

Válasz Dr. Geiszt Miklós, az MTA doktora bírálatára

Köszönöm Dr. Geiszt Miklós egyetemi docensnek, hogy a disszertációm bírálatát elkészítette. Külön köszönöm biztató szavait és építő kritikáját.

Általános megjegyzések

Mindhárom bíráló kifogásolta a disszertációban szereplő ábrák méretét, utólag úgy tűnik nagyobb méretű ábrákat lett volna érdemes szerkeszteni.

Tételes észrevételek

1. *A PARP-1 deléciója megnöveli a SIRT-1 aktivitást és ennek a magyarázata a jelölt szerint a hiányzó PARP aktivitás miatt megemelkedő NAD⁺ koncentráció emelkedés. Az 5. ábrán bemutatott eredmények alapján viszont azt is mutatják, hogy PARP-1 hiányában a SIRT-1 expresszió is jelentősen emelkedik. Próbálták-e kvantifikálni a SIRT-1 fehérje expressziójában bekövetkező emelkedést és mi lehet a jelentősége a fehérjeszint változásának az energiaforgalom szempontjából előnyös fenotípus kialakításában? Mi lehet annak a magyarázata, hogy HEK293T sejtekben a PARP-1 depléciónak hatására nem emelkedett a SIRT-1 expressziója?*

A PARP-1 és PARP-2 modellek tanulmányozása során a leírt fenotípust kialakító mechanizmus vizsgálata és magyarázata során bennünk is felmerült, hogy a SIRT1 fehérjemennyiség növekedése vagy a NAD⁺ szint növekedése a kulcsfontosságú mechanizmus. A magyarázat során azt az elvet követtük, hogy egy olyan molekuláris mechanizmust keresünk, amely minden vizsgált modellben minden részletében azonos módon jelenik meg. Valóban a PARP-1 knockout egérben a harántcsíktal izomban hatalmas mértékben emelkedett a SIRT1 fehérjemennyiség (kisebb mértékben a barna zsírszövetben is), azonban a SIRT1 mRNS szintje nem mutatott ilyen mértékű növekedést, illetve a PARP-1 depléciónak HEK293T sejtekben nem vezetett a SIRT1 promoter indukciójához.

Ahogy azt a Bíráló is megjegyzi, a SIRT1 fehérje és mRNS szint növekedése nem következett be minden vizsgált modellben, emiatt nem valószínű, hogy ez lenne a PARP-1 deléciója vagy gátlása esetén fellépő általános mechanizmus. A NAD⁺ szint emelkedése minden modellben megtörtént, kivéve a májban, ahol a PARP-1 expresszió nagyon alacsony, ezért deléciója kismértékű NAD⁺ szint változásokat okozhat, ami arra utal, hogy a NAD⁺ szintben bekövetkező változások lehetnek elsődlegesek. Tovább erősíti ezt az érvelést, hogy a NAD⁺ előanyagok adása mind *in vivo*, mind *in vitro* képes a SIRT1 aktivitását indukálni (Canto et al., 2012; Cantó et al., 2013), illetve mind a rövid távú, mind a hosszú távú PARP inhibitor kezelés (Bai et al., 2011; Pirinen et al., 2014) NAD⁺ szint emelkedést okozott és indukálta a SIRT1 enzimet. Továbbá kinetikai jellemzőit tekintve a PARP-1 hatékonyabb enzim a SIRT1-nél és nagyobb az affinitása a NAD⁺-hoz, mint a SIRT1-nek, vagyis minden valószínűség szerint – miután azonos kompartmentben található a két enzim – a PARP-1 képes limitálni a SIRT1 számára rendelkezésre álló NAD⁺-ot (Cantó et al., 2013).

