

## **Bírálati vélemény**

**Dr. Jost Norbert László**

**Az antiaritmiás és proaritmiás hatások mechanizmusának celluláris szintű vizsgálata  
emlőszívekben**

**című**

**MTA doktori értekezéséről**

Jost doktor a nemzetközileg is elismert Szegedi Szívelektrofiziológiai Kutatócsoport munkatársaként több évtizede foglalkozik különböző gyógyszer, illetve gyógyszer jelölt molekulák hatásainak tanulmányozásával, valamint a szív akciós potenciáljának kialakításáért felelős ionáramok tanulmányozásával. A tématerület nemzetközileg is elismert kutatója. Értekezésében a Szegedi Tudományegyetem Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetében végzett tudományos munkásságát foglalta össze.

A 24 oldal terjedelmű bevezetésben Jelölt részletesen tárgyalja a szívizomsejtek (mind pitvari, mind kamrai miociták) elektrofiziológiai sajátosságait, a különböző szívizombetegségek hátterében álló patológiás mechanizmusok, valamint az aritmiák kezelésére szolgáló gyógyszerek lehetséges hatásmechanizmusait. Szerző külön kitér a jelenleg alkalmazott antiaritmiás szerek esetleges pro-aritmiás hatásainak értelmezésére, valamint arra a sajnálatos tényre, hogy a forgalomban lévő antiaritmiás szerek egy részének krónikus alkalmazása megemelkedett mortalitással párosul. Jelölt munkájában négy alapvető célkitűzést fogalmazott meg, egyrészt tisztázni kívánta számos új vagy régi fejlesztésű antiaritmiás hatású vegyület hatásmechanizmusát, másrészt meg kívánta határozni az akciós potenciál repolarizációjában szerepet játszó kálium áramokat. Vizsgálni kívánta továbbá a permanens pitvarfibrilláció patofiziológiai hatásait, ennek kivédésének lehetőségeit, illetve a nátrium-kalcium cseremechanizmus (NCX) gyógyszeres befolyásolhatóságát.

Ennek megfelelően Szerző eredményeit és azok megbeszélését a fenti célkitűzéseinek megfelelően mutatja be, összesen 107 oldalon. Az alkalmazott módszerek, az elért eredmények demonstrálásához összességében 48 ábrát és 13 táblázatot használt. Ábrái jól szerkesztettek, demonstratívak és a hozzájuk fűzött ábraszövegek alapján az esetek túlnyomó többségében önállóan is értelmezhetőek. A táblázatokban közölt adatok világosak, könnyen értelmezhetőek. Az értekezésben megadott, mások által megfogalmazott ismeretek demonstrálására összességében 268 irodalmi hivatkozást használ fel, melyek egyrészt az adott tématerület átfogó ismeretét bizonyítják, másrészt kellő gondossággal történő válogatást jelentenek az egyébként igen extenzív – a kardiológia, azon belül a szív-elektrofiziológiai – kutatások témakörében megjelent tudományos munkákból. Szerző a témakörben összességében 25 *in extenso* tudományos közleményt publikált, emellett 3 könyvfejezet, 2 monográfia és 4 szabadalom köthető a nevéhez.

Bár a szöveg rendkívül olvasmányos és részletesen tárgyalja mind a vonatkozó szakirodalmi előzményeket, mind a Jelölt által végzett tudományos munkát, itt-ott túlságosan extenzív. Az egyes tények az értekezésben többször leírásra kerülnek, a bevezetésben bemutatott irodalmi háttér és az ott megfogalmazott gondolatok, néha túlzóan kerülnek megismétlésre az eredmények fejezetben az adott kísérletes protokoll és munka szükségességének mintegy igazolásaképpen. Tekintettel az értekezés terjedelmére az olvasó „megkímélése” érdekében szerencsés lett volna vagy a bevezetésben kevesebb időt tölteni a kísérletek igazolásának szükségességével illetve az irodalmi háttér bemutatásával vagy az eredmények fejezetben

foglalkozni ezzel kevesebbet. A nagy terjedelem óhatatlanul magával hozta, hogy az értekezésben számos elírás, pontatlan megfogalmazás fordul elő, ezekre a teljesség igénye nélkül az alábbiakban néhány példát mutatok be.

#### Pontatlan megfogalmazások

5. oldal „A testfelszíni elektrokardiogram valójában a szívvet alkotó szívizomsejtek akciós potenciáljainak (AP) az algebrai összege.”

