Így a RAAS-gátlása feltétlenül antioxidáns hatású. Mi a modellünkben ezt nem vizsgáltuk.

5. *Kérdés: Diabeteses nephropathiában a jelenleg ajánlott valamennyi prevenciós kezelési eljárás ellenére a vese glomerulusaiban és tubulusokban histológiai vizsgálatnál O-glikozilációs eltérések mutathatók ki, ami arra utal, hogy a kezelés a hexózamin anyagcsereút aktivációját nem védi ki.*

Válasz: Itt az előző válaszomra is szeretnék visszautalni. Bár a humán vizsgálatunkban a cukorbeteg RAAS-gátlásban részesültek, a kóros O-glikoziláció megnövekedését a vesében nem lehetett megakadályozni. Tehát nem elégséges az oxidatív stressz **akut** hatásának kivédése RAAS-gátlóval, szükség lehet a **szubakut** hatások kezelésére is. Előfordul ugyanis, hogy az **akut** antioxidáns kezelés nem használ, hanem árt. Erre példa lehet a nagy klinikai tanulmányokból az antioxidáns bardozone metilrel észlelt proteinuria növekedés (BEAM és BEACON tanulmány), amely véleményünk szerint a „single-nephron hyperfiltration” növelése miatt jött létre. Ezzel kapcsolatos tudományos levelünket a közelmúltban közzétettük (Molnár GA, Kovács T, Wittmann I Bardozone Methyl in Type 2 Diabetes and Advanced Chronic Kidney Disease N Engl J Med 370;18, 2014. DOI: 10.1056/NEJMc1400872).

6. *Kérdés: IgA nephropathiában szigorú vérnyomáskontroll mellett a glikoxidációs termékek szintje csak akkor emelkedik meg az egészségesekhez képest, ha a vesefunkció romlik. Kérdés: A leírt jelenség előfordulásában volt-e attól függően eltérés, hogy a betegek renin-*

angiotenzin-rendszert blokkoló, vagy más típusú vérnyomás csökkentő szerrel voltak kezelve? (tehát a kérdés nem a vérnyomás csökkentő hatásra, vagy a vesefunkció változásra irányul elsődlegesen).

Az IgA nephropathias betegek 87,1%-a kapott angiotenzin-konvertáló-enzim-gátlót (elsősorban enalapril), ami 54 beteget jelent, és csak 8-an nem részesültek renin-angiotenzin-aldoszteron-rendszert gátló kezelésben. Ezért egy olyan felosztásnak, amelyben a RAAS-gátlót szedők a nem szedőkkel kerültek volna összehasonlításra, kicsi lett volna statisztikai ereje. Így sajnos nem tudok Professzor Úr kérdésére válaszolni, miközben meg vagyok győződve arról, hogy a Professzor Úr kérdésében rejlő felvetés helytálló, azaz a RAAS gátlása, az egyéb antihypertensiv kezelésekhez viszonyítva jobban javítja az oxidatív és a karbonil stressz paraméterek értékeit, a vérnyomáscsökkentő hatástól függetlenül is. Ezzel kapcsolatos véleményemet a 4. kérdésre adott válaszomban már részben kifejtettem. Talán csak annyival egészíteném ki az ott leírtakat, hogy idézek néhány közleményt, amelyek kimutatták, hogy az oxidatív stressz és a glikáció összefügg, és ezért gyakran inkább glikoxidációról beszélnek (Song BC, Joo NS, Aldini G, Yeum KJ Biological functions of histidine-dipeptides and metabolic syndrome. *Nutr Res Pract.* 2014 Feb;8(1):3-10. és Chilelli NC, Burlina S, Lapolla A. AGEs, rather than hyperglycemia, are responsible for microvascular complications in diabetes: a "glycooxidation-centric" point of view. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013 Oct;23(10):913-9.).

Még egyszer meg szeretném köszönni Professzor Úr fáradozását, az eredmények nephrologiai értelmezését és mély szakmai elemzését, és egyben tisztelettel kérem Professzor Úrtól válaszaim elfogadását.

Tisztelettel

Prof. Dr. Wittmann István

Pécs, 2014-03-31