A PARP-2 deléciója esetében fordított volt a helyzet. Minden modellben a SIRT1 mRNS és fehérje szint változást és sejtes modellekben a SIRT1 promoter indukcióját tapasztalunk, ezért a SIRT1 expresszió változását tekintettük a központi mechanizmusnak. Mindazonáltal, több esetben a PARP-2

deléciója/depléciója a NAD⁺ szint növekedéséhez vezetett, de ez nem volt jellemző minden modellre vagy szövetre. A PARP-2 és a SIRT1 katalitikus tulajdonságai (K_m és K_m/k_{cat}) összemérhetőek, vagyis kevésbé valószínű, hogy a PARP-2 a PARP-1-hez hasonló módon képes lenne limitálni a SIRT1 számára rendelkezésre álló NAD⁺-ot. Vannak azonban olyan szerzők (Mohamed et al., 2014) akik a PARP-2 deléció esetben fontosnak tartják a NAD⁺ szint növekedését a biológiai hatás megjelenéséhez, azonban senki sem vitatja a SIRT1 expresszió emelkedésének központi szerepét (Geng et al., 2013; Liang et al., 2013; Mohamed et al., 2014; Zhang et al., 2014).

Természetesen bármilyen modellben az azonos irányú változások összeadódhatnak, és együtt fejthetik ki hatásukat. Azaz, a szöveti NAD⁺ szint és a SIRT1 mennyiség növekedése együttesen indukálja a mitokondriális biogenezist. Gyakorlatilag feltáratlan terület, hogy milyen szövetspecifikus mechanizmusok szabályozzák a PARP-ok és a SIRT1 (vagy más sirtuin enzimek) közti kölcsönhatásokat, ezek azonban minden bizonnyal léteznek.

A SIRT1 fehérje mennyiség növekedését nem határoztuk meg denzitometriával, mert a jel változása meghaladja a dinamikus tartományt: tulajdonképpen vagy nem látjuk a SIRT1 jelet a kontrollban és jól értékelhető sávok jelennek meg a PARP-1 knockout egérben vagy látjuk a SIRT1 sávját a kontrollban és „kiegíti” a knockout állat SIRT1 jele.

2. *Számos ábra mutat be QPCR eredményeket, azonban a „Módszerek” fejezet nem ad információt arra nézve, hogy milyen módon történt e kísérletek kiértékelése és ábrázolása. A „relatív expresszió” milyen háztartási génhez viszonyított expressziót jelent? A 24. ábrán bemutatott QPCR eredményen mindegyik vizsgált gén kontroll állatban megfigyelt expressziója 1, ami arra utal, hogy ehhez viszonyította a KO állatban mért expressziós szinteket. Ha ez így van, akkor viszont nem beszélhetünk a tengely feliraton olvasható tetszőleges egységben megadott relatív expresszióról. A 4. ábrán bemutatott expressziós szinteknél ugyanakkor a szintén tetszőleges egységben megadott expressziós szint a kontroll állatokban 9 vizsgált gén közül nyolcban 2 körüli érték. Ebben az esetben hogyan történt az eredmények kiértékelése és ábrázolása?*

A disszertációban bemutatott kísérletek 10 év munkáját vonultatták fel és ez idő alatt változott az RT-qPCR standardizálás elmélete és gyakorlata is, amivel párhuzamosan mi is fejlesztettük az általunk alkalmazott normalizálási eljárásokat.

Minden bemutatott kísérletben a feltüntetett gént normalizáltuk valamely másik, stabilan expresszálódó gén mRNS mennyiségére. Minden kísérletben egy belső standard-sort alkalmaztunk, amelyet a kísérletben szereplő minták összekeverésével, majd szekvenciális hígításával (3-5 tagú standard-sor) állítottunk elő. A leghígabb oldat koncentrációját önkényesen 1-nek tekintettük, a töményebb oldatokat pedig ehhez viszonyítva adtuk meg (pl. ha a második oldat háromszor töményebb volt az elsőnél, akkor annak a koncentrációja 3 lett). A standard sort minden futás során megmértük és a Roche készülékek második derivált módszerével operátor független módon állapítottuk meg a kritikus ciklust, majd a standard sor segítségével határoztuk meg az ismeretlen minták koncentrációját. Fontos hangsúlyozni, hogy a standard-sor így nemcsak könnyen kezelhető koncentrációkat ad, hanem így meg lehet határozni a reakció hatékonyságát, amit enélkül csak becsülni lehet. Ezen felül kontrollálni lehet, hogy megjelennek-e