Nem megfelelő egyeztetés, vagy elírás

4. oldal „gyógyszereket az ismert a 4 osztályba soroló”

5. oldal „anyagforrást mozgósítottak/mozgósítanak meg”

6. oldal „Kutatásaim fő célja... köré fókuszálódtak elsősorban.”

12. oldal „a kilencvenes éve második”

18. oldal egyszer „paroxizmális” másszor „paroxysmalis”

A vesszők nem megfelelő elhelyezése

2. oldal „igény van, új hatékony”

8. oldal „munkahipotézis volt, az hogy az NCX”

11. oldal „I<sub>KA</sub>,Ch”

Hibás referencia

11. oldal „(MJ 1999)”

### Megjegyzések, kérdések

#### 1. ábra

Szerencsés lett volna az ábrán feltüntetni az akciós potenciál mellett az idő és feszültség tengelyek megfelelő értékeit.

#### 6. ábra

Nem világos, hogy a tesztvegyület hatását Jelölt miért a C és D panelek különbségeként értelmezi, miért nem a B és C panel különbségeként, ugyanis kontroll oldatban a NCX áram a B és D panel különbsége, a tesztvegyület jelenlétében az NCX áram a C és D panel különbsége, így a Bíráló értelmezésében a tesztvegyület hatása az a B és C panel különbsége kellene, hogy legyen.

#### 9. ábra

Bíráló számára nem világos, hogy az A panelen bemutatott akciós potenciálok esetén a vizsgált szerek alkalmazása előtt egyik esetben (felső panel) az akciós potenciálok hossza a bemutatott skála alapján 300 msec (dronedaron hiányában), míg a másik esetben (alsó panel, amiodaron hiányában) 3000 msec. Ténylegesen ekkora különbségek voltak az akciós potenciál hosszában, vagy ez a skálák pontatlan megadása miatt van így?

#### 13. ábra C panel

Jelölt a vizsgált szer I<sub>Kr</sub> és I<sub>Ks</sub> áramokra vonatkozó dózis hatás görbéit feltételezhetően Hill-egyenlettel illesztette, s míg a fél gátló dózisok a két áram esetén megadásra kerültek, a vonatkozó Hill-coefficiens nem kerültek feltüntetésre. A görbék lefutása alapján feltételezhető, hogy a két Hill-coefficiens eltérő. Alátámasztják-e ezt a feltételezést az illesztésből kapott értékek? Amennyiben igen mi lehet az eltérő értékek – azaz az esetleges eltérő számú molekula kötődésének – hátterében.

#### 15. ábra A panel

Bíráló számára nem világos, hogy az „Onset” kinetika illesztése esetén Jelölt a tedisamil jelenlétében kapott értékekre miért egy-exponenciális illesztését választotta. A pontok – legalábbis a Bíráló számára – egy két-exponenciális lefutású függvénnyel jobban jellemezhetőek lettek volna, ezt alátámasztani látszik, hogy a kezdeti impulzusok esetén a pontok az illesztett görbe alatt, míg a későbbi impulzusok esetén a pontok a görbe felett, majd a legutolsó impulzusok alatt a pontok ismét a görbe alatt helyezkednek el. Összevetve a kontroll és a tedisamil kezelés kapcsán kapott pontokat – legalábbis szemre – úgy tűnik, mintha a tedisamil jelenlétében kapott (amennyiben a két-exponenciális illesztés megtörtént volna) lassabb kinetika a kontrollnak felelt volna meg és egy gyorsabb kinetika is megjelent volna. Mi erről Jelölt véleménye?

### **17. ábra A panel**

A bemutatott három – kontroll körülmények között mért – akciós potenciál kinetikája jelentősen eltér. Bíráló számára nem világos, hogy ez egyedi variabilitást tükröz, vagy esetleg a különböző területekről származó szívizomsejtek miatt van így?

### **27. ábra**

A bemutatott ko-lokalizáció az ábrák alapján egyértelmű. Van-e valamilyen információ arra nézve, hogy ez a sejteken belül milyen organellumhoz köthető? Történtek-e olyan immunfluoreszcens festések, melyek a sejten belüli organellumot azonosíthatják volna?

### **29. ábra**

Bíráló számára nem világos, hogy a bemutatott  $I_{net}$  hogyan viszonyul a szintén bemutatott  $I_{K1}$  és  $I_{Kr}$  áramokhoz. Szerencsés lett volna az A panelen az utóbbi két áram összegét is feltüntetni és összehasonlítani az  $I_{net}$ -tel. Annál is inkább, mert a B panelen bemutatott értékek esetén is nehéz szemre megállapítani, hogy az  $I_{K1}$  és  $I_{Kr}$  áramok csúcsáram-értékeinek összege mennyiben felel meg a bemutatott  $I_{net}$  áram csúcsértékének.

