

**MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**Természetes forrásból származó bioaktív anyagok és  
derivátumaik hatásainak vizsgálata kardiovaszkuláris, illetve  
metabolikus betegségek preklinikai modelljein**

Juhász Béla



**DEBRECENI EGYETEM  
ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR  
FARMAKOLÓGIAI ÉS FARMAKOTERÁPIAI INTÉZET  
DEBRECEN**

**2024**

# Tartalomjegyzék

Bevezetés.....	1
Célkitűzés .....	9
Anyagok és módszerek.....	10
Kísérleti elrendezések .....	10
Alkalmazott metodikák .....	13
Statisztikai elemzés .....	14
Eredmények és diszkusszió.....	15
Következtetések .....	30
Köszönetnyilvánítás .....	33
A disszertáció alapjául szolgáló közlemények.....	38
Tudományometriai adatok.....	40

## Bevezetés

### Diszlipidémia és az ateroszklerózis

Az érlemezés az érfal krónikus gyulladással megbetegedése, amely a közepes - és nagy artériákat érinti. Kialakulásában nagy szerepe van a magas LDL-koleszterinszintnek, a magasvérnyomás betegségnek, a cukorbetegségnek és a dohányzásnak. Számos súlyos következménye van, úgymint stroke, koronária megbetegedés és perifériás artériás érbetegség. Az érlemezés jelenségének leírása már a 15-16. századra nyúlik vissza. Leonardo da Vinci az elsők között vetette papírra, hogy a „hártyák” megvastagodása a véráramlás akadályozottságát eredményezi idős egyéneknél. Egészséges egyéneknél az endotélium nem átjárható a vérben keringő immunsejtek számára. Állatkísérletekben kimutatták, hogy ateroszklerotikus étrend hatására adhéziós molekulák (VCAM-1) jelennek meg az endoteliális sejteken, amelyek segítik a monociták és T-limfociták kitapadását és átjutását az subendoteliális térbe. Emellett iniciáló tényező lehet az endotélium sérülése, rendellenes lipidmetabolizmus, gyulladáskeltő mediátorok jelenléte és a hemodinamikai károsodás, mely során áramlás-mediált gyulladással kapcsolatos változások alakulhatnak ki az endotéliumban. Ez a folyamat az endoteliális sejtek aktivációjához vezet, melyet adhéziós molekulák (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin) fokozott termelése követ. Az adhéziós molekulák jelenléte lehetővé teszi a monociták érfalba történő vándorlását és szöveti makrofágokká alakulását. Az érfal fokozott átjárhatósága lehetővé teszi a koleszterin-tartalmú LDL partikulumok bejutását és következményes felhalmozódását az érfalban. A felhalmozódás annál nagyobb mértékű, minél magasabb az LDL plazmakoncentrációja, ezáltal válik a hiperkoleszterinémia súlyos rizikófaktorrá. A habos sejtek felhalmozódása alkotja a zsíros csíkot (fatty streak), kis mennyiségű limfocita és simaizomsejt kíséretében. Az ateroszklerotikus plakk érésénél a felhalmozódott habos sejtek folyamatos pusztulása is megfigyelhető. Az apoptotikus sejtek és a belőlük kiszabaduló magas zsírtartalmú massa alkotja a plakk nekrotikus magját. Az oxidált LDL felhalmozódása stimulálja az endoteliális sejtek gyulladáskeltő aktivitását, ezáltal növekedési faktorokat, citokineket és makrofág kolónia stimuláló faktort kezdenek termelni. Az aktivált makrofágok és endotél sejtek által termelt citokinek és növekedési faktorok fokozzák a simaizom proliferációt és az extracelluláris mátrix expanzióját. Ez a gyulladással kapcsolatos fibroproliferatív válasz eredményezi a fibrózus sapka kialakulását. A fibrózus sapka felépítését és a plakk stabilitását a gyulladás aktivitása határozza meg. Az instabil plakk esetén a szélső, laterális részén gyakran egy gyulladással kapcsolatos sejtekben gazdag populáció figyelhető meg, mely proteolitikus enzimeket termel (pl. mátrix metalloproteinázok) ezáltal degradálva a kollagén rostokat. A folyamat következtében a fibrózus réteg meggyengül és plakk ruptura következhet be. A stabil plakkot ezzel szemben vastag fibrózus sapka, kevés lipid és gyulladással kapcsolatos sejt jellemzi. A diszlipidémia

kezelésében statinok térhódítása továbbra is töretlen, mivel hatékonyan csökkentik a szív-érrendszeri rizikót. Számos nagy randomizált vizsgálat kimutatta, hogy a tartós statin terápia csökkenti a kardiovaszkuláris mortalitást és a szívinfarktus incidenciáját. Fontos megjegyezni, hogy a gyógyszeres kezelés mellett kiemelt szerepe van az egészséges életmódnak. Klinikai vizsgálatok kimutatták, hogy a testsúly normalizálásával, rendszeres testmozgással és a telített zsírsavbevitel csökkentésével jelentősen redukálható a plazma LDL szint. Emellett az életmód megváltoztatása (testmozgás, fogyás, megfelelő étrend) jelentősen csökkentette a triglicerid szintjét is. Összefüggést találtak a bél mikrobiom és a szív-érrendszeri rizikó között. A nyugati diéta, amely gazdag cukrokban, koleszterinben és egyéb telített zsírsavakban fokozza a gyulladós folyamatokat a szervezetben. A telített zsírsavak bevitele megnöveli az endotoxin aktivitást a plazmában, valamint megváltoztatja a mikrobiom összetételét a bélben és/vagy fokozza a mikroorganizmusok transzlokációját a bél barrieren keresztül. Ezen változások indirekt módon, krónikus metabolikus diszfunkció létrehozásával járulhatnak hozzá az egészségtelen étrend aterogén hatásához. A konzervatív terápián túl, a halolaj alkalmazása jótékony hatású. Gazdag többszörösen telítetlen omega-3 zsírsavakban, dokozahexaénsavban és eikozapentaénsavban, melyek hatékony triglicerid-csökkentő vegyületek. Javasolt napi dózisa 2-4 g.

### **A miokardiális és vaszkuláris PDE9A upregulálódik az ateroszklerózis eredetű szív- és érrendszeri betegségekben**

A nitrogén-monoxid (NO) – ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) – Protein-kináz G (PKG) útvonal fontos szerepet tölt be a szívműködés szabályozásában, hiszen egyfelől célpontjai kardioprotektív folyamatokban vesznek részt, másfelől a titin óriásfehérjén keresztül a szívizom relaxációját is szabályozza. Kimondható, hogy az útvonal downregulációja nagy valószínűséggel felelős a diasztolés diszfunkció (DD) kialakulásáért, amely a diasztolés szívelégtelenség (HF megtartott ejekciós frakcióval, HFpEF) prekuzora, valamint szisztolés szívelégtelenségben is karakterisztikus eltérés (HF csökkent ejekciós frakcióval, HFrEF). A koszorúerek mikrovaszkulaturájában megjelenő, ateroszklerózissal társuló endotelialis gyulladás és a megnövekedett oxidatív stressz csökkenti a NO-biohasznosulását és károsítja a PKG útvonalat, melynek eredményeképpen fokozódik a miokardium merevsége és a gyulladás következtében fennálló miofibroblaszt proliferáció intersticiális fibrózist okoz. A kulcs hírvivő molekula, a cGMP képződését fokozhatja a NO által aktivált szolubilis guanilát-cikláz (sGC), illetve a partikuláris guanilát-cikláz (pGC) enzim, a nátriuretikus peptid útvonalon. A B-típusú nátriuretikus peptid (BNP) expressziójának csökkenése számos tényező következménye lehet (obezitás, inzulinrezisztencia, bal kamrafal feszülése), eredményeként pedig visszaesés

következik be a cGMP koncentrációjában. A foszfodiészteráz (PDE) enzimek fokozott aktivitása szintén szerepet játszhat a cGMP szint csökkenésében, hiszen ezek a fehérjék bontják le a ciklikus AMP-t (cAMP) és cGMP-t 5'AMP ill. 5'GMP-re. Egy nemrégiben készült tanulmány igazolta, hogy a 9A típusú foszfodiészteráz (PDE9A) csak a nátriuretikus útvonalon képződő cGMP metabolizálásáért felelős. PDE9A total knockout egerekkel végzett tanulmányban nyomástúlterhelést követően kimutatták, hogy diasztolés szívelégtelenség kialakulásához vezet a nátriuretikus peptidek (NP-ek) alacsony szintje, vagy a NP útvonalból származó cGMP PDE9A általi lebontása.

A szív- és érrendszeri betegségek vizsgálata esetén a nyúl modellek ötvözik a kis és nagy állatmodellek előnyeit: fenntartásuk viszonylag költséghatékony, viszont a szívműködésük (beleértve a Ca-homeosztázist, az ioncsatornákat és az aktin-miosin struktúrát) hasonló a humánhoz. Ráadásul, mivel extrém érzékenyek az aterogén diétára és a lipoprotein profiljuk is hasonló az emberéhez, ezért a nyúl modellek sikeresen alkalmazhatóak kardiovaszkuláris kutatások esetén pl. ateroszklerotikus plakk létrehozására.

### **A statinok és a resveratrol**

Újabb vizsgálatok szerint csökkentett LDL és koleszterin értékek alacsonyabb CHD (coronary heart disease) rizikót eredményeznek. A HMG-CoA gátlók (statinok) bizonyultak a leghatásosabb koleszterinszint csökkentőknél, mely hatásukkal gátolják az ateroszklerózis kialakulását, csökkentve a CHD incidenciáját. A statinok normál koleszterinszint mellett, patkányokban védelmet nyújtanak az iszkémiás/reperfúziós miokardiumnak, endoteliális nitrogén oxid szintáz (eNOS) függő útvonalon keresztül. Ugyanakkor hiperkoleszterinémias betegeknel monoterápiában alkalmazott statinok kevésbé bizonyultak hatékonyak CHD megelőzésében. Így kutatásunk ezen részének „Szent Grálja” egy racionálisan egyesített terápia tervezése, mely több mechanizmussal is csökkenti a koleszterinszintet, csökkentve a CHD kialakulását. Ennek megfelelően, a statinok és a resveratrol kombinációját vizsgáltuk. A resveratrol (transz-3,5,4'-trihidroxistilbén) egy a vörösborban megtalálható polifenolos, természetes fitoalexin, többek között antioxidáns, trombocitagátló, angiogenezist fokozó, illetve gyulladásgátló hatással rendelkező a természetben előforduló vegyület. A resveratrol koronária artériákra gyakorolt jótékony hatásai valószínűleg a korai ateroszklerotikus léziók progressziójának lassításából erednek. A korábbi eredményeinkben beszámoltunk a resveratrol oxidatív stressz csökkentő, illetve az indukálható nitrogén-szintáz (iNOS) mRNS expresszióját fokozó hatásáról, mely a kardiomiociták apoptózisának csökkenéséhez vezet. Korábbi vizsgálatainkban mind a vörösbor kivonat, mind a resveratrol csökkentette az oxidatív stresszt,

fokozta az indukálható nitrogén monoxid szintáz (iNOS) mRNS expresszióját, melyek a kardiomiociták apoptózisának és az infarktus méretének csökkenéséhez vezettek.

### **A Bromelain (Br)**

A gyógyszeres prekondicionálás kiemelkedő szerepet játszik az iszkémia/reperfúzió során bekövetkező szövetkárosodás mérséklésében. Ebben a tekintetben a bromelain (Br), mely tulajdonképpen az *Ananas comosus*, a természetett ananász szárából kinyert szulfhidril proteolitikus enzimek összefoglaló neve, tűnik ígéretesnek. A Br különböző cisztein proteolitikus frakciókból áll, melyek mérete 15 és 27 kDa között mozog, és rendszerint porként adják zselatin, vagy bélben oldódó bevonatos kapszula formájában. Beszámolók szerint a Br szájon át adva gátolja a trombusképződést lézeres trombózis modellben és *in vitro* és *in vivo* körülmények között csökkenti a humán vérlemezkék aggregációját. Egyéb vizsgálatok leírták, hogy a Br mérsékli az anginát, antihipertenzív hatású, káliummal és orotáttal együtt adva csökkenti az infarktus kockázatát. Bár tudományos eredmények feltételezik a Br protektív szerepét I/R károsodással szemben, ennek mechanizmusa nem ismert. Továbbá ismeretes, hogy a túlélési kinázok upregulációja negatívan befolyásolja az apoptózis folyamatát. Főleg a szerin/reonin kináz Akt enzimről ismeretes, hogy az endotélben és szívizomsejtekben antiapoptotikus szignált aktivál. Beszámolók alapján úgy tűnik, hogy a foszfo (p)-Akt célpontjai a sejtmagban találhatóak. Az Akt számos célmolekula aktivitását szabályozza, mint például a proapoptotikus Bad fehérjét, a kaszpáz-9-et és a forkhead box transzkripciós faktor/protein (FOXO) család tagjait, mint a FOXO1, FOXO3A és FOXO4.