párhuzamos reakciók, ami gyakori probléma SYBR Green alapú módszerek esetében. Szűrtük a termékek olvadáspontját is, ami szintén a párhuzamos reakciók kiszűrését segítette. Értelemszerűen azokat a lyukakat, ahol párhuzamos reakciót figyeltünk meg nem vettük bele az értékelésbe. Minden gén esetében így jártunk el, vagyis a mérendő és a kontroll gének esetében is ugyanúgy nyertünk expressziós adatokat, ezek a számok relatívák, mert a standard-sor koncentrációit önkényesen állapítottuk meg.

A normalizálás minden RT-qPCR mérés kiértékelésének legkényesebb része és ezen a területen az első tárgyalt közleményem megjelenése óta jelentős fejlődés ment végbe. A 2007-es JBC cikkben ciklofillinre normalizáltunk - ez volt az elfogadott kontroll gén az Auwerx laborban (Strasbourg, később Lausanne). Elosztottuk a célgén relatív expressziós értékeit a ciklofillin értékeivel és ezt ábrázoltuk. A több génre történő normalizálásnak technikai akadályai is voltak. Ezekben a kísérletekben a Roche kvarc kapillárisokkal működő, egyszerre 32 mintát befogadni képes qPCR készülékét alkalmaztam. A készülék alacsony áteresztőképessége miatt a közleményben bemutatott adatok összegyűjtése is több hónap munkája volt. A két Cell Metabolism közleményhez tartozó kísérletek végzése során már a 384 lyukú plate-tel működő Lightcycler II készüléket alkalmaztam. Ebben a két kísérletsorozatban három kontroll gént használtam: aktin, ciklofillin és 36B4. Mindhárom kontroll génre normalizáltam és hasonló eredményeket kaptam, a közleményben a 36B4-re normalizált értékeket mutattam be, ez a gén volt ebben a rendszerben a legkevésbé variábilis. Ezután vettem részt az EMBO RT-qPCR kurzusán, ahol részletesen tárgyaltuk a normalizálás elfogadott módszereit. Ezen elvek mentén a Cardiovascular Research közlemény kísérleteiben három gén (36B4, ciklofillin és 18S) expressziójának mértani középértékére normalizáltunk. Ennél a közleménynél vezettük be, hogy az adatok könnyebb értelmezhetősége érdekében a kontroll mintákat mindig 1-nek vesszük és bármilyen kezelést ehhez képest adunk meg (tulajdonképpen minden értéket elosztunk a kontroll csoportban meghatározott expresszió értékével). Ettől még minden érték egy önkényesen definiált relatív skálán marad, ezért neveztük el az y tengelyt relatív expresszióknak és mutattunk mindent önkényes egységekben.

A Bírálónak igaza van, hogy a kísérletek megítélhetőségéhez le kellett volna írnom részletesen a normalizálást.

3. *A PARP aktivitás Western blot technikával történő detektálása esetén mi lehet a domináns szignál eredete?*

A PAR Western blotokon a 110 kDa sáv, illetve a sokszor felette elhelyezkedő elmosódó jel a PARP-1 auto-PARilációja. Gyakran megjelenik egy sáv 70 kDa körül is (az alkalmazott PAR antitesttől függ a jelenléte és az intenzitása); ennek az eredete ismeretlen. Magunk is hosszasan kerestük a PARilálódó fehérjét sikertelenül – de a terület művelőivel konzultálva egyre inkább az az elfogadott álláspont, hogy ez egy aspecifikus sáv.