### **33. ábra**

A bemutatott single-channel aktivitások esetén szerencsés lett volna jelölni az  $I_{K1}$  és az  $I_{K,ACh}$  csatorna megnyílásait reprezentáló áram amplitúdókat. Van-e valamilyen tapasztalata Jelöltnek arra, hogy milyen gyakorisággal fordult elő a patch-ben  $I_{K1}$  illetve  $I_{K,ACh}$  csatorna? Volt-e olyan, hogy egy patch-ben több  $I_{K1}$  és/vagy több  $I_{K,ACh}$  csatorna jelent meg? Ha igen, ezek a mérések is kiértékelésre kerültek-e? Lehetne-e a patch-ben megfigyelhető csatornaszámból következtetést levonni arra vonatkozóan, hogy hány ilyen csatorna található a sejt teljes felszínén? Amennyiben igen, összevethető-e az így kapott csatornadenzitás, valamint az ábrán is bemutatott single-channel konduktancia a teljes sejten mért áram amplitúdókkal? Ez annál is inkább érdekes lenne, mert – amennyiben a fenti két érték jó egyezést mutatna – ez egy független bizonyítéka lehetne az akciós potenciál – clamp mérésekben meghatározott áramkomponens valódiságára.

A fent feltett kérdéseim a disszertációval kapcsolatos általános véleményemet, miszerint a bemutatott eredmények messzemenőig teljesítik az MTA doktori cím elnyeréséért meghatározott követelményeket, nem befolyásolják, pusztán az érdeklődő fiziológus kíváncsiságát tükrözik. Épp ezért összességében megállapítom, hogy Jost Norbert László tudományos munkája az MTA által támasztott követelményeknek mindenben megfelel, számára az MTA doktora cím odaítélését javaslom.

Jelölt új tudományos eredményeinek az alábbiakat fogadom el:

1. Elektrofiziológiai módszerekkel megvizsgálta az  $I_{Kr}$  és  $I_{Ks}$  áramok kamrai szívizomsejtek akciós potenciáljának repolarizációjában játszott szerepét. Megállapította, hogy az  $I_{Kr}$  tekinthető a legfontosabb repolarizáló kamrai káliumáramnak.
2. Megállapította, hogy emberi kamrai szívizmon egyféle típusú káliumcsatorna szelektív gátlása önmagában nem eredményez jelentős akciós potenciálhossz megnyúlást, vagyis a kamrai szívizomsejtek jelentős „repolarizációs tartalékkal rendelkeznek”.
3. Megállapította, hogy pitvarfibrillációban bekövetkező „elektromos re-modelling” háttérben az acetilkolin-szenzitív káliumáram működésének jelentős átrendeződése is szerepet játszik.
4. Igazolta, hogy a RL-3 racém vegyület két optikai enantiomerje ellentétes hatással modulálja az  $I_{Ks}$  áramot. A jobbra forgató enantiomer aktiváló, míg a balra forgató enantiomer gátló hatással rendelkezik, így a jobbra forgató enantiomer molekula alkalmas az  $I_{Ks}$  aktivátor vegyületek, mint antiaritmiás szerek ellenőrzésére.
5. Megállapította, hogy egyértelmű ko-lokalizáció mutatható ki a Kir2.1 illetve a Kir2.2 és a SAP97 alegységek között. Mivel az asszociált Kir2.x és SAP97 alegységek megváltoznak betegség alatt, felvethető hogy a ko-lokalizált Kir2.x és SAP97 csatornák gyógyszerjelölt támadáspontok lehetnek.
6. Megállapította, hogy a GYKI-16638 és a KC-8857 (tedisamil) kódjelű vegyületek és a dronedaron kombinált multicatsatornagátló hatással rendelkeznek, s mint ilyenek gyógyszerjelölt antiaritmiás szerek lehetnek.
7. Igazolta, hogy két újonnan szintetizált szer, az ORM-10103 és a GYKB-6635 vegyületek koncentrációfüggő módon szelektíven gátolják az NCX áramot, ezért mindkét szer alkalmas az NCX áram szerepének elektrofiziológiai vizsgálatára.

Debrecen, 2020. 01. 31.

Dr. Csernoch László  
egyetemi tanár, az MTA doktora