### **Niacinhoz kötött Króm-komplex alapú Energia formula (Ef)**

Bár számos gyógyszert használnak a miokardiális iszkémia kezelésére, bizonyos, élelmiszerekben előforduló hatóanyagok szintén szerephez juthatnak a terápiában. Ennek alapján állítottunk össze egy kombinációs készítményt, a niacinhoz kötött króm komplexet, D-ribózt, standardizált álombogyó kivonatot (5% witanolid tartalommal) és bizonyos aminosavakat tartalmazó egyedi energia formulát (EF; InterHealth Nutraceuticals, Benecia, CA). Jelentős számú *in vitro*, állatkísérletes és humán klinikai vizsgálat bizonyította, hogy a niacin-kötött króm biológiai és farmakológiai szempontból biztonságos vegyület, mely javítja a kardiovaszkuláris funkciókat, elősegíti a fogyást, továbbá állatban és emberben is megelőzi a diabétesz kialakulását azáltal, hogy serkenti az inzulin hatásait és befolyásolja a fehérje, zsír és szénhidrát anyagcserét. A *Withania somnifera* (ashwagandha, álombogyó vagy indiai ginzeng) növényt az ajurvéda, a hagyományos indiai orvoslás széles körben alkalmazza. Kísérletes bizonyítékok vannak arra vonatkozóan, hogy a *Withania somnifera* befolyásolja a lipid

peroxidatív végtermékeit, mint például a malondialdehid, az endogén antioxidásokat, úgy mint a glutation, vagy az antioxidáns enzimeket, mint a szuperoxid dizmutáz, kataláz vagy a glutation peroxidáz. A ribóz képes növelni a *de novo* adenin nukleotid szintézist azáltal, hogy áthidalja az oxidatív pentóz foszfát útvonal sebességmeghatározó lépését, ezáltal emeli a foszforibozil pirofoszfát szinteket, amely serkenti az ATP szintézist. A trikarbonsav ciklus komponenseinek zsírsavak helyett aminosavakkal való feltöltése növeli az ATP termelést, mely jótékony hatású a sejt anyagcseréje szempontjából. Ezen felül az esszenciális aminosavak táplálékkiegészítőként fogyasztva védik a szívet az iszkémia/reperfúzió okozta károsodástól és csökkentik mind az infarktusos terület nagyságát, mind az apoptotikus sejthalál mértékét.

### **A *Trigonella foenum-graecum* (görögszéna)**

A pillangósvirágúak közé tartozó görögszéna a legrégebben alkalmazott gyógynövények közé tartozik, melyet ókori egyiptomi szövegek és Hippokratész is említenek. A tradicionális indiai ajurvéda orvoslásban emésztéssegítő szerként, az ősi Egyiptomban illatszerként, valamint a mumifikálás folyamatában alkalmazták, a Római Birodalomban pedig szülő nőknek segített a vajúadás és szülés során. A tradicionális kínai gyógyászatban is ismert növény fájdalomcsillapító és veseműködést elősegítő hatásait egy Kr. u. 1060-ra datálható orvosi szövegben is említik. A gyógyászatban elsősorban a görögszéna növény magját használják, mely Európában bejegyzett növényi drogként szerepel. A mag tömegének körülbelül felét szolubilis galaktomannán (30%) és vízben oldhatatlan rostok (20%) teszik ki. Nagy mennyiségben tartalmaz bioaktív hatóanyagokat: legfontosabb alkaloidja a trigonellin, szaponinjai közül a diosgenin és yamogenin a legkiemelkedőbbek, aminosavszármazékokat tekintve a 4-hidroxi-izoleucin jelentős, de több, mint ötvenre tehető azon vegyületeinek száma, melyek antidiabetikus potenciállal rendelkezhetnek. A görögszéna mag nagyszámú biológiailag aktív hatóanyaga lehet az oka annak, hogy a gyógyászat számos területén tudományosan igazolt hatással rendelkezik: beszámoltak antioxidáns, gyulladásgátló, antifungális, antidiabetikus és tumorelles hatásáról, de befolyással van az elhízásra, diszlipidémiára és a nemi hormonok működésére is. A görögszéna gyógyhatásairól az utóbbi évtizedekben számos klinikai és állatkísérletes tanulmány készült. A *Trigonella foenum-graecum* koszorúérbetegségben szenvedő páciensekben jelentősen csökkentette a vér lipid-, koleszterin- és trigliceridszintjeit, de a HDL-koleszterin szintet nem befolyásolta. Gong és mtsai klinikai vizsgálatokból készített metaanalízise szerint a görögszéna a triglicerid és koleszterin-szinteket kedvezően befolyásolja, de a HDL és LDL szintje nem változik. Nagyobb számú klinikai vizsgálatok alapján készített metaanalízisek szintén arról számolnak be, hogy a krónikus görögszéna kezelés javítja az éhomi vércukorszintet, a HbA1C-t és a glükózterhelés után 2 órával mért vércukorszint értékét. A

görögszéna hatóanyagai közül a diosgeninnel kapcsolatban készült különösen sok tanulmány, mely igazolta, hogy ez a szaponin vegyület az ateroszklerózis kórfolyamatába számos helyen képes kedvezően beavatkozni. A diosgenin növeli az endotél védelmében és regenerációjában fontos szerepet játszó NO szintjét azáltal, hogy serkenti az endoteliális NO szintáz foszforilációját és expresszióját, az érfal relaxációját is javítja, illetve csökkenti az apoptózist. A diosgenin emellett dózisfüggő módon fokozza szuperoxid-diszmutáz, kataláz és glutation peroxidáz enzimek aktivitását, ezzel hatékonyan csökkenti az oxidatív stressz mértékét.

### ***Prunus cerasus* (meggy)**

Számos jól ismert, hasonló filogenetikai háttérrel rendelkező növényi hatóanyag indukálja a HO-1 enzimet, közöttük jó néhány tápláléknövényben fordul elő. Ilyen vegyület az epigallokatechin-3-gallát, a zöld tea polifenol vegyülete, és a kurkumin, mely leginkább a curry alkotórészeként ismeretes. Az SCSE (sour cherry seed extract) szintén attraktív jelöltnek tűnik a HO-1 aktivátorok között, mivel már viszonylag alacsony koncentrációban képes az enzim szintjét olyan módon növelni, amellyel véd az iszkémia/reperfúziós károsodással szemben, gyomorfekélyben, reumatoid artritiszben és kettes típusú cukorbetegségben leírták gyulladásgátló hatását, valamint elősegíti a károsodott sejtek regenerációját. A HO-1 enzim aktivitása számos stimulus – oxidatív stressz, gyulladáshoz vezető mediátorok -, valamint metabolikus és hemodinamikai faktorok – hiperglikémia, magas vérnyomás, plazma lipidek szintjének emelkedése – hatására fokozódik. Mindazonáltal, a patológiás tényezők által bekövetkező HO-1 aktiváció csak átmeneti, vagy kismértékű aktivációnövekedést jelent, és nem éri el a szignalizációs mechanizmusok küszöbértékét, amelyek a gyulladáshoz vezető folyamatok jelentős csökkenését érhetnék el. Emiatt azok a HO-1 rendszer serkentésén alapuló stratégiák, melyek a kettes típusú cukorbetegség (T2DM) és egyéb megbetegedések megelőzésére és kezelésére irányulnak az enzim aktivitását hatékonyan növelni képes vegyületeket kívánnak.

### **Medvehagyma (*Allium ursinum*)**

A medvehagyma (*Allium ursinum*) vadon termő, az amarilliszfélék családjába tartozó növény. Ázsia és Európa területén széles körben előfordul, változatos neveken ismeretes, úgy mint jurda, poroszhagyma vagy sarima. A növényt intenzív íze miatt szívesen fogyasztják ott, ahol megterem, és fűszernövényként is hasznosítják. Enyhén fokhagymára hasonlító illata a medvehagymában található kéntartalmú vegyületeknek, szulfonamidoknak vagy a glutamil peptidnek tulajdonítható. Sajnos, leveleik hasonlósága miatt a medvehagymát könnyű összetéveszteni bizonyos toxikus növényekkel, így a kolhicint tartalmazó őszi kikericcsel (*Colchicum autumnale*) vagy a gyöngyvirággal (*Convallaria majalis*). A medvehagyma



kivonatának vagy liofilizátumának gyógyszeres hatásai hasonlóak közeli rokona, a termesztett fokhagyma (*Allium sativum*) hatásaihoz, viszont a medvehagyma néhány esetben hatékonyabb, vagy akár különleges hatásokkal is bír a fokhagymához hasonlítva. A faj emellett szagtalan, nem illékony anyagokat is tartalmaz: D-alkenil-L-cisztein-szulfoxidokat, melyek élettani körülmények között illékony (poli)szulfidokra és tioszulfinátokra bomlanak, mely a növény jellegzetes illatát és ízét adja. A medvehagyma nagy mennyiségben tartalmaz polifenolokat is, legfőképp a levelében és a gumóban, melyek jelentős mértékben hozzájárulnak a növény antioxidáns és gyógyhatásaihoz. Ezen felül hozzávetőlegesen hússzor annyi adenzint és jelentősen nagyobb mennyiségű ajoént tartalmaz, mint a fokhagyma (*Allium sativum*), mely vegyületek stabilizálják a vérnyomást és a koleszterinszintet, valamint csökkentik a trombociták aggregációját és javítják a koleszterin-anyagcsere élettani szabályzó mechanizmusait.

A medvehagyma friss leveleiből készített kivonatok *in vitro* vizsgálata kimutatta, hogy az etanolos készítmények jelentősen csökkentették az ADP-indukált vérlemezke aggregációt. Az adatok arra utalnak, hogy a medvehagyma hasonló hatást vált ki, mint a klopidoegrél, egy tienopiridin típusú vérrögképződést gátló hatóanyag. További előzmény, hogy spontán hipertenzív patkányokat 1% fokhagymával vagy 1% medvehagymával dúsított táppal etetve 45 nap alatt a vérnyomás jelentős mértékben csökkent. Egyéb lehetséges mechanizmus lehet az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátlása. Míg az *A. sativum* gyógyszeres tulajdonságairól nagy mennyiségű adat áll rendelkezésre, az *A. ursinum* terápiás hatásairól jóval szerényebb számú tanulmány készült. Spontán hipertenzív patkányokon (SHR) az *Allium ursinum* készítmények az angiotenzin konvertáló enzim (ACE) gátlása révén csökkentik a vérnyomást. Egyéb tanulmányok rámutattak, hogy ACE gátló (ACEI) hatás tekintetében a medvehagyma a fokhagymánál hatékonyabbnak bizonyult.

### **A pulmonális artériás hipertenzió**

A jobboldali szívelégtelenség – melyet gyakorta a megemelkedett artériás nyomás eredményeként kialakuló pulmonális hipertónia okoz – különösen magas mortalitási rátával jellemzett krónikus megbetegedés. A pulmonális artériás hipertenzió (PAH) olyan érbetegség, melyet a tüdőerek endotél- és simaizomsejtjeinek rendellenessége jellemez. A folyamat előrehaladtával az érellenállás növekszik, mely hamar elkezdi kimeríteni a jobb kamra kompenzációs mechanizmusait. A nem megfelelő alkalmazkodás a kardiovaszkuláris rendszer irreverzibilis károsodásához és a betegek korai halálozásához vezethet. A PAH egy krónikus, progresszív érbetegség, melyet elsősorban a pulmonális artériák fokozatosan emelkedő, keringéssel szembeni ellenállása jellemez. Mivel a jobb kamra különösen érzékeny az afterload változásaira, az emelkedő nyomás indukálta adaptív folyamatok – mint a Frank Starling

mechanizmus és a kamrai izomzat hipertrófiája – már a korai időszakban elindulnak. Az ínhúrok fokozott feszülése, illetve a mitrális anulus dilatációja miatt a trikuszipidális billentyűn keresztül a vér regurgitál, melynek következtében a jobb pitvar kitágul, a jobb kamra túlterhelődik és a szív teljesítménye csökken. Az egyre súlyosbodó hipertrófia nyomán iszkémiás elváltozások jelennek meg, a kamrák közötti szeptum elvékonyodik és egyre inkább a szív bal oldala felé nyomódik, ami azt eredményezi, hogy diasztole alatt a bal kamra térfogata lecsökken. Ez az önmagát rontó körfolyamat szisztémás hipoxiához, szívelégtelenséghez vezet, és sok esetben korai halálozáshoz is. A PAH hátterében álló kórélettani folyamatok közül elsőként a pulmonális erek kontrakciója következik be, mely az érszűkítő és értágító hatású mediátorok közötti egyensúly megbomlása miatt jöhet létre. PAH páciensekben több, rendellenesen működő jelátviteli útvonalat azonosítottak. A PAH kezelésére specifikusan alkalmazott gyógyszerek jelentős része ezeket az útvonalakat befolyásolja, úgymint a nitrogén-monoxid (NO), a prosztaciklin vagy az endothelin-1 útvonalat.