4. *Vizsgálták-e esetleg állatmodell segítségével a PARP-1 és PARP-2 együttes hiányának következményeit?*

A PARP-1 és a PARP-2 együttes hiánya intrauterin elhaláshoz vezet, így a jelenleg rendelkezésre álló technikával nem lehetséges ennek a vizsgálata (Menissier-de Murcia et al., 2003). Érdekes, hogy a PARP-1 vagy a PARP-2 kiütése önmagában az élettel összeegyeztethető, viszont ha más DNS repair enzimet is kiütünk párhuzamosan, az intrauterin elhaláshoz vezet (Huber et al., 2004).

5. *A jelölt felveti azt az érdekes hipotézist, hogy a PARP-inhibitoroknak anti-Warburg hatása lehet, ugyanis a mitokondriális oxidáció indukcióján keresztül csökkenthetik a mitokondriumokban zajló, tumor sejtek számára esszenciális metabolitok szintézisét. Hogyan lehetne kísérletesen tesztelni ezt az érdekes gondolatot?*

Warburg eredeti megfigyelése az volt, hogy a tumorsejtek a normál sejtekkel ellentétben oxigén jelenlétében is a glikolízist preferálják az ATP szintézishez (Warburg et al., 1927). Jelenlegi ismereteink arra utalnak, hogy ez a folyamat ennél sokkal bonyolultabb:

- (1) A sejtek nem a tumorban uralkodó hipoxia miatt váltanak a glikolízisre, hanem azért, hogy a citrátkör köztéseit anabolikus folyamatokban legyenek felhasználhatóak (pl. zsírsav szintézis).
- (2) Csak a tumorok egy részére jellemző a Warburg átrendeződés (pl. emlőtumor, gyomorbél traktus daganatai), legalábbis saját munkánk során csak bizonyos tumorok reagáltak anti-Warburg hatásokra.
- (3) Mechanizmusát tekintve gyakran több gyökerű folyamat a Warburg átrendeződés, vagyis több enzim együttes defektusa vagy működésének megváltozása szükséges a kialakulásához.
- (4), Gyakran csak a glikolízis megerősödése okozza vagy csak a mitokondriális oxidáció csökkenése, nem feltétlenül a két folyamat egyszerre bekövetkező változása,
- (5) Gyakran megfigyelhető a környező egészséges szövetekben a mitokondriális aktivitás fokozódása (reverz Warburg hatás),
- (6) Gyakran emelkedik a pentóz-foszfát shunt aktivitása.
- (7) Az adatok értelmezésénél fontos arra is figyelemmel lenni, hogy egyre több kísérlet mutat arra, hogy a metasztázis képzéshez a tumorsejtekben helyre kell állnia a mitokondriális funkciónak.

A kísérletes megközelítés mindenképpen széleskörű kell, hogy legyen, hiszen egy szerteágazó folyamattal állunk szemben. Sejteken érdemes egy teljes steady-state transzkriptom analízist végezni és az expressziós adatokat manuálisan is átfésülni (glikolízis enzimeit, pentóz-foszfát shunt enzimeit, mitokondriális oxidáció, TCA kör enzimeit). A glikolitikus fluxus és a mitokondriális oxidáció együttes tanulmányozására a Seahorse Biosciences XF96 készüléke alkalmas, itt érdemes figyelmet fordítani a mitokondriális belső membrán épségének vizsgálatára és az extramitokondriális oxidáció levonására. Ezek a vizsgálatok esetleg kiválthatóak a laktát kolorimetriás meghatározásával és más oximetriás készülék alkalmazásával. Vizsgálható a mitokondriális membránpotenciál és a gyöktermelés is. Mindenképpen hasznos valamilyen metabolomikai megközelítés alkalmazása a sejt cukor metabolizmusának tanulmányozására (pl. pentóz-foszfát shunt intermedierei), illetve a nukleotid metabolizmus vizsgálata. Érdemes vizsgálni az energiaszorongó/energiaszenzor útvonalak markereit is (AMPK, SIRT1, SIRT3, SIRT5, mTORC1, mTORC2, HIF-ek, NRF-ek). Végül érdemes figyelmet fordítani a mitotikus frakció meghatározására (pl. Ki67 festés) és a sejtciklus analízisre, mert az anti-Warburg beavatkozások lassítják a sejtciklust, illetve G1/S blokkot okoznak (Colombo et al., 2011). Saját vizsgálataink arra utalnak, hogy a G2/M átmenet is gátoltá válhat (MCF7 sejtek, metotrexát + AICAR kezelés). Amennyiben felmerül, érdemes exom szekvenálással mutációkat vagy SNP-ket keresni ismert Warburg enzimekben, mert több humán tumorban is leírták ezen enzimek mutációját (pl. SDH alegységek MENIIa szindrómában).

