

## **Opponensi vélemény**

Pósa Anikó

### **„Az ösztrogén hormon, a hem-oxigenáz enzimrendszer és az életmódbeli tényezők prevenció szerepe a kardiovaszkuláris rendszert érintő folyamatokban”**

*című MTA doktori értekezéséről*

#### **Általános értékelés:**

Pósa Anikó benyújtott értekezésében egyes intervenciók lehetséges kardioprotektív hatásait, azok nemmi különbségeit és az ezeket közvetítő mechanizmusokat kívánta vizsgálni. A modern kardiológia megoldásra váró alap problémáira keres választ a Jelölt, vitán felül áll a témaválasztás indokoltsága és időszerűsége. Kiemelendő, hogy céljai eléréséhez széles metodikai bázist használ fel, eredményei komoly transzlációs potenciállal bírnak.

#### **Formai szempontok:**

Az értekezés 161 oldalnyi, magyar nyelven írott szövegből áll, az érdemi rész 114 oldalt tesz ki, melyet 332 jól válogatott irodalmi hivatkozás egészít ki. A disszertáció megértését 50 ábra segíti elő. Az értekezés logikusan szerkesztett, belső arányai megfelelőek, fejezetei kellő gondossággal íródtak, kivitelezése szemre tetszetős. Az értekezés nyelvezete gördülékeny, az előforduló gépelési hibák a disszertáció megértését érdemben nem befolyásolják, ezekre külön nem térek ki.

#### **Tartalmi szempontok:**

A bemutatott eredmények a Jelölt saját tudományos megfigyelésein nyugszanak, a Szerző meghatározó szerepét hangsúlyozza, hogy közleményei közül döntően első, illetve utolsó szerzős publikációkat használt fel az értekezés elkészítéséhez. Az alkalmazott módszertan megfelelően megválasztott, releváns kísérletes modelleken vizsgálódott a modern kísérletes kardiológia elfogadott eljárásait felhasználva. Az értekezés egy gondosan megtervezett, koherens kutatási program megvalósítását mutatja be.

#### **Szcientometriai szempontok:**

A benyújtott értekezéshez 10 *in extenso*, eredeti, nemzetközi közlemény kapcsolódik közvetlenül a 2010 és 2022 közötti időszakból. A közlemények közül a Jelölt 5 esetben első szerző, míg 4 esetben utolsó szerző. Az értekezésben felhasznált közlemények rangos nemzetközi folyóiratokban jelentek meg, mint az American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, Catheterization and Cardiovascular Interventions, valamint az Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Ezen publikációkra 204 független citáció érkezett, a legmagasabb idézettségű közleménye 100 hivatkozással rendelkezik. Az értekezés benyújtásáig a Jelölt 78 publikációt jegyzett, melyekre 1588 független hivatkozás érkezett. Megállapítható, hogy a Jelölt egyértelműen megfelel az MTA Doktori Szabályzatában megfogalmazott, valamint az Orvosi Tudományok Osztálya által támasztott követelményeknek.

## **Az MTA doktori értekezés részletes bírálata:**

### ***Bevezetés és célkitűzések:***

A Jelölt világosan, információ-gazdag módon, ugyanakkor kellő önmérsékletet gyakorolva foglalja össze a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás rizikóját növelő, illetve potenciálisan csökkentő tényezők igen terjedelmes irodalmát. Kiemelt figyelmet szentel a kardiovaszkuláris rizikó szexuális dimorfizmusának az ösztrogén szerepére fókuszálva, a fizikai aktivitás, a diéta, és az öregedés kérdésének. Bemutatja a szív iszkémiás prekondicionálását közvetítő jelátviteli mechanizmusokat, valamint az ateroszklerotikus koronáriák tágítására szolgáló új, innovatív eljárást, a gyógyszerkibocsátó ballonok használatát. E témák ismertetése során fogalmazza meg a Jelölt a megválaszolásra váró fő tudományos kérdéseit, illetve nevezi meg az értekezés mértéktartó, világos célkitűzéseit.