### **BGP-15**

Az elmúlt évtizedben a hidroximsav-származék BGP-15 (O-(3-piperidino-2-hidroxi-1-propil)-nikotinsav-amidoxim) egyre inkább a tudományos érdeklődés középpontjába került. Azért választottuk a BGP-15 hatásának vizsgálatát korai stádiumú diabéteszes kardiomiopátiás állatmodellben, mert korábbi beszámolók alapján a molekulának inzulin-érzékenyítő tulajdonsága van, valamint protektív hatással bír a muszkuláris disztrófiára, a kardiotoxicitásra, a szívelégtelenségre és a pitvarfibrillációra. A BGP-15 10-30 mg/kg-os dózisban emelte a szövetek inzulinérzékenységét anyagcserezavarok tanulmányozására szolgáló különböző állatmodellekben. Párhuzamosan futó állatkísérletek bemutatták, hogy a BGP-15 molekula bizonyos sejtekben növeli a hősokkfehérjék (hsp-k) kifejeződését, ezáltal kriolízist követően 15 mg/kg-os dózisban gyorsítja a musculus soleus miociták regenerációját CB6F1 egerekben. A BGP-15 hatására nemcsak a regeneráció sebessége nőtt, hanem a károsodás utáni kontraktilis funkció is javult, azáltal, hogy fokozódott a miozin nehéz lánc (MyHC-II és MyHC-I) izoformák reexpressziója és a chaperonok kialakulása. Arról is beszámoltak, hogy a BGP-15 (15 mg/kg/nap, orális gavázs) javította az izomerőt és az állóképességet disztrófiás mdx transzgenikus egerekben, mérsékelte a rekeszizom fibrózisát és növelte a maximális SERCA (szarko/endoplazmatikus retikulum  $Ca^{2+}$ -ATPáz 2a) aktivitást diafragma homogenizátumokban.

## Célkitűzés

A tudományos munka során az alábbi célokat fogalmaztuk meg:

1. A resveratrol antidiabetikus és kardioprotektív hatásának vizsgálata STZ-vel kiváltott diabétesz modellben;
2. A hiperkoleszterinémia hatásának követése a szívizomzat funkcionális paramétereire és angiogenezisére iszkémia/reperfúziós körülmények között, valamint a resveratrol, a statin, illetve ezek kombinációjának lehetséges protektív hatásainak vizsgálata;
3. Bromelain hatásának vizsgálata a szívfunkcióra, az infarktus méretére és az apoptózis mértékére iszkémia/reperfúziós károsodást követően;
4. Niacinhoz kötött króm-komplexet és ashwagandha kivonatot is tartalmazó Energia formula (Ef) készítmény hatásának vizsgálata a kardiális funkciókra és biokémiai paraméterekre iszkémia/reperfúziós modellben;
5. A meggybogyó kivonat hatásának megismerése koleszterindús diétával kiváltott szívbetegség modellben, illetve iszkémia/reperfúziós folyamat során;
6. A medvehagyma-kivonat lehetséges kardioprotektív szerepének vizsgálata koleszterinnel kiváltott szívbeteg állatmodellben;
7. A medvehagyma hatásának értékelése monokrotalinnal kiváltott pulmonális artériás hipertónia patkánymodellben;
8. A diosgenin és a görögszéna hatásának vizsgálata az endotél funkcióra magas zsír- és cukortartalmú diéta mellett;
9. A BGP-15 hatásainak vizsgálata genetikai cukorbeteg állatmodellben, különös tekintettel a kardiális és vaszkuláris paraméterekre;
10. Aterogén étrenddel kiváltott hiperkoleszterinémiában bekövetkezett változások értékelése a szívfunkcióban és biokémiai paraméterekben, különös tekintettel a PDE9A expresszióra.

## Anyagok és módszerek

### Kísérleti elrendezések

#### *A resveratrol hatásának vizsgálata a kardiális diszfunkcióra streptozotocin-indukálta diabétesz modellen*

Minden, a kísérletben felhasznált állat az Országos Orvosi Kutatási Társaság irányelveinek, valamint a Nemzeti Egészségügyi Intézet (NIH) Laboratóriumi állatok tartása és felhasználására vonatkozó kiadványának megfelelő gondozásban részesült (Kiadvány No. 85-23, felülvizsgálva 1985). A vizsgálataink során az Connecticuti Egészségügyi Központ Állatvédelmi Bizottsága (Farmington, CT) által elfogadott protokollt alkalmaztuk. Hím, SD patkányokat (250-275 g) véletlenszerűen osztottuk normál és diabéteszes csoportra. A patkányokat véletlenszerűen 5 csoportra osztottuk: 1) nem diabéteszes (kontroll); 2) STZ hiperglikémiás állatok (Dia); 3) Diabéteszes STZ patkányok resveratrol kezeléssel (Dia+Rsvl) (2,5mg/ttkg; Sigma, St. Louis, MO); 4) Diabéteszes STZ patkányok resveratrol (2,5mg/ttkg) és N(G)-nitro-L-arginin metil észter (L-NAME, Sigma, St. Louis, MO) nitrogén-monoxid szintáz inhibitor kezeléssel (25mg/ttkg) (Dia+Rsvl+L-NAME); 5) Diabéteszes STZ patkányok L-NAME kezeléssel (Dia+L-NAME). A resveratrol és L-NAME kezelést az állatok per os kapták 15 egymást követő napon, 15 nappal az STZ injekciót követően. A kezeléseket követően az állatokat az exterminálás előtt egy éjszakán át éhezettük, majd a szíveket eltávolítottuk és 30 perc iszkémia 2 óra reperfüzióval vetettük alá.

#### *A resveratrol és statinok hatásai hiperkoleszterinémias patkány modellen*

Vizsgálataink során 450-500 g tömegű hím Sprague-Dawley patkányokat használtunk, melyeket 8 héten keresztül 2%-os koleszterin tartalmú táppal etettünk. 8 hét után az állatokat orális resveratrollal (20mg/ttkg/nap, Sigma) és pravastatinnal (1 mg/ttkg/nap, a Sankyo Pharmaceutical Co. nagylelkű felajánlása) kezeltük 2 héten keresztül. Az állatokat véletlenszerűen öt csoportba osztottuk: 1) kontroll (C), 2) hiperkoleszterinémia (HC), 3) hiperkoleszterinémia+resveratrol (HCR), 4) hiperkoleszterinémia+statin (HCS), 5) hiperkoleszterinémia+resveratrol+statin (HCRS). A Langendorff dolgozó perfundált szív, (30 perc teljes iszkémia, majd 120 perc reperfüzió) és in vivo miokardiális infarktus (7 napon keresztül folyamatos LAD elzárás) modelleket alkalmaztunk.

#### *A bromelain hatásai*

250-275 g súlyú, hím Sprague-Dawley patkányokat használtunk a vizsgálatban. A Br-t (EC 3.4.22.32, Lot No. 1965; Vital Nutrients, Middletown, CT) 10 mg/kg dózisban alkalmaztuk, a

hatóanyagot PBS-ben oldottuk fel, minden nap frissen készítve. Minden állat két intraperitoneális injekciót kapott (0,5 ml) naponta, 6-8 óra különbséggel. Az alkalmazott dózist a laboratóriumunkban végzett dózis-hatás vizsgálatok alapján határoztuk meg. 3 mg/kg Br nem volt hatással a szív funkcióra, míg a 10 és 30 mg/kg dózis hasonló mértékű kardioprotektív hatást mutatott, ez alapján a 10 mg/kg dózist választottuk a jelen vizsgálatban.

#### *A niacin-kötött-króm (NKK) bázisú Energia formula (Ef) hatásai*

175-199 g súlyú hím és nőstény Sprague-Dawley patkányokat négy csoportba osztottunk: 1) kontroll; 2) Ef (40 mg/kg 0,5 ml vízben szuszpendálva/nap, 30 napos kezelési időszak); 3) Ef (40 mg/kg 0,5 ml vízben szuszpendálva/nap, 60 napos kezelési időszak); 4) Ef (40 mg/kg 0,5 ml vízben szuszpendálva/nap, 90 napos kezelési időszak). Az Ef, mely niacinhoz kötött króm (0,45%), D-ribóz (10,71%), koffein (22,76%), álombogyó kivonat (10,71%) és bizonyos aminosavak, fenil-alanin, taurin és glutamin (55,37%) keveréke, az InterHealth Nutraceuticals révén került beszerzésre. A 30, 60 és 90 napos kezelésekre azonos korú állatokat használtunk kontrollként. Az Ef-t 30, 60, 90 napon át szájon át adtuk. A szíveken ezután 30 perc iszkémiát, majd 2 óra reperfúziót hajtottunk végre.

#### *A meggy-mag-kivonat és a hiperkoleszterinémia szívizomra gyakorolt hatása*

A kísérletet felnőtt hím (2-2,5 kg tömegű) New Zealand nyulakon kivitelezte. A nyulakat a csoportosítástól függően standard laboratóriumi táppal (kontroll), 2,0% koleszterinnel dúsított táppal (Gödöllő Kft, Budapest, Magyarország) (HC), vagy 2,0% koleszterinnel és 30 mg/kg meggy-mag kivonattal dúsított táppal (HCT) etették 16 héten keresztül. A szérumban koleszterin szinteket vénás vérből, CardioCheck szérumban koleszterin analízátor (Point Of Care Diagnostics, Ltd., Artarmon, New South Wales, Ausztrália) segítségével határoztuk meg a kísérlet 0. (alapérték), 2., 4., 8. és 16. hetében.

#### *Az Allium ursinum liofilizátum antiaterogén hatásainak vizsgálata*

A kísérleteket felnőtt hím New Zealand nyulakon (testsúly: 2,5-3 kg) végeztük. Az állatokkal való bánásmód az állatkísérletekre vonatkozó 2010/63/EU rendelet, a „Laboratóriumi Állatok Gondozásának Szabályzata” alapján történt. Az akklimatizációs periódus két hétig tartott. Az állatok vagy 2% koleszterint tartalmazó laboratóriumi tápot (Juráskó Kft., Debrecen, Magyarország), vagy ennek 2% medvehagyma liofilizátummal (wild garlic leaf lyophilisate, WGLL) dúsított változatát kapták *ad libitum* 8 héten át. Ez utóbbi tápot a Debreceni Egyetem Gyógyszertechnológiai Tanszékén állítottuk elő.

### *A pulmonális artériás hipertenzió (PAH) kezelése Allium ursinum liofilizátummal*

A kísérlet során alkalmazott hím Sprague-Dawley patkányokat (200-250g) a Charles River Kft.-től vásároltuk (Wilmington, MA, Egyesült Államok). Az állatokat kórokozóktól mentes környezetben tartottuk, a megvilágítás 12 óránként váltakozó fény/sötétség periódusokból állt, vizet és táplálékot ad libitum kaptak. A vizsgálat végpontján (8. hét) az állatok testsúlyát megmértük. A PAH-t egyszeri, szubkután beadott monokrotalinnal (MCT, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, Egyesült Államok), a *Crotalaria spectabilis* alkaloidjával (60 mg/kg, a lapockák közötti régióba) idéztük elő, míg a kontroll csoport (n=8) a MCT oldószerét, dimetil-szulfoxidot (DMSO) tartalmazó puffert kapta. Az MCT-vel kezelt patkányokat 3 további csoportba osztottuk a következő módon: csak MCT-t kapott csoport (PAH, n=8); MCT-t kapott, majd 2% medvehagyma liofilizátummal dúsított tápon tartott csoport (WGLL, n=8); és MCT kezelést kapott, majd szájon át napi 25 mg/kg sildenafillel kezelt csoport (Sildenafil, n=8).