In vivo hasonló vizsgálatokat érdemes elvégezni a különbséggel, hogy saját vizsgálatainkban az oximetria helyett elvégzett indirekt kalorimetria alkalmazhatósága kérdéseket vetett fel, mert az állatoknál nagymértékű

testsúly vesztést tapasztaltunk a mérés végére. A glikolízist a szérum/plazma laktát meghatározásával és a 2-deoxi-glükóz felvétel meghatározásával (mikro-PET vagy ^{14}C jelölt anyag alkalmazásával) közelíthetjük meg. A mitokondriális aktivitást Tc-Mibi felvétel tanulmányozásával lehet mérni. Mindenképpen figyelemmel kell lenni a környező szövetekre a reverz Warburg-hatás megjelenése miatt (Faubert et al., 2013; Kim et al., 2013; Pavlides et al., 2009). A többi, sejteknél leírt módszer itt is alkalmazható.

6. *Az értekezés „Megbeszélés” fejezetében arról ír a szerző, hogy a PARP-1-et aktiválja az oxidatív stressz és a PARP-1 aktivációja az oxidatív stressz fokozódásához vezet. Milyen mechanizmusok korlátozhatják a sejtekben ezt az öngerősítő, az oxidatív stressz fokozódásához vezető szabályozást?*

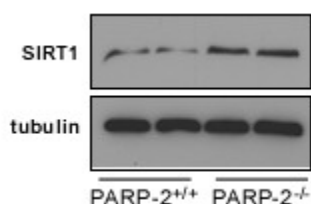
Valóban a PARP-1 aktivációja az oxidatív stressz fokozódásához vezet, míg a megnövekvő oxidatív stressz újabb DNS töréseket okoz és tovább fokozza a PARP aktivációt. A legfontosabb tényező, ami ennek a folyamatot korlátozhatja, az a PARP-1 és a PARP-2 auto-PARilációja. A PAR polimer két legnagyobb akceptora a PARP-1 és a PARP-2. A felhalmozódó negatív töltés leválasztja a PARP-1-et és a PARP-2-t a DNS-ről és így gátolja a további működésüket. Ezen a módon elkerülhető az ATP depléciónak, mitokondriális diszfunkciónak és végső soron a sejthalálnak. Hasonló módon a túlzott PARP aktiváció disszociálhat transzkripciós komplexeket és így csökkentheti a proinflammatorikus citokinek, kemokinek vagy az iNOS expresszióját. Minden valószínűség szerint ezek a folyamatok fontosak a PARP inhibitorok citoprotektív hatásának kialakításában. A PARilált PARP enzimekről a polimereket a PARG enzim nagyon hatékonyan képes lehasítani és így újra aktívá tenni a PARP-1 és PARP-2 enzimeket. Emiatt paradox módon a PARG gátlás a PARP gátláshoz hasonló fenotípust hoz létre (Bakondi et al., 2004; Erdelyi et al., 2009; Ying and Swanson, 2000).