### ***Módszerek és anyagok:***

A választott modern módszertan széles metodikai bázison nyugszik, melyeket a Jelölt magas színvonalon alkalmazott. Az állatmodellek számos patológiás állapotot képeztek le (ösztrogénhiányos állapot, diszlipidémia, 2-es típusú cukorbetegség, miokardiális infarktus), melyek egy részében a fokozott fizikai aktivitás (futókeréken végzett önkéntes futás, úszás) hatásait vizsgálták. A metodikai arzenál magában foglalta a hemodinamikai paraméterek követését, EKG monitorozást, szívultrahang vizsgálatokat, hisztológiai, biokémiai és molekuláris biológiai vizsgálatokat. Ugyanakkor, pontosítani szükséges egyes esetekben a vizsgált paramétereket, illetve vizsgálati módszereket. A 8a. ábrán vérnyomás szerepel, ezen az artériás középnyomás értendő? A 9. és 18. ábrákon bemutatott eredményeknél miként mérték a szívperfúziót az izolált szívpreparátumon? A sertés infarktus modellben milyen módszerrel vizsgálták a mikrovaszkuláris diszfunkciót? Sajnálatos, hogy az "Anyagok és módszerek" fejezetben nem található meg a használt statisztikai módszerek leírása. Alternatívaként szolgálhat a használt analízisek bemutatása az ábrákon, azonban erre csupán az "Eredmények" fejezet 36. ábrájától kerül sor. A 36-40a. ábrák esetén Student t-teszt helyett kétutas ANOVA-t lett volna szükséges alkalmazni megfelelő post hoc teszttel (Isd. Weissgerber et al. eLife 2018;7:e36163. DOI: 10.7554/eLife.36163).

### ***Eredmények és megbeszélés:***

Az eredmények bemutatása logikus felépítésű, a szöveges részhez kapcsolódó ábrák alapvetően világosan szerkesztettek, fontos segítséget nyújtanak a szöveg megértésében. Néhány pontatlanság vár tisztázásra. A 34b. és a 35b. ábra azonosnak tűnik. A 15. ábra feliratában helyesen jelölte a fekete oszlopokat "SnPP kezelés"-ként? A 34b. ábra esetében az "a"-val jelzett szignifikancia mire utal? A „Diskusszió” fejezetben a Jelölt a kapott eredményeket magas színvonalon taglalja, kritikusan, számos szempontot figyelembe véve mutatja be azokat. Kiemelendő a bemutatott eredmények komoly translációs értéke.

### ***Új tudományos eredmények összegzése:***

A Jelölt 10 alpontra szedve foglalja össze az értekezés legfontosabb észleléseit.