### *A diosgenin és a görögszéna extraktum hatásai*

A következő vegyszereket és készítményeket alkalmaztuk: hagyományos patkány táp (S8106-S011 SM R/M-Z+H, ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Németország), zsírdús táp (high fat diet - HFD) (RM AFE45%FAT 20%CP 35%CHO (P), Special Diets Services, Witham, Egyesült Királyság), görögszéna mag por (Trigonella Med. Ltd., Mosonmagyaróvár, Hungary), adrenalin hidroklorid (Arterenol, Sanofi-Aventis, Frankfurt, Németország). A diosgenint, acetil-kolin kloridot és a Krebs oldathoz szükséges anyagokat a Sigma Corp-tól (St. Louis, MO, Egyesült Államok) szereztük be. 42 db, hím Wistar patkányt (kezdő testsúly: 300-500 g) 6 csoportba osztottunk: 1. negatív kontroll (normál táp+csapvíz) (n=6), 2. pozitív kontroll (HFHSD, zsírdús táp+5%cukros víz) (n=6), 3. 2 g/kg/nap görögszéna+HFHSD (n=9), 4. 1 mg/kg/nap diosgenin+HFHSD (n=8), 5. 10 mg/kg/nap diosgenin+HFHSD (n=8), 6. 50 mg/kg/nap diosgenin+HFHSD (n=8). A kezelés hat hétig tartott. A vizsgált hatóanyagokat az állatok szájon át a zsírdús tápba keverve kapták. A napi szükséges hatóanyag mennyiséget az előzőleg meghatározott napi átlagos tápfogyasztás alapján számoltuk ki. A 6 hét elteltével az állatokat extermináltuk. A vér glükóz szintjét Accu-Chek Active vércukormérő (Roche Holding AG, Basel, Svájc) segítségével határoztuk meg. A plazma inzulin szint meghatározása ELISA kittel (DA-INSULIN-2015, Cortez-Siagnostics Inc., Woodland Hills, CA, Egyesült Államok) történt.

### *BGP-15 hatása a Goto-Kakizaki és Wistar patkányok metabolikus paramétereire*

A patkányokat véletlenszerűen 5 alcsoportra osztottuk (n=6/csoport): Wistar csoport (kontrollként szolgál, vivőanyag-kezelt); diabéteszes GotoK csoport (GotoK patkányok,

vivóanyag-kezelt); GotoK + BGP-15 csoport (GotoK patkányok, napi 10 mg/kg BGP-15 kezelés per os); GotoK + MET csoport (napi 100 mg/kg per os metforminnal kezelt GotoK patkányok); GotoK + PIO csoport (GotoK patkányok, 10mg/kg/nap per os pioglitazon kezelés), 12 héten keresztül. Minden állatot mély thiopental anesztézia (50 mg/kg, ip.) alatt extermináltunk, a szívüket gyorsan kimetszettük és folyékony nitrogénben lefagyasztottuk, az aorta mintákat pedig *ex vivo* funkcionális kísérleteknek vetettük alá.

#### *A miokardiális és vaszkuláris PDE9 a hiperkoleszterinémias tápon tartott nyulakban*

2700-3000 g súlyú, hím CAL-NZW nyulakat (a tanulmány kezdetén 20 hetesek, n=18) használtunk fel a kísérletben, melyeket a Jurásko Kft-től (Debrecen, Magyarország) szereztünk be. New Zealand White (NZW) és Kaliforniai (CAL) típus kereszteződéséből olyan nyulak jöttek létre, amelyeknek magasabb volt a testsúlyuk és a testzsírszázalékuk, ezért azt feltételeztük, hogy alkalmazásuk előnyösebb lesz a kísérlet során. A Kontroll nyulak végig normál eledelt kaptak, míg a HC csoportot aterogén étrenden tartottuk. Az „aterogén” táp 1%-os koleszterinnel és 1%-os telített zsírral volt dúsítva, a Debreceni Egyetem Gyógyszerésztechnológiai Intézetében állítottuk elő. A felhasznált nyulakat véletlenszerűen 2 kezelési csoportra osztottuk: a „Kontroll” csoport 4 hónapon keresztül normál rágcsálótápot kapott (n=9); a „HC” csoportba tartozó állatokat „aterogén” diétán tartottuk).

### **Alkalmazott metodikák**

Echokardiográfia

Szérumparaméterek meghatározása

Izolált dolgozó szív preparátum és az iszkémia/reperfúzió létrehozása patkány és nyúl modelleken

Izolált aortagyűrű preparátum

Infarktus méretének becslése in vitro modellen

Ateroszklerotikus plakkok elemzése

Aorta szövettani elemzése

Szívizomzat és tüdő szövettani elemzése

Kardiomiociták apoptózisának meghatározása

Miokardiális fehérjék kivonása

Nukleáris és citoszolikus fehérjefrakciók elválasztása

Western blot

Immunhisztokémia  $\beta$ -catenin transzlokációjáról és a kapilláris denzitásról

Mangán szuperoxid-dizmutáz (MnSOD) assay

A nagy energiájú foszfátvegyületek vizsgálata

Az *Allium ursinum* liofilizációja és analízise  
Citokróm c oxidáz (COX) aktivitás meghatározása  
cGMP assay

### **Statisztikai elemzés**

Az eredményeket általában számtani közép  $\pm$  S.D. (standard deviáció), vagy számtani közép  $\pm$  S.E.M. (standard hiba) formában fejeztük ki. Az adatok normális eloszlását D'Agostino-Pearson és/vagy Shapiro-Wilk teszttel ellenőriztük.

Két adathalmazt normális eloszlások esetén párosítatlan, kétmintás, Student-féle t-teszttel (homogén varianciák mellett) vagy párosítatlan, kétmintás, Welch-korrigált t-teszttel (ha a varianciák szignifikánsan különböztek) hasonlítottunk össze. Két adathalmazt, ha az adatok nem Gauss-féle eloszlást mutattak, Mann-Whitney-teszttel vetettünk össze. Kettőnél több adathalmazt normális eloszlások esetén egyutas varianciaanalízis (ANOVA) teszttel elemeztünk (ha a varianciák szignifikánsan különböztek és a használt szoftver lehetővé tette, Geissner-Greenhouse korrekcióval), melyet Bonferroni vagy (miután a használt szoftver megengedte) Tukey post hoc teszt követett. Ha az adatok nem voltak normális eloszlásúak, kettőnél több adathalmazt Kruskal-Wallis teszttel és Dunn post hoc teszttel hasonlítottunk össze. A vizsgált csoportok középértékeinek különbségét  $p < 0.05$  esetén tekintettünk statisztikailag szignifikánsnak. A statisztikai szignifikancia szintjét a csillagok (vagy más szimbólumok) számával jeleztük: \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ; illetve néhány esetben \*\*\*\*  $p < 0.0001$ . Az USA-ban végzett vizsgálatokhoz az IBM SPSS Statistics program aktuális verzióját (10-22) használtuk. A magyarországi elemzéshez a GraphPad Prism szoftver (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, Egyesült Államok) aktuális verzióját (4-9) alkalmaztuk.



## Eredmények és diszkusszió

### Eredmények I.

#### *Resveratrol hatása a vércukorszintre*

A vércukor értékeket 5 nappal az STZ kezelést követően mértük meg, majd összehasonlítottuk a kontroll állatokéval, hogy megbizonyosodjunk az emelkedett cukorszintekről.  $\geq 300\text{mg/dl}$  értékek esetén tekintettük az állatokat diabéteszesnek. Az STZ kezelést követően az állatokat 15 napon keresztül resveratrol és L-NAME *per os* kezelésben részesítettük. Megmértük az állatok vércukorértékeit ( $n=12$  csoportonként), hogy a hiperglikémia mértékét meghatározzuk. Az vércukor értékek szignifikánsan megemelkedtek a diabéteszes állatokban ( $>500\text{mg/dl}$ ) a nem diabéteszesekkel összehasonlítva ( $90\text{mg/dl}$ ). A resveratrol kezelés a beteg csoportban jelentősen csökkentette a vércukorszintet ( $370\text{mg/dl}$ ) a diabéteszes csoportokhoz képest. Az L-NAME kezelt csoport megszüntette a resveratrol-mediált vércukorszint csökkentést.

#### *Resveratrol hatása a miokardiális funkciókra*

A csoportok között jelentős különbség volt a kiindulási értékek tekintetében. A bal kamrai nyomás szignifikánsan alacsonyabb volt a Dia csoportokban ( $94.83 \pm 0.30$ ) a nem diabéteszes kontrollal összehasonlítva ( $101.72 \pm 0.50$ ). A resveratrol kezelés jobban megtartotta a LVDP értékét a Dia+Rsvl csoportban ( $97.66 \pm 0.30$ ) a diabéteszes csoporthoz képest. Az LVDP reperfúziót (2 óra) követően szignifikánsan csökkent a diabéteszes csoportban ( $66.75 \pm 0.79$ ), a resveratrol kezelés ugyanakkor a Dia+Rsvl csoportban jelentősen emelte a LVDP értékét ( $71.15 \pm 0.34$ ) a diabéteszes csoporthoz képest. Szintén csökkent a LVDP az L-NAME kezelt csoportokban: Dia+Rsvl+L-NAME ( $63.96 \pm 1.48$ ) és Dia+L-NAME ( $60.83 \pm 0.60$ ). A  $dp/dt_{\max}$  kiindulási értékek a diabéteszes beteg csoportban ( $2561.33 \pm 19.14$ ) jelentősen csökkentek a nem diabéteszes kontroll csoporthoz képest ( $3597.33 \pm 34.09$ ). A resveratrollal kezelt diabéteszes patkányok esetén megemelkedett a  $dp/dt_{\max}$  ( $2971.66 \pm 20.79$ ) a diabéteszes csoporttal összevetve. A 2 órás reperfúziót követően a  $dp/dt_{\max}$  jelentősen csökkent a diabéteszes csoportban ( $1300.43 \pm 18.25$ ), ehhez képest a Dia+Rsvl csoportban szignifikánsan emelkedett ( $1457 \pm 21$ ). A L-NAME kezelés csökkentett funkcionális visszatérést eredményezett mind a Dia+Rsvl+L-NAME ( $1275 \pm 44.94$ ), mind pedig a Dia+LNAME ( $1256 \pm 5.60$ ) csoportokban. A kiindulási aorta átváramlás értékek szignifikánsan csökkentek a diabéteszes csoportban ( $39 \pm 0.49$ ) a nem diabéteszes kontrollokkal összehasonlítva ( $43.50 \pm 0.62$ ). A resveratrol kezelés segített az aorta átváramlás intaktságának megőrzésében a Dia+Rsvl csoportban ( $42.30 \pm 1.11$ ) a diabéteszes állatokkal összehasonlítva. A 2 órás reperfúziót követően az aorta átváramlás nulla volt a diabéteszes, Dia+Rsvl+L-NAME, Dia+L-NAME csoportokban. A Dia+Rsvl csoportban szignifikáns volt az aorta átváramlás ( $1.30 \pm 0.16$ ) a többi csoporthoz képest. A szívfrekvencia

és a koronária áramlás szintén szignifikánsan megtartottabb volt a Dia+Rsvl csoportban a diabéteszes kontrollokhoz képest mind a kiinduláskor mind a reperfüziót követően. Az L-NAME kezelés minden esetben gátolta a resveratrol-mediált kardioprotekciót, ezzel is megerősítve a hipotézist, miszerint ez a protektív hatás nitrogén-monoxid mediált.

#### *Resveratrol hatása a miokardiális infarktus méretére ill. a kardiomiociták apoptózisára TUNEL assay-vel vizsgálva*

A százalékban kifejezett infarktus a teljes rizikónak kitett területhez viszonyítva, mely jól mutatja a diabéteszes csoportban tapasztalt növekedést (51%) a nem diabéteszes csoporthoz viszonyítva (41%). Az infarktus mérete szignifikánsan csökkent a Dia+Rsvl csoportban (42%) az összes többi csoporthoz képest, ugyanakkor a resveratrol kezelés esetén nem találtunk jelentős különbséget a nem diabéteszes kontroll csoporttal összehasonlítva. Az L-NAME kezelés esetén 47% volt a Dia+Rsvl+L-NAME csoport és 49% a Dia+L-NAME csoport esetén az infarktus. A diabéteszes miokardiumban emelkedett az apoptózis mértéke (40%) a nem diabéteszes csoporthoz képest (28%). A resveratrol jelentősen csökkentette az apoptózist 40%-ról (diabéteszes csoport) 35%-ra. Az L-NAME kezelés esetén a Dia+Rsvl+L-NAME 41%, míg a Dia+L-NAME 43%-nak mutatkozott. A csökkentés hátterében a foszforilált Akt és eNOS expresszió fokozódása is állhat.