Egy másik lehetséges mód a PARP-1 deacetilálása (Rajamohan et al., 2009), amiben a SIRT1 enzimnek van kulcsszerepe. Azonban a SIRT1-et a noxa előtt kell aktiválni, mert egyébként a PARP-1 elfogyasztja a SIRT1 szubsztrátját, a NAD^+ -ot és lehetetlenné teszi a SIRT1 aktivációt (Cantó et al., 2013).

Valamivel tágabb értelemben vizsgálva a PARP szabályozott útvonalakat, meg kell említenem, hogy a PARP-1 képes az NRF fehérjét aktiválni úgy, hogy ahhoz nem szükséges PARiláció (Hossain et al., 2009; Wu et al., 2014), ami valószínűleg segít a sejteknek a kismértékű PARP aktiváció által okozott mitokondriális diszfunkció helyreállításában.

7. *3. A 18. ábra A része, amely a SIRT-1 fehérje mennyiségének Western blot technikával detektált emelkedését hivatott mutatni, kimaradt a dolgozatból.*

Elnézést kérek azért a hibáért, alább beillesztettem a hiányzó Western blotot.



Még egyszer szeretném megköszönni Dr. Geiszt Miklósnak kritikai észrevételeit és az értekezés támogató bírálatát.

Irodalomjegyzék

- Bai, P., Canto, C., Oudart, H., Brunyanszki, A., Cen, Y., Thomas, C., Yamamoto, H., Huber, A., Kiss, B., Houtkooper, R.H., et al. (2011). PARP-1 Inhibition Increases Mitochondrial Metabolism through SIRT1 Activation. *Cell Metab* *13*, 461-468.
- Bakondi, E., Bai, P., Erdelyi, K., Szabo, C., Gergely, P., and Virag, L. (2004). Cytoprotective effect of gallotannin in oxidatively stressed HaCaT keratinocytes: the role of poly(ADP-ribose) metabolism. *Exp.Dermatol.* *13*, 170-178.
- Canto, C., Houtkooper, R.H., Pirinen, E., Youn, D.Y., Oosterveer, M.H., Cen, Y., Fernandez-Marcos, P.J., Yamamoto, H., Andreux, P.A., Cettour-Rose, P., et al. (2012). The NAD(+) Precursor Nicotinamide Riboside Enhances Oxidative Metabolism and Protects against High-Fat Diet-Induced Obesity. *Cell Metab* *15*, 838-847.
- Cantó, C., Sauve, A., and Bai, P. (2013). Crosstalk between poly(ADP-ribose) polymerase and sirtuin enzymes. *Molecular Aspects of Medicine* *34*, 1168-1201.
- Colombo, S.L., Palacios-Callender, M., Frakich, N., Carcamo, S., Kovacs, I., Tudzarova, S., and Moncada, S. (2011). Molecular basis for the differential use of glucose and glutamine in cell proliferation as revealed by synchronized HeLa cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* *108*, 21069-21074.
- Erdelyi, K., Bai, P., Kovacs, I., Szabo, E., Mocsar, G., Kakuk, A., Szabo, C., Gergely, P., and Virag, L. (2009). Dual role of poly(ADP-ribose) glycohydrolase in the regulation of cell death in oxidatively stressed A549 cells. *Faseb J.* *23*, 3553-3563.
- Faubert, B., Boily, G., Izreig, S., Griss, T., Samborska, B., Dong, Z., Dupuy, F., Chambers, C., Fuerth, B.J., Viollet, B., et al. (2013). AMPK Is a Negative Regulator of the Warburg Effect and Suppresses Tumor Growth In Vivo. *Cell Metab* *17*, 113-124.
- Geng, B., Cai, Y., Gao, S., Lu, J., Zhang, L., Zou, J., Liu, M., Yu, S., Ye, J., and Liu, P. (2013). PARP-2 knockdown protects cardiomyocytes from hypertrophy via activation of SIRT1. *Biochem Biophys Res Commun* *430*, 944-950.
- Hossain, M.B., Ji, P., Anish, R., Jacobson, R.H., and Takada, S. (2009). Poly(ADP-ribose) Polymerase 1 Interacts with Nuclear Respiratory Factor 1 (NRF-1) and Plays a Role in NRF-1 Transcriptional Regulation. *J Biol Chem.* *284*, 8621-8632.
- Huber, A., Bai, P., Menissier-de Murcia, J., and de Murcia, G. (2004). PARP-1, PARP-2 and ATM in the DNA damage response: functional synergy in mouse development. *DNA Repair (Amst).* *3*, 1103-1108.
- Kim, S., Kim do, H., Jung, W.H., and Koo, J.S. (2013). Metabolic phenotypes in triple-negative breast cancer. *Tumour Biol* *34*, 1699-1712.
- Liang, Y.C., Hsu, C.Y., Yao, Y.L., and Yang, W.M. (2013). PARP-2 regulates cell cycle-related genes through histone deacetylation and methylation independently of poly(ADP-ribosylation). *Biochem Biophys Res Commun* *431*, 58-64.
- Menissier-de Murcia, J., Ricoul, M., Tartier, L., Niedergang, C., Huber, A., Dantzer, F., Schreiber, V., Ame, J.C., Dierich, A., LeMeur, M., et al. (2003). Functional interaction between PARP-1 and PARP-2 in chromosome stability and embryonic development in mouse. *EMBO J.* *22*, 2255-2263.
- Mohamed, J.S., Hajira, A., Pardo, P.S., and Boriek, A.M. (2014). MicroRNA-149 Inhibits PARP-2 and Promotes Mitochondrial Biogenesis via SIRT-1/PGC-1alpha Network in Skeletal Muscle. *Diabetes* *63*, 1546-1559.