## **A Jelölt önálló, új tudományos eredményeként a következőket fogadom el:**

1. Hím patkányok esetében a kardiovaszkuláris provokációs tesztekkel (AVP-indukálta vérnyomás emelkedés és aorta gyűrű konstriktió,  $\beta$ -adrenerg stimulációval kiváltott miokardiális iszkémia) markáns válaszok voltak kiválthatóak a nőstényekhez képest. Kimutatta, hogy ezen jelenségekért, jelentős mértékben, a nőstényekben mérhető magasabb szöveti HO expresszió/aktivitás áll, a HO farmakológiai gátlása mérsékelte a nemek közötti eltéréseket a válaszokban.
2. Kimutatta, hogy a kísérletes úton létrehozott ösztrogénhiányos állapotú, illetve idős nőstény patkányok bal kamrájában alacsonyabb a HO expresszió/aktivitás, magasabb az IL-6 és a TNF- $\alpha$  szint, valamint a MPO aktivitás, továbbá fokozódik a szív iszkémiával szembeni érzékenysége, mely HO-gátlás esetén tovább romlik.
3. Kimutatta a futókeréken történő, tartós, önkéntes futás védő hatását a szív iszkémiára való hajlamára és az elszenvedett szívinfarktus méretére hím patkányokon, mely hatások kialakulásában szerepet játszhat a szisztémás és lokális MMP-2 aktivitás csökkenése.
4. Leírta, hogy ovariektómián átesett patkányokban a bal kamra és aorta HO expressziója/aktivitása jelentősen csökken, míg a MPO expresszió/aktivitás nő, továbbá, ezen változásokat a tartós, önkéntes testmozgás nagyrészt korigálni képes.
5. Megállapította, hogy tartós, önkéntes fizikai aktivitás csökkenti az ezt követően indukált miokardiális infarktus méretét 2-es típusú diabéteszes hím Goto-Kakizaki patkányokban, a védő hatáshoz hozzájárulhat szív- és aorta megnövekedett cNOS és HO aktivitása.
6. Kimutatta, hogy farmakológiai ovariektómián átesett, ösztrogénhiányos patkányokban az ISO-indukálta miokardiális károsodást követően a tartós testmozgás fokozza a szív HO aktivitását és GSH szintjét, míg az MPO aktivitást és a TNF- $\alpha$  koncentrációt csökkenti.
7. Leírta, hogy idős hím patkányokban nagyobb kiterjedésű a szívinfarktus a nőstény egyedekhez képest, továbbá a tartós, önkéntes fizikai aktivitás mindkét nemben csökkenti az infarktus méretét, azonban a nemek közötti különbség fennmarad. A kedvező változásokat a Comt és Ogn gének expressziójának csökkenése és Pcp4 gén expressziójának növekedése kíséri a szívizomban.
8. Az ISO kezelés csökkenti az antioxidáns GSH termelését és indukálja az MPO-IL6-TNF- $\alpha$  gyulladást az útvonalat a herekben és az ondóban, ami herekárosodáshoz vezet. Kimutatta, hogy a tartós, mérsékelt intenzitású úszás hatékonyan enyhíti az ISO által kiváltott gyulladást és növeli az antioxidáns védelmet a férfi reproduktív rendszerben.
9. Sertés modellen kimutatta, hogy az iszkémiás prekondicionálás csökkenti az infarktus méretét és a szérumban MPO aktivitást, valamint növeli a cNOS aktivitást az infarktus területén.
10. Kidolgozta a DIOR bevonattechnológiás paclitaxelt tartalmazó koronária tágító ballon biztonságos és hatékony alkalmazását sertés modellen.

## **A következő kérdéseket kívánom intézni a Jelölthöz:**

1. Diszkrét mutatók mutatkoznak egyes esetekben az eredmények leírása és az ábrák látható adatok között. Kérem, tisztázza a kérdéseket!
  - (a) Az 51. oldalon a következő állítás szerepel: "A HO enzimszisztéma gátlása minden csoportban jelentős vérnyomás emelkedést okozott (nőstény:  $31,1 \pm 2,23$ - $49,5 \pm 2,76\%$ ; hím csoport:  $24,90 \pm 1,12$ - $61,10 \pm 1,53\%$ )."

A 8b. ábra alapján a nőstényekben a HO-gátlás valóban jelentősen növelte az AVP-re adott vérnyomás választ minden dózis mellett, ugyanakkor a hím egyedekben ez a hatás mérsékelt volt, egyetlen AVP dózis mellett látható szignifikáns fokozódás HO-gátlás során.

- (b) Az 52. oldalon a következő állítás szerepel: "A hím állatokban ( $9,30 \pm 1,108-26,70 \pm 1,711\%$ ) az AVP szignifikánsan ( $P < 0,05$ ) nagyobb szívperfúzió-csökkenést okozott, mint a nőstény csoportban ( $3,30 \pm 0,72-11,70 \pm 2,61\%$ ). A HO enzimrendszer gátlása (...) szignifikáns súlyosbodást okozott minden csoportban (nőstény:  $5,10 \pm 0,83-15,0 \pm 1,90\%$ ; hím csoport:  $15,10 \pm 1,19-38,10 \pm 2,72\%$ )."

A 9b. ábra szerint a hímek esetén a HO-gátlás mindhárom AVP dózisra adott választ jelentősen fokozta, míg a nőstények esetében csak egy AVP dózis mellett volt ez a hatás megfigyelhető.

- (c) Az 54. oldalon a következő állítás szerepel a HO-gátlás hatásáról az aorta összehúzódásra: "A HO enzimrendszer gátlása (...) minden csoportban súlyosbodást okozott (...)."