Vizsgálatunk egyik nívuma, egyben legfontosabb eredménye a resveratrol vércukorszint csökkentő hatása STZ-kezelt állatok esetén, melynek hátterében eddig még fel nem derített folyamatok állnak. Ugyanakkor több mechanizmus is elképezhető a szakirodalom alapján. Egyrészt a vázizmok fokozott nitrogén-monoxid termelése ismertén csökkenti a vércukorszintet a vázizom vérkeringésének és a glükóz felhasználásának a fokozásával. Vizsgálataink alapján szintén felmerül, hogy a resveratrol-indukált, iszkémia/reperfúzió alatt kialakuló oxidatív stressz mérséklése NO/Trx-1/HO-1/VEGF mediált, illetve egy nagy potens antioxidáns enzim, az Mn-SOD aktivitásán keresztül valósul meg. Ezt az elméletet eredményeink számos fontos pontja támogatja. Korábbi tanulmányok szerint az emelkedett szuperoxid ( $O_2^-$ ) képződés a diabétesszel párosult hiperglikémiás állapot a HO-1 upregulációjának csökkenését okozza. Vizsgálatainkban, a resveratrol kezelésben részesült diabéteszes patkányokban szignifikánsan emelkedett a Trx-1 és HO-1, mely folyamat gátolható volt nitrogén-monoxid szintáz inhibitorral.

## **Eredmények II.**

### *A resveratrol és statinok hatása a lipid szintekre*

A HC csoportban a koleszterin, trigliceridek, LDL értékek emelkedtek, míg a HDL értékek csökkentek a kontroll állatokhoz képest. A resveratrol kezelés szignifikánsan csökkentette a

koleszterin, triglicerid és LDL értékeket a HC csoporthoz képest. A HCS és HCRS kezelés pedig még ígéretesebbnek bizonyult a HCR-hez képest lipid csökkentő hatás tekintetében.

#### *A resveratrol és statinok hatása a szívfunkciókra*

A kiindulási értékek tekintetében nem minden csoport között volt különbség a kezelt és a HC csoport kardiális funkció (LDVP – Hgmm), szívfrekvencia (ütés/perc), dp/dt (Hgmm/sec), koronária áramlás (ml/min) és aorta átáramlás (ml/min) értékei között. Az aorta kiáramlás iszkémia előtti alacsony értéke is mutatta a modell érzékenységet a hiperkoleszterinémiára, valamint a kezelések hatékonyságát a baseline paraméterekre. Iszkémiát követően viszont, a reperfúzió alatt a kardiális funkcióban jelentős különbség volt a kezelt csoportok és a HC között. Emellett szignifikáns különbséget figyeltünk meg reperfúzió alatt a dp/dt<sub>max</sub> és az aorta átáramlás között is kezelt és HC csoportokat összehasonlítva. A 120 perces reperfúziót követően a dp/dt<sub>max</sub> poszt-iszkémiás értékek jelentősen megemelkedtek minden kezelt csoportban a HC-vel összehasonlítva.

#### *A resveratrol és statinok hatása az infarktus méretére és a kardiomiociták apoptózisára*

A HC csoport esetén a szív által elszenvedett, 30 perces globális iszkémia, majd az azt követő 2 óras reperfúzió jelentősen megnövelte az infarktus kiterjedését (vagyis a teljes, rizikónak kitett területhez viszonyítva az infarktus méretét), összehasonlítva a kezelt csoportokkal. Az értékek szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak a HCRS, HCS és HCR csoportokban (37±3,6, 43±3,3 and 44±4,2) a HC csoportokhoz képest (53,74±4,6). Pontosabban, a kombinációs terápia még hatékonyabbnak bizonyult az infarktus méretének csökkentésében (37±3,6) a statin (43±3,3) és a resveratrol (44±4,2) monoterápiákkal összehasonlítva. Jelentős csökkenés mutatkozott a kardiomiociták apoptózisában a HCR, HCS és HCRS csoportokban a HC csoporthoz viszonyítva. A csökkenés jelentősebb volt a kombinált terápiában a monoterápiákkal összehasonlítva.

#### *A resveratrol és statinok hatása a $\beta$ -catenin transzlokációra illetve a kapilláris denzitás (CD-31) mértékére*

Iszkémia/reperfúziót követően szignifikáns nukleáris  $\beta$ -catenin transzlokációt tapasztaltunk HCR, HCS és HCRS csoportokban a HC kezeléssel összehasonlítva. A transzlokáció jelentősebb volt a HCR csoportban a HCS és HCRS kezelésekhöz képest. Noha a kombinált kezelés (HCRS) esetén a transzlokáció valamennyivel a HCR alatt maradt, ugyanakkor jelentősen növekedett a statin kezelt csoporttal összehasonlítva. Minden kezelt csoportban emelkedett kapilláris denzitást tapasztaltunk a kontroll és HC csoportokhoz képest. Az

emelkedés szignifikáns volt a HCR csoportban a HCS és a HCRS csoportokhoz képest, korrelálva a VEGF expresszióval, megerősítve az észrevételünket, miszerint az emelkedett CD-31 a resveratrol angiogenezist fokozó hatásából adódhat. A kombinációs terápia jelentős emelkedést mutatott a statin kezeléshez képest, ugyanakkor alulmaradt az individuális resveratrol kezeléssel szemben.

Jelen kutatásunkban bemutattuk, hogy a koleszterindús táplálkozás okozta miokardiális komplikációk, mint a megnövekedett infarktusz terület, az apoptózis mértéke, a károsodott angiogenezis mind javíthatók resveratrol kezeléssel. Emellett prezentáltuk, hogy a statin és resveratrol kombinált terápia mennyivel eredményesebbnek bizonyul HC-miokardium kezelésében, mint a statinok önmagukban. Vizsgálatunkban a szérumban a koleszterin csaknem duplája volt a HC állatokban a kontrollcsoportokhoz képest. Emellett számos korábbi tanulmány is igazolja, hogy a HC patkánymodellekben, vazoaktív anyagok hatására változik a vaszkuláris funkció és a mikrovaszkuláris reaktivitás. Jelen vizsgálatunkban alkalmazott kombinált terápia sokkal eredményesebbnek bizonyult HC miokardiumon, mint a statin terápia önmagában. Az Akt és az eNOS foszforilációja sokkal drasztikusabb volt, összehasonlítva akár a statin, akár a resveratrol önálló kezelésével. A kombinált terápia esetén kardiomiociták apoptózisában tapasztalt szignifikáns csökkenés az Akt és az eNOS fontos szerepét jelzi az iszkémia/reperfúzió okozta sérülések elleni kardioprotekcióban. Az Akt aktiválódása foszforilációt indukál és a gátolja a GSK-3 $\beta$ -t, mely a gátolja mitokondriális pórusok nyitását, ezzel a permeabilitást, ami a sejtapoptózis és nekrozis első lépcsője. Szakirodalom alapján a  $\beta$ -catenin, az angiogenezis kritikus mediátora, egy sejt plazma multiprotein komplexben foszforilálódik, melynek tagjai az adenomatózus polipózis coli fehérje (adenomatous polyposis coli protein, APC) az axin és a GSK-3 $\beta$ . A  $\beta$ -catenin foszforilációjának gátlásakor, a  $\beta$ -catenin felhalmozódik és a sejt magba transzlokálódik, ahol T-sejt specifikus transzkripciós faktorokkal (T-cell transcription factors/lymphoid-enhancer binding factor; TCF/LEF) képez komplexet így képes lesz bizonyos target gének repressziójára vagy aktiválására úgy, mint c-Myc, ciklin D1, fibronectin, VEGF, Bcl-2 és túlélő gének.

### **Eredmények III.**

#### *A bromelain hatása a miokardiális funkciókra*

A Br csoportban már az iszkémiát megelőzően is szignifikáns különbségek voltak megfigyelhetők a dP/dt<sub>max</sub>, LVDP, AF (aortakiáramlás) és CF (koronária áramlás) értékekben a kontroll állatokhoz képest. A szívfrekvenciában az iszkémia előtt, illetve után sem találtunk szignifikáns eltérést. A Br-kezelt csoportban az LVDP szignifikánsan növekedett mind baseline-ban, mind az iszkémiát követő reperfúzió 30 perces értékénél, a kontrollhoz

képest. A  $dP/dt_{max}$  a szív kontrakciós erejének jó jelzője, amely megmutatja, hogy mekkora erőt képes generálni a szív a vér kipumpálásához a kamrákból. A Br csoportban a  $dP/dt_{max}$  már az alapállapotban emelkedett volt. 120 perc reperfüziót követően a  $dP/dt_{max}$  posztisztkémiás értékei szignifikánsan magasabbak voltak (2,225 vs. 1,578 mmHg/s) a kezeletlen patkányokhoz hasonlítva. Hasonló mintázatot figyeltünk meg az AF (11 vs. 1,0) és a CF esetében is a kontroll csoporthoz viszonyítva.

#### *A bromelain hatása az infarktus kiterjedésére és a miokardiális sejtek apoptózisára*

Az infarktusos terület lényegesen nagyobb volt azokban a kontroll szívekben, melyek 30 perc iszkémián és 2 óra reperfüzió után estek át, az I/R protokollban részt nem vett szívekhez képest (nem ábrázolt adat). Az értékek észrevehetően csökkentek a Br csoportban a kezeletlen állatokhoz viszonyítva (34% vs. 43%). A Br kezelés szignifikánsan csökkentette az apoptózist (28% vs. 37%) a kontroll csoporthoz képest. A tapasztalt csökkenés oka a p-Akt és FOXO3A fokozott expressziója lehetett.

#### *A bromelain hatása az Akt és a FOXO3A foszforilációjának mértékére*

Az Akt foszforilációja mind a citoszolikus, mind nukleáris frakcióban növekedett I/R után a Br-kezelt csoportban a kontrollhoz képest. Hasonlóképpen, a Br-kezelés szignifikánsan serkentette a FOXO3A foszforilációját I/R után, a kontroll csoporttal összehasonlítva. Azt feltételezzük, hogy a Br révén foszforilálódó Akt a sejtmagba vándorol, ahol foszforilálja a FOXO3A-t, mely egy fontos túlélési szignált indít el az iszkémiás szívizomban. A FOXO fehérjék Akt-mediált foszforilációja a sejtmagban történik meg, ami miatt a DNS kötő képességük megszűnik, ugyanakkor a 14-3-3 proteinek számára kötőhelyeket képeznek. Az Akt által foszforilált FOXO3A ezután kilökődik a sejtmagból, és a 14-3-3 fehérjével együtt inaktív komplexbe záródik.

Jelen kísérlet számos ponton mutat arra, hogy a Br farmakológiai prekondicionáló szerként működhet. Eredményeink szerint a Br az apoptózis gátlásával csökkentette az infarktus kiterjedését és elősegítette a posztisztkémiás felépülést, azaz prekondicionálta a szívet a károsodással szemben. Emellett potens koszorúér-tágító, melyet a megnövekedett CF igazol. Megfigyeléseink alapján azt feltételezzük, hogy a Br-mediált kardioprotektív hatás az Akt-FOXO jelátviteli kaszkád aktiválódásán keresztül jöhetett létre. Kísérletünkben az Akt foszforiláció emelkedése következett be Br kezelés hatására, mely hozzájárulhatott a szívizomsejtek csökkent apoptózisához és az infarktusos terület mérséklődéséhez I/R károsodást követően. Apoptózis számos különböző kardiovaszkuláris megbetegedésben előfordul és a csökkent pumpafunkció egyik fő okának tekintik. Az Akt szerin vagy treonin

foszforilációja döntő szerepet játszik a sejt túlélési kaszkádban, mivel az Akt több olyan fehérje szubsztrátot foszforilál, melyek génátírást szabályoznak, ilyenek a FOXO család tagjai is. Az Akt megemelkedett expressziója a jobb szívizomkontrakcióhoz is hozzájárul, emellett elősegíti a növekedési faktorok által mediált túlélést és gátolja az apoptotikus sejthalált. Vizsgálatunk eredményei elsőként adnak bizonyítékot arra, hogy a Br jótékony hatásai az Akt foszforilálásán alapulnak, mely a FOXO3A foszforilálását váltja ki. Ez a foszforilációs sorozat köthető az apoptotikus sejthalál gátlásához. Igazoltuk, hogy a kísérletünk körülményei között a Br jelentősen csökkentette a miokardiális infarktus mértékét és javította a posztisztkémiás szívfunkciót, bizonyítva, hogy a Br legalább részben kardioprotektív az iszkémia/reperfúzióval kapcsolatos károsodással szemben.