Pavrides, S., Whitaker-Menezes, D., Castello-Cros, R., Flomenberg, N., Witkiewicz, A.K., Frank, P.G., Casimiro, M.C., Wang, C., Fortina, P., Addya, S., et al. (2009). The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle* 8, 3984-4001.

Pirinen, E., Cantó, E., Jo, S.K., Morato, L., Zhang, H., Menzies, K.J., Williams, E.G., Mouchiroud, L., Moullan, N., Hagberg, C., et al. (2014). Pharmacological Inhibition of Poly(ADP-Ribose) Polymerases Improves Fitness and Mitochondrial Function in Skeletal Muscle. *Cell Metab* 19, 1034-1041.

Rajamohan, S.B., Pillai, V.B., Gupta, M., Sundaresan, N.R., Konstatin, B., Samant, S., Hottiger, M.O., and Gupta, M.P. (2009). SIRT1 promotes cell survival under stress by deacetylation-dependent deactivation of poly (ADP-ribose) polymerase 1. *Mol Cell Biol* 26, 4116-4129.

Warburg, O., Wind, F., and Negelein, E. (1927). The Metabolism of Tumors in the Body. *J Gen Physiol* 8, 519-530.

Wu, T., Wang, X.J., Tian, W., Jaramillo, M.C., Lau, A., and Zhang, D.D. (2014). Poly(ADP-ribose) polymerase-1 modulates Nrf2-dependent transcription. *Free Radic Biol Med* 67, 69-80.

Ying, W., and Swanson, R.A. (2000). The poly(ADP-ribose) glycohydrolase inhibitor gallotannin blocks oxidative astrocyte death. *Neuroreport* 11, 1385-1388.

Zhang, L., Chai, E., Qi, Y., He, J., and Zhang, Y. (2014). Alpha-lipoic acid attenuates cardiac hypertrophy via downregulation of PARP-2 and subsequent activation of SIRT-1. *Eur J Pharmacol*, DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.1009.1037.

Debrecen, 2014. november 5.