10. ábra tanúsága szerint a HO-gátlás csupán a nőstényekben fokozta az aorta gyűrűk kontrakcióját.

- Mivel magyarázható, hogy a HO-gátlás azonos nemű egyedekben eltérően befolyásolta az AVP-re adott egyes biológiai válaszokat? A nőstényekben mért magasabb szöveti HO expresszióval/aktivitással összhangban, az AVP-indukálta vérnyomás emelkedés (8b. ábra), valamint az aorta gyűrűk konstriktója (10. ábra) kifejezettebb volt a hímekben tapasztaltakhoz képest. Ezzel szemben, az izolált szívpreparátumon vizsgált szívperfúzió csökkenést (9b. ábra) minimálisan befolyásolta a HO-gátlás nőstényeken, míg kifejezett válaszok voltak detektálhatóak hím egyedeken.
- A 4. kísérleti elrendezés során, a magas triglicerid tartalmú diéta, illetve az ovariectomia metabolizmusra gyakorolt hatásai mennyiben hasonlíthatnak? A magas triglicerid tartalmú diéta, illetve az ovariectomia potenciális negatív hatásai mennyiben tekinthetők additívoknak? A futás miként befolyásolta az egyes csoportok egyedeinek metabolikus paramétereit, testtömegét, illetve testösszetételét?
- Az "Anyagok és módszerek" 6. alfejezete szerint az ISO-indukálta szívkárosodást TTC festéssel igazolták (34. oldal), azonban az "Eredmények" megfelelő alfejezetében nem szerepelnek ezen eredmények. Miként alakult az infarktus mérete az egyes csoportokban? Észleltek különbséget a mortalitásban a csoportok között? Az önkéntesen végzett futás miként befolyásolta az ISO-indukálta bal kamrai remodellációt farmakológiai ovariectomia esetén?
- Az "Anyagok és módszerek" fejezet szerint a 7. kísérleti elrendezés során echokardiográfiai vizsgálatokat végeztek az idős futó, illetve nem futó állatokon (35. oldal). Ezen eredményekre a "Diskusszió" (107. oldal) és a "Következtetések" fejezetben (120. oldal) is hivatkozik a Jelölt, ugyanakkor az "Eredmények" 7. alfejezetében nem találtam nyomát a konkrét adatoknak. A vizsgált gének expressziója (Comt, Ogn, Pcp4, Esm1 gének) mutatott korrelációt a szívek strukturális és funkcionális paramétereivel, illetve a kialakult infarktus méretével?
- A 114. oldalon a következő szerepel: "Kísérleteinkben a leukocita aktivációs MPO marker emelkedett szintje negatívan korrelált a cNOS szöveti szintjével és a mikrovaskuláris átjárhatóság mutatóival." Az "Eredmények" 9. alfejezetében nem találhatóak meg ezen eredmények. Kérem, mutassa be a hivatkozott korrelációs adatokat!

7. A klinikai gyakorlatban az ösztrogénkezelés mennyire bizonyult hatékonynak a posztmenopauzális fokozott kardiovaszkuláris kockázat csökkentésében? Az ösztrogénhiányon túl, milyen alternatív mechanizmusok szerepe vehető fel a fokozott rizikó magyarázataként?
8. A gyógyszerkibocsátó ballonokkal végzett kísérleteik eredményeit 2010-ben publikálták (Posa, Nyolczas et al. 2010). Eredményeik miként formálták ezen technika klinikai alkalmazásának utóéletét az elmúlt 15 évben?

Megállapítom, hogy Pósa Anikó jelentős tudományos teljesítményt ért el munkássága során, eredményei hozzájárultak e tudományterület továbbfejlődéséhez. A benyújtott MTA doktori értekezés formai szempontból megfelelően elkészített, tartalmilag jelentős, önálló tudományos megfigyeléseken alapul. Mindezek fényében egyértelműen javaslom az értekezés nyilvános vitára történő bocsátását és az MTA doktora cím odaítélését.

Pécs, 2025. február 5.



Dr. Szokodi István  
az MTA doktora