#### **Eredmények IV.**

##### *Niacinhoz kötött króm-komplex alapú Energia formula (Ef) hatása a szívfunkciós paraméterekre*

Az iszkémia indukciója előtt nem volt észlelhető szignifikáns különbség a szívfunkciós paraméterekben az NKK-kezelt, illetve a kontroll állatokat tekintve. Az iszkémia utáni reperfúzióban az összes szívfunkciós paraméter értéke csökkent, minden csoportban. 30 nap kezelés után a 120 perc reperfúzió során mért LVDP szignifikáns növekedése volt megfigyelhető mind a hím, mind a nőstény állatokban, ugyanakkor, 60 és 90 napnál szignifikáns különbségek voltak észlelhetőek az LVDP-ben, kizárólag a nőstény állatokban, a kontrollokhoz viszonyítva. Az Ef-kezelt patkányokban a  $dp/dt_{max}$  és az aorta kiáramlás szignifikáns növekedését tapasztaltuk reperfúzió alatt. A szívfunkció jelentős posztisztkémiás javulása a NKK kezelés kardioprotektív hatását bizonyítja.

##### *Niacinhoz kötött Króm-komplex alapú Energia formula (Ef) hatása a miokardiális infarktus kiterjedésére és az ATP és kreatin-foszfát (CP) szintekre*

Az infarktus nagysága (az infarktus területének százalékos aránya a teljes veszélyeztetett területhez viszonyítva) szignifikánsan megemelkedett a kezeletlen csoportban 30 perc iszkémia és 2 óra reperfúzió után az iszkémia előtti állapothoz képest. Az értékek számottevő mértékben csökkentek az NKK kezelés hatására. A kontroll állatokkal összehasonlítva, az Ef-kezelt hím patkányokban a miokardium ATP szintje 7, 58 és 59%-al, szintjei pedig 17, 31 és 59%-al emelkedtek 30, 60 és 90 nap kezelés hatására. Hasonlóan, az ATP szintek 12, 57 és 80%-al, a CP szintek pedig 16, 61 és 63%-al növekedtek 30, 60 és 90 nap kezelés után a nőstény patkányokban is.

Vizsgálatunk eredményei szerint az orális Ef kezelés mind hím és nőstény patkányokban is kardioprotektív hatást hozott létre, mely a kamrai funkció jelentősebb fokú posztisztkémias helyreállításában, valamint kisebb infarktusz terület megjelenésében nyilvánult meg a kontroll állatokhoz viszonyítva. A szívben magasabb ATP, CP és szinteket mutattunk ki a kezeletlen csoporthoz képest. Az AMP/ATP arány emelkedése aktiválja az AMPK-t, mely számos down-regulált célmolekula foszforilációját indítja el, így az ATP szint megtartott marad. A D-ribózzól ismeretes, hogy alacsony energiaszintek esetén 5-foszforibozil-1-pirofoszfáttá alakul, mely kulcsmolekula az ATP szintézis során. Jelen vizsgálatunkban az Ef kezelés során tapasztalt emelkedést a szívizomsejtek ATP és CP szintjeiben három lehetséges szabályozó mechanizmus hozhatta létre: a p-AMPK szintek növekedése, a ribóz vagy az aminosav bevitel, mely közvetve/közvetlenül az az energiaforrás, mely az ATP termelést és felhasználást szabályozza.

## **Eredmények V.**

### *A meggy-mag-kivonat és a hiperkoleszterinémia szívizomra gyakorolt hatásának követése ultrahangos képalkotó eljárással*

Az ultrahangos felvételek és az izolált szív funkciók paraméterei korrelációt mutatnak. Az E/A arány a szív diasztolés funkciójáról ad felvilágosítást. A szívelégtelenség kialakulásának kezdetén a szív szisztolés funkciója még ép, azonban a diasztolés funkció már sérül, ami az E/A csökkenésével indul. A kamrai szeptális miokardium falvastagságának változása még ebben a szakaszban nem következik be. Az echokardiográfias adatok alapján egyértelműen elmondhatjuk, hogy a szívben diasztolés funkciózavar jelenik meg a 16. hét elteltével (E/A). Az E'/A' arány nem-hiperkoleszterinémias csoportban 1,45, a HC csoportban 0,98 és a HC-kezelt nyulak esetében 1,29. Ez szintén arra enged következtetni, hogy az SCSE kezelés javította a szív diasztolés funkciójának romlását.

### *A 2%-os koleszterin diéta és SCSE hatása a szérumszintre*

A koleszterin diétában nem részesült (nem-hiperkoleszterinémias) csoportban a szérumban lévő koleszterin egyenletes plazmaszintet mutatott (1,5 mmol/l, 1,7 mmol/l, 1,8 mmol/l, 2,1 mmol/l, 2,4 mmol/l). A hiperkoleszterinémias csoport vérének koleszterinszintje már a 2. héten 4,7 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ), a 4. héten 5,3 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ), a 8. héten 12,3 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ), a 16. héten 24,5 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ) emelkedett. Ezen értékek statisztikailag szignifikánsan eltértek a kontroll csoporthoz képest, bizonyítva ezzel a koleszterin diéta hatékonyságát. A SCSE a plazmaszintet 2. héten 2,6 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ), a 4. héten 4,08 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ), a 8. héten 8,3 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ), a 16. héten 19,3 mmol/l-re ( $p < 0,05$ ) csökkentette.

### *Meggy-mag-kivonat hatása az infarktusos terület nagyságára és az ateroszklerotikus plakk méretére*

Az infarktusos terület nagyságának vizsgálata során arra a következtetésre jutottunk, hogy az HC SCSE kezelt állatoknál jótékony hatásának bizonyult a meggy-mag-kivonat ( $47 \pm 1.5$  vs.  $40 \pm 2.1$ ). A koleszterindús diéta 0%-ról  $75 \pm 11\%$ -ra emelte az ateroszklerotikus plakk méretét, bizonyítva ezzel a koleszterindús diéta hatékonyságát. A HC SCSE kezelt nyulaknál kisebb értékek figyelhetők meg ( $58 \pm 6$ ).

A meggy-mag-kivonattal kezelt hiperkoleszterinemiás nyulak szívében a HO-1 expresszió szignifikáns mértékben megemelkedett a HC kontroll csoporthoz viszonyítva iszkémia/reperfúziót követően ( $p < 0,05$ ). Az utóbbi években a HO-1 enzim különösen vonzó célpontjává vált olyan kórképek megelőzését és kezelését célzó kutatásoknak, melyekre a reaktív oxigéngyökök szintjének megemelkedése jellemző. A HO-1 úgy járul hozzá az oxidatív stresszel szembeni védelemhez, hogy a bilirubinon (a hem lebontásának anyagcsereterméke) keresztül gátolja a fiziológiás körülmények között nagy mennyiségű reaktív oxigént termelő NADPH oxidáz működését. A jelenleg rendelkezésre álló irodalmi adatok alapján nehéz kielégítően megválaszolni, hogy a SCSE kezelés miért nem befolyásolta a VEGF expressziót iszkémia/reperfúzió során. Ez az angiogén jelátvivő molekula az erek fejlődését serkenti sérülés vagy az embrionális fejlődés során, de egyes daganatok túlélésében is szerepet játszik a neovaszkularizáció elősegítésével. A koszorúérbetegségekre jellemző az endotél progenitor sejtek számának csökkenése, mely az érfalregeneráció kimerüléséhez vezet. Ezt a folyamatot a statinok és a VEGF is képes javítani. A jelen tanulmányban alkalmazott SCSE, mely a statinokhoz hasonlóan HO-1 indukáló hatással rendelkezik, nem befolyásolta a VEGF kifejeződését a szívizomzatban, mely arra utal, hogy a VEGF indukció nem a HO-1 aktivitáshoz köthető jelátviteli folyamatok eredménye.

### **Eredmények VI.**

#### *A Wild Garlic Leaf Lyophilisate WGLL hatásai a szívfunkcióra és a szívműködés biomarkereire, hiperkoleszterinemiás (HC) nyulakban*

Az echokardiográfiás mérések tekintetében a bal kamra végdiasztolés átmérője (ESD) M-módban jelentős emelkedést mutatott a hiperkoleszterinemiás (HC) állatokban ( $1,242 \pm 0,045$  cm a HC csoportban vs.  $1,016 \pm 0,091$  cm a kontrollban). A medvehagyma liofilizátummal (WGLL) kezelt hiperkoleszterinemiás csoportban (HCT) azonban nem volt megfigyelhető különbség a kontrollhoz viszonyítva ( $1,184 \pm 0,020$  cm). A frakcionális rövidülés (FS) és az ejekciós frakció (EF) adatok erős korrelációt mutattak a paraszternális hossz- és rövidtengelyi mérések között. Az FS és EF értékei szignifikánsan csökkentek a HC állatokban a kontroll



csoporthoz hasonlítva (FS (HC): 29,010±1,056, vs. FS (kontroll): 32,310±0,718; EF (HC): 49,810±1,140, vs. EF (kontroll): 56,910±1,2949. A HCT csoportban továbbá a frakcionális rövidülés és az ejekciós frakció jelentős emelkedése következett be a HC csoporthoz képest (FS (HCT): 32,970±1,131; EF (HCT): 55,990±1,756). Az E/A értéke jelentősen alacsonyabb volt a hiperkoleszterinémias állatokban a kontroll csoporthoz viszonyítva (HC: 1,207±0,037 vs. kontroll: 1,376±0,045), azonban a medvehagyma kezelés nem befolyásolta a fenti paramétert számottevő mértékben (HCT: 1,344±0,076) a kontrollhoz képest.

A HO-1 fehérje expressziója a HCT állatokban jelentősen megemelkedett a HC csoporthoz hasonlítva ( $p < 0,05$ ). A SOD-1 szöveti kifejeződése a HC csoportban szignifikánsan magasabb volt a kontroll és WGLL kezelt állatokhoz viszonyítva ( $p < 0,05$ ). A COXIII és VEGF fehérjék expressziója alacsonyabbnak mutatkozott a HC és HCT csoportban a kontroll nyulakban mért értékekhez képest ( $p < 0,05$ ).

#### *A hiperkoleszterinémia és a WGLL hatása az ateroszklerózis kialakulására*

A normál kísérleti táppal etetett kontroll nyulak mintáin ateroszklerotikus elváltozások nem voltak megfigyelhetőek. Az ateroszklerózis mértéke a hiperkoleszterinémias nyulakban jelentősen nagyobb volt (38,610%±0,146%) a kontroll állatokhoz viszonyítva ( $p < 0,05$ ). Szerényebb mértékű Oil Red O festődést figyeltünk meg a HCT nyulak esetében. A WGLL kezelt állatok aortájában szignifikánsan alacsonyabb mértékű ateroszklerózis volt kimutatható a hiperkoleszterinémias kontroll csoporthoz hasonlítva (16,710%±3,421%,  $p < 0,05$ ).

A medvehagyma liofilizátum kardioprotektív hatását olyan szempontból is értelmezhetjük, hogy miokardiális iszkémia esetén csökken az aortanyomás, ugyanakkor a koronáriakeringés és a bal kamrai nyomás is. Emiatt az aortanyomást csökkentő hatások károsak, illetve előnyösek is lehetnek. Így, bár a hiperkoleszterinémias állatokban megfigyelhető megemelkedett nyugalmi AoP arra utal, hogy egy ilyen fokú nyomásnövekedés már kóros mértékű, a tény, hogy a WGLL kezelés nem befolyásolta az AoP értékét, azt feltételezi, hogy a kivonat elhanyagolható hatással rendelkezik az aortanyomásra. A szívizomszövet Western blot analízise a HO-1 protein jelentős emelkedését mutatta ki a HCT állatokban a hiperkoleszterinémias kontroll csoporthoz viszonyítva. Azonban meg kell jegyezni, hogy mivel a WGLL egyéb hatásokkal is rendelkezik, nem lehet megállapítani, hogy a medvehagyma kezeléssel kiváltott HO-1 expresszió milyen mértékben járult hozzá a kardioprotektív hatáshoz. Western blot vizsgálatunk kimutatta, hogy a COXIII és a VEGF, melyek szerepe feltételezhető a különböző kardiovaszkuláris megbetegedések kialakulásában, alacsonyabb expressziót mutatott mind a hiperkoleszterinémias kontroll, mind a HCT csoportban a normál tápon tartott nyulakhoz viszonyítva. A HC és a WGLL kezelt állatok között statisztikailag szignifikáns

különbséget nem tapasztaltunk, mely arra utal, hogy a medvehagyma kardioprotektív hatásai a hem/HO rendszeren keresztül fejeződnek ki a COXIII és VEGF fehérjék befolyásolása nélkül.

## **Eredmények VII.**

### *A Wild Garlic Leaf Lyophilisate WGLL hatásai az in vivo szívfunkciós paraméterekre pulmonális artériás hipertenzió (PAH) modellben*

A frakcionális rövidülés (FS) és az ejekciós frakció (EF) értékek tekintetében nem volt különbség a csoportok között. A MAPSE által jellemzett szisztolés funkció szintén nem mutatott szignifikáns eltérést a kezelési csoportok között, csakúgy, mint a szívfrekvencia (HR). A jobb kamrai szisztolés működés meghatározása a TAPSE értékek mérésével történt. A TAPSE értékek a kontroll állatokban a normál tartományban maradtak ( $2,308 \pm 0,074$  mm), de a PAH patkányok esetében jelentős csökkenés következett be ( $1,697 \pm 0,098$  mm) a kezeletlen csoporthoz viszonyítva. A WGLL és sildenafil-kezelt állatok TAPSE értékei szignifikánsan magasabbak voltak a PAH kontrollhoz hasonlítva (WGLL:  $2,021 \pm 0,071$  mm, sildenafil:  $2,390 \pm 0,069$  mm). A kontrollhoz viszonyítva azt találtuk, hogy az E/A arányt sem a monokrotalin injekció, sem a WGLL, vagy a sildenafil kezelés nem befolyásolta jelentősen a kísérlet 8 hete során.

### *A Wild Garlic Leaf Lyophilisate WGLL hatása a PDE5 expressióra*

A szívben a PDE5A expresszió szignifikánsan magasabb volt a PAH és WGLL csoportban a sildenafil és kontroll állatokhoz viszonyítva (PAH:  $2,174 \pm 0,110$ , WGLL:  $2,690 \pm 0,096$ , sildenafil:  $1,432 \pm 0,139$ , kontroll:  $1,410 \pm 0,088$ ). Emellett a sildenafil kezelés láthatóan gátolta a PDE5A expressziót a jobb kamrában.

A PAH patogenezis első és legfontosabb eseménye a pulmonális erek remodeling folyamata, melyben a NO/cGMP rendszer jelentős szerepet játszik. A foszfodiészteráz enzim izoformái felelősek a cGMP hidrolíziséért a tüdő ereiben. Korábban leírták, hogy a sildenafil a PDE5 enzim gátlásán keresztül elősegíti a cGMP felhalmozódását, ezáltal az NO hatástartamát hosszabbítja. Jelen tanulmány igazolja, hogy a sildenafil gátolja PAH nyomán megemelkedő PGE5A expressziót, hasonlóan egyéb beszámolók eredményeihez. Western blot eredményeink alátámasztják, hogy a monokrotalin-indukált PAH modellben a PDE5A expresszió jelentősen megemelkedik a jobb kamrában. A WGLL nem befolyásolta a PDE5A szinteket a jobb kamrában, így protektív hatásait valószínűleg egyéb útvonalakon keresztül fejt ki. Legjobb tudásunk szerint ez új eredmény, hiszen más kutatócsoport eddig nem vizsgálta a medvehagyma kivonatok hatásait a PDE5 enzim kifejeződésére. Ezen felül PDE5 szintek a tüdő szövetben még magasabbak voltak WGLL kezelés hatására, mint a PAH kontroll csoportban.

## **Eredmények VIII.**

### *A diosgenin és a görögszéna extraktum hatásai a testsúly-növekedésre*

A 6 hetes kezelést követően sem a testsúly, sem az éhomi glükóz, sem az inzulin plazmakoncentráció nem mutatott jelentős különbségeket az egyes csoportok között. Ezen eredmények mutatják, hogy az alkalmazott állatmodellben sem obezitás, sem inzulinrezisztencia (a metabolikus szindróma két jellemző kóros állapota) nem alakult ki. Következésképpen, a görögszéna, illetve a diosgenin kezelés sem okozott jelentős változást a testsúlyban és a glükóz homeosztázisban sem.

### *A noradrenalinra és acetil-kolinra adott válasz izolált éren*

A 6 csoport között nem mutatkozott szignifikáns különbség az egyes noradrenalin koncentrációra adott válaszok tekintetében. Ugyanakkor egy statisztikailag nem szignifikáns növekedés tapasztalható a pozitív kontroll csoport (magas zsír- és szénhidrát diéta) noradrenalin-érzékenysége esetén (a negatív kontroll/normál tápos csoporttal összehasonlítva), mely a NO csökkent termelődéséből és/vagy nehezebb hozzáférhetőségéből is eredhet. Amennyiben ez a jelenség áll a háttérben, úgy az NO homeosztázis állhat a háttérben. A negatív kontroll csoport esetén (mely állatok normál tápot és csapvizet kaptak) 10-100 $\mu\text{mol/l}$  acetil-kolin (ACh) teljesen megszüntette az EC<sub>50</sub> noradrenalin-kiváltotta pre-kontrakciót. A pozitív kontroll csoporttal (HFHS étrenden tartott állatok) összehasonlítva, a 10, 100, 1000 $\mu\text{mol/l}$  koncentrációk esetén szignifikáns különbség mutatkozott. Az alkalmazott HFHS diétás patkánymodellben, az obezitás és az inzulinrezisztencia hiányának ellenére, az endotél diszfunkció a károsodott szénhidrát/lipid metabolizmusra utal. A 2g/ttkg/nap görögszéna mag őrlemény kezelés szignifikánsan javította az acetil-kolinra adott választ (még viszonylag alacsony koncentrációk esetén is), majdnem teljesen ellensúlyozva a HFHS diéta okozta káros hatásokat. A diosgenin kezelés, melynek a görögszéna hatóanyagaként a kedvező hatást tulajdonítottuk, a görögszéna mag őrleményhez hasonlóan hatott jelen modell esetén. A 2 g/ttkg/nap görögszéna mag őrlemény kezelés (mely diosgenin tartalom tekintetében a 10 mg/ttkg/nap mennyiségnek felel meg) két érdekes különbséget mutatott a diosgenin kezeléssel összehasonlítva. Egyrészt, a görögszéna-kezelt csoport esetén volt a leghatékosabb az acetil-kolin koncentráció-hatás (E/c) görbe, mely a görögszéna mag őrlemény számos összetevője komplex hatásának tulajdonítható. Másrészt, kizárólag a görögszéna kezelés tudta szignifikánsan növelni a relaxáció mértékét a 10 nmol/l (tehát egy viszonylag alacsony) acetil-kolin koncentráció esetén, noha az acetil-kolin kiváltotta maximális relaxáció (nem szignifikánsan) kisebb volt, mint a negatív kontroll vagy a diosgenin-kezelt csoport esetén.

A korábbi tanulmányokban a diosgenin számos molekuláris célponton keresztül befolyásolta a szénhidrát homeosztázist, hatékonyan csökkentve a hiperglikémiát, gyógyszer indukálta diabéteszes patkánymodellek esetén. A folyamat hátterében húzóó mechanizmusok sokrétűek, ide tartozik a pankreász  $\beta$ -sejtek funkciójának megőrzése, a májban zajló glükoneogenezis és antioxidáns kapacitás szabályozása a májenzimek modulációján keresztül, az adipociták differenciálódásának elősegítése, a makrofágok zsírszövetbe történő infiltrációjának, valamint a gyulladásos gének expressziójának gátlása. Ex vivo kutatások során derült fény a diosgenin direkt artériás simaizom moduláló hatására, melyet a sejtek viabilitásán, valamint a simaizomsejt migráció gátlásán keresztül figyelhetünk meg. Eredményeink, melyek szerint az endotél-diszfunkció a metabolikus szindróma egy korai jele lehet, számos korábbi tanulmánnyal összhangban áll. 2-8 hétig magas zsír és szénhidrát diétán (HFHSD) tartott nyulak esetén az endotél-diszfunkció már a második héten kialakult. A szabad zsírsavak meghatározó szerepet játszanak az endotél-diszfunkció kialakulásában, mivel downregulálják az AMPK/PI3K/Akt/eNOS jelátviteli útvonalat, aktiválják a NADPH oxidázt ezzel megnövekedett ROS termeléshez és oxidatív stresszhez vezetnek, illetve szintén aktiválják a protein kináz-C és NF- $\kappa$ B útvonalakat, akadályozva ezáltal a vaszkuláris inzulin szignalizációt.

## **Eredmények IX.**

### *BGP-15 hatása a Goto-Kakizaki és Wistar patkányok metabolikus paramétereire*

A 12 hetes periódus után a GotoK patkányok éhomi glükózsintje szignifikánsan emelkedett volt a Wistar kontrollokéhoz képest, és bár minden kezelés csökkentette a szérum glükózsintjét, csak a pioglitazon kezelés hatása érte el a szignifikancia szintet ( $p < 0,05$ ). Az inzulinrezisztenciát jelző HOMA-IR indexet (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) a végpontban mért bazális szérum glükóz és inzulin értékek alapján számítottuk, az így kapott eredmény szignifikáns eltérést mutatott a GotoK és Wistar patkányok között ( $p < 0,05$ ).

### *A BGP-15 emeli a foszfolamban és a VASP fehérjék foszforilációs szintjét*

A Western blot analízist foszfo-specifikus antitestekkel végeztük (célpontok a következők voltak: foszfolambán (PLB) 16-os szerin aminosava és a vazodilatátor-stimulált foszfoprotein (VASP) 239-es szerin aminosava), melynek eredményeképpen a patkány miokardiumokban a PLB és a VASP foszforilációs szintjében jelentős eltéréseket találtunk. A foszfo(Ser16)-PLB / nem foszforilált forma (pPLB/PLB) aránya szignifikánsan csökkent a GotoK csoportban a Wistarban mérthez képest ( $p = 0,0171$ ), de nőtt a BGP-15 kezelés hatására a cukorbeteg GotoK állatok értékeihez képest ( $p = 0,0348$ ). A metformin kezelés hasonló tendenciát mutatott

( $p=0,1432$  vs. GotoK). Mivel a PLB 239-es szerin aminosava a Protein-kináz G (PKG) foszforilációs célpontja, ezért a foszfo(Ser239)-VASP (amely így PKG aktivitás becslésére alkalmas) expresszióját is megmértük, továbbá meghatároztuk a foszfo(Ser239)-VASP / nem foszforilált VASP (pVASP/VASP) arányt is. A pVASP/VASP aránya a pPLB/PLB arányhoz hasonlóan alakult, hiszen a kezeletlen GotoK csoporthoz képest szignifikánsan emelkedett a BGP-15-tel kezelt állatokban ( $p=0,0094$ ), a metformin kezelés pedig nem okozott szignifikáns emelkedést ( $p=0,0877$  vs. GotoK). A kezelési csoportok között nem észleltünk eltérést a SERCA2a kifejeződésében. A ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) lebontásáért felelős foszfodiészteráz 9A (PDE9A) expressziós szintje sem különbözött szignifikánsan a csoportok között.

Ebben a tanulmányban megkíséreltünk összehasonlítani két standard antidiabetikumot (metformin, pioglitazon) egy ígéretes gyógyszerjelölttel, a hidroximsav-származék BGP-15-tel. Bár a tanulmány fő célja a hatóanyagok kardiovaszkuláris rendszerre kifejtett hatásainak feltérképezése volt, a teljesség kedvéért tanulmányoztuk a szerek metabolikus paraméterekre kifejtett hatását is. Ami a glükóz homeosztázist illeti, az állatok a 12 hetes kezelés végére inzulinrezisztencia jeleit mutatták.

Echokardiográfiás vizsgálattal megállapítottuk, hogy a BGP-15 kezelés GotoK patkányokban normalizálta a diasztolés paramétereket és javította a szív teljesítményét is, de sem a vaszkuláris státuszra, sem a vércukorszintre nem volt szignifikáns hatással. A transzmitrális Doppler technika normál E/A arányokat mutatott, az E és A hullám sebessége szignifikánsan nőtt a kezeletlen GotoK csoporthoz képest.

Saját kutatócsoportunk eredményei alapján a BGP-15 egyéb kardioprotektív hatásokkal is rendelkezhet. Legutóbbi tanulmányainkban kimutattuk, hogy mind az egyszeri, mind a krónikus BGP-15 kezelés javítja a diasztolés funkciót kardiomiopátiában szenvedő nyúl modellen. A BGP-15 kezelt állatokban a vaszkuláris státusztól függetlenül javultak az echocardiográfiásan mért diasztolés paraméterek (E/A és E/e' arány) a Tei-index, illetve csökkent a fibrózis mértéke. A kardiomiociták szintjén igazoltuk, hogy a kezelés hatására csökken az izomsejtek passzív feszülése, melyben szerepet játszik a Protein Kináz G aktivitásának növekedése, illetve a következményes titin foszforiláció (Ser4080) emelkedése, a titin N2BA/N2B izoforma arány megváltozása. A folyamatok hátterében a BGP-15 miokardiális cGMP-szintet növelő hatását is kimutattuk, mely részben foszfodiészteráz-gátló tulajdonságának következménye lehet. Egy másik tanulmányunkban egy teljes évig tartó krónikus BGP-15 kezelés hatását vizsgáltuk a szívfunkciós paraméterekre, illetve a sejtek energia-háztartására aging Zucker Diabetic Fatty (ZDF) patkányokban. A korábbiakkal összhangban itt is sikerült kimutatnunk az echokardiográfiás paraméterek jelentős javulását a

kezelt csoportban (E/e', Tei-index, IVRT, MAPSE, EF), melyet a kardiomiociták megnövekedett mitokondrium-száma, ATP-szintáz enzim expressziója és aktivitása kísért, az állatok túlélésének szignifikáns növekedése mellett.

## **Eredmények X.**

### *A hiperkoleszterinémia hatása a szívfunkciós paraméterek változására echokardiográfia segítségével*

Az echokardiográfias paraméterekben szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk a HC és kontroll nyulak között, főleg a diasztolés funkciót leíró mutatók területén. A HC csoportban nőtt a bal pitvar mérete, a bal kamra tömege és relatív falvastagsága, a kiáramlási traktus sebessége és nyomásgrádiense, míg az E/A és a septalis e'/a' arányok csökkentek, valamint a decelerációs idő megnyúlt és az E/e' arány is emelkedett. Az izovolumetriás relaxációs idő extrém módon megnyúlt, a miokardium globális teljesítményét jelző Tei index értéke pedig nőtt. Speckle Tracking echokardiográfia során csökkent globális longitudinális szisztolés funkciót (GLS) detektáltunk a HC állatokban a Kontroll csoporthoz képest.

### *VASP és foszforilált VASP expresszió vizsgálata Western blottal*

A fehérjét bal kamrai szövetmintákból izoláltuk, az eredmények három különböző mérés átlagaiból származnak. GAPDH-ra standardizáltunk, ezt követően mintegy kétszeres emelkedést tapasztaltunk a PDE9A szintjében a HC csoport mintáiban, az egészséges nyulakhoz képest ( $p < 0,001$ ). A VASP és a foszforilált VASP (pVASP239) kifejeződése szignifikánsan magasabb volt a koleszterindús diétán tartott nyulakban, viszont a pVASP/VASP arány nem változott, amely változatlan PKG1 aktivitásra utal. A cGMP szintek között sem tapasztaltunk szignifikáns eltérést.

Tanulmányunk legfontosabb eredménye, hogy – tudomásunk szerint először – mutattuk ki a PDE9A upregulációját hiperkoleszterinémiás állatok bal kamrai mintájából, ateroszklerotikus körülmények között. Nagy érdeklődés övezi a PDE9A upregulációjával járó kardiális (és kognitív) betegségeket, mióta kimutatták, hogy a PDE9 szabályozza a nátriuretikus útvonalon képződő cGMP poolt, így még potensebb hatással van a szívelégtelenség kialakulására, mint a PDE5. Kísérletünkben a VASP és a pVASP<sup>239</sup> expressziót is meghatároztuk. Az ateroszklerotikus állatok miokardiális szövetében szignifikánsan emelkedett (nem foszforilált formájú) VASP kifejeződést észleltünk, amely talán megerősítheti más kutatók eredményeit, de tudomásunk szerint a mi tanulmányunk az első, amely ateroszklerózis talaján kialakult szívbeteg állatmodellben megnövekedett miokardiális VASP expresszióról számol be.

Számos különböző tanulmány, különböző kísérletes körülmény között mutatta be, hogy az emelkedett cGMP szint és a PKG fokozott aktivitása kardioprotektív szignalizációs útvonalat indít el. Először is, a PKG a nátriuretikus peptidek egyik effektora, mely fehérik a szívizomsejtekből szabadulnak fel megnövekedett nyomásterhelés hatására. A PKG aktiválódása elengedhetetlen az iszkémiás poszt kondicionálás protektív hatásához. Továbbá, kutatócsoportunk egyik korábbi kísérletében leírta, hogy a prekondicionálás véd az I/R károsodással szemben és ez a kedvező hatás az emelkedett miokardiális cGMP szinttől függ. Azt azonban fontos megemlíteni, hogy a prekondicionálás csak intakt szövetekben működik, míg kóros viszonyok között ill. társbetegségekkel színezett kórképekben (pl. hiperkoleszterinémia) elveszíti protektív mechanizmusát. A BGP-15 SERCA2a aktivitást fokozó hatása alapján felmerült a lehetőség, hogy a BGP-15 esetlegesen a PDE gátlásán vagy  $\beta$ -receptorokon kifejtett antagonizmus révén is képes befolyásolni a szív működést. Humán pitvari trabekula modellen végzett izolált szerves vizsgálataink igazolták, hogy a BGP-15 dózisfüggő módon a pitvari izomzaton negatív inotróp hatást vált ki, melynek maximális mértéke a szerkezetileg hasonló propranolol hatásához mérhető volt.

## Következtetések

(i) A resveratrol kezelésben részesült diabéteszes patkányokban szignifikánsan emelkedett a Trx-1 és HO-1, mely folyamat gátolható volt nitrogén-monoxid szintáz inhibitorral. A resveratrol kezelést követően csökkent vércukorszintet tapasztaltunk, mely szignifikánsan megemelkedett Mn-SOD aktivitással párosult. A vércukor értékek szignifikánsan megemelkedtek a diabéteszes állatokban (>500mg/dl) a nem diabéteszesekkel összehasonlítva (90mg/dl). A resveratrol kezelés a beteg csoportban jelentősen csökkentette a vércukorszintet (370mg/dl) a diabéteszes csoportokhoz képest (>500mg/dl). Az L-NAME kezelt csoport megszüntette a resveratrol-mediált vércukorszint csökkentést. A resveratrol javította a miokardiális funkciók paramétereit, azonban az L-NAME kezelés csökkentett funkcionális visszatérést eredményezett.

(ii) A koleszterindús táplálkozás okozta miokardiális komplikációk, mint a megnövekedett infarktusos terület, az apoptózis mértéke, a károsodott angiogenezis mind javíthatók resveratrol kezeléssel. Emellett prezentáltuk, hogy a statin és resveratrol kombinált terápia mennyivel eredményesebbnek bizonyul HC-miokardium kezelésében, mint a statinok önmagukban.

(iii) Az intraperitoneális Br kezelés kardioprotektív hatást biztosít globális I/R modellben. Br hatására javult a kamra posztisztkémias felépülése és csökkent az elhalt terület mérete, valamint az apoptózis mértéke a kezelt állatokhoz viszonyítva. A Br-mediált kardioprotektív hatás az Akt-FOXO jelátviteli kaszkád aktiválódásán keresztül jöhetett létre.

(iv) A niacin-kötött-bróm posztisztkémias kardioprotektív hatását is igazolni tudtuk. Az Energia formula (Ef) kezelés képes volt I/R károsodást követően javítani a szívfunkciót, illetve csökkentette az infarcerálódott terület kiterjedését nőstény és hím egyedekben egyaránt. Hatásának hátterében a fokozott HSP-25, -32 és -70 expresszió állhat, valamint az AMPK fokozott foszforilációja szintén elősegítette a sejtek I/R okozta károsodással szembeni ellenállását.

(v) A meggy-mag-kivonat szívre gyakorolt hatását is meg vizsgáltuk in vivo hiperkoleszterinémias nyúlmodellben. A magas lipid szintektől elsősorban diasztolés szívelégtelenség kialakulását vártuk, amelyet szívultrahanggal vizualizáltunk. A vizsgálat során rögzített E/A arányok alapján a meggy-mag-kivonat adása diasztolés funkció javulását eredményezte. A kezelés az izolált szív I/R károsodásában látható csökkent aorta kiáramlási értékeket képes volt javítani, illetve csökkentette az infarktusos terület nagyságát is. Az MKK hatására az I/R károsodást szenvedett szívmuszkulációkban fokozódott a COX enzim aktivitása és megemelkedett COX III és HO-1 szintje. Ily módon az MKK a mitokondriális diszfunkciót javította, valamint elmondható, hogy szívmuszkulációkban antiapoptotikus hatással is bír.



(vi) A medvehogyma liofilizátum (WGLL) kezelés számottevő mértékű javulást eredményezett a végdiasztolés átmérő, az FS és az EF paraméterekben, továbbá a jobb kamrai funkció is szignifikánsan javult WGLL hatására. A WGLL emellett még az egészséges kontroll állatokhoz képest is jelentősen emelte a HO-1 expresszióját, a hiperkoleszterinemiában megnövekedett SOD-1 szintet ugyanakkor az egészséges szintre csökkentette le, ezzel nagymértékben hozzájárulva a szívizom védelméhez az oxidatív stresszel szemben. Azonfelül WGLL hatására mérséklődött a magas össz koleszterin és az LDL-C szintje, továbbá a hiperkoleszterinemiában lecsökkent ApoA és megemelkedett ApoB szintjét is szignifikánsan javította. A medvehogyma liofilizátum továbbá csökkentette mind az LDH, mint a kreatin kináz szintjét, ami májvédő hatására is utal.

(vii) A monokrotalin-indukálta PAH modellben megfigyelhető jobb kamrai szívfunkció károsodását a TAPSE érték csökkenése tükrözte, viszont a WGLL, valamint a pozitív kontrollként alkalmazott sildenafil javította ezt a paramétert. A medvehogyma liofilizátum növelte a PAH csoportban megfigyelhető csökkent aorta átáramlást és lökettérfogatot, emellett a szívfrekvenciát is fokozta, így a perctérfogat az egészséges kontroll állatokhoz mérhető lett. A WGLL és sildenafil mind a jobb kamrai hipertrófiát, mind az érfal megvastagodást meg tudta előzni. WGLL hatására a sildenafill szemben nem változott a jobb kamrában a PDE5 expressziója, ami arra utal, hogy a medvehogyma kardioprotektív hatását nem a PDE5 útvonal gátlásán keresztül fejt ki.

(viii) A diosgeninnel kezelt csoportok esetében a 10, illetve 50 mg/kg dózissal kezelt állatoknál láttunk a negatív kontrollhoz mérhető relaxációt. Az 50 mg/kg-os csoportban ez a hatás sokkal kifejezettebb volt, de nem akkora, mint a görögszéna esetében, ami azt sugallja, hogy a görögszéna vazodilatátor hatásának hátterében egyéb vegyületek is szerepet játszanak. A HFHS kontroll csoportban mind az oxidált, mind a redukált glutation szintje megemelkedett, míg mindegyik kezelt csoportban ezen vegyületek szintje lecsökkent, ezen felül a diosgeninnel és görögszénával kezelt állatokban a kontroll csoportokhoz képest szignifikánsan csökkent a glutation-reduktáz szintje, ami a diosgenin antioxidáns hatására utal.

(ix) 12 hetes kezelési periódus végén a Goto-Kakizaki patkányok éhgyomri vércukorszintje szignifikánsan magasabb volt az egészséges kontrollként alkalmazott Wistar állatokhoz képest. A kezelt csoportok mindegyike csökkentette az éhgyomri glükózsintet, de csak a pioglitazon ért el statisztikailag igazolható hatást. A Goto-Kakizaki kontroll patkányoknál gyengébb aortareaxációt figyelhettünk meg a Wistar csoporthoz viszonyítva, de a különbség nem volt szignifikáns. A pioglitazon kezelés azonban jelentős mértékben javította a vazoreaxációt a Goto-Kakizaki kontrollhoz képest. A Wistar kontrollokhoz viszonyítva a Goto-Kakizaki patkányokban a diasztolés szívfunkciók romlását figyeltük meg. Az MV E, E/e' arány, az

LVOT Vmax megemelkedett, az  $e'/a'$  arány és a LV ET csökkent. A BGP-15 kezelés statisztikailag szignifikáns módon javította ezeket a paramétereket. Goto-Kakizaki állatokban csökkent a foszforilált foszfolambán és a VASP aránya, de BGP-15 hatására jelentős mértékben nőtt mindkét enzim foszforilációja. Eredményeinket összefoglalva, a BGP-15 hatékonyan javította a diasztolés szív működést a Goto-Kakizaki diabétesz modellben, továbbá valószínűsíthető, hogy a kardioprotektív hatást a SERCA/foszfolambán útvonalon keresztül képes kifejteni.

(x) Kísérletünkben hiperkoleszterinémias nyulak kardiovaszkuláris elváltozásait vizsgáltuk. Echokardiográfiás mérésekkel kimutattunk, hogy a koleszterindús diéta számos ponton károsította a szív működést, főként a diasztolés funkció terén. A hiperkoleszterinémias csoportban nőtt a bal pitvar mérete, a bal kamra tömege és relatív falvastagsága, a kiáramlási traktus sebessége és nyomásgrádiense, a decelerációs idő, az  $E/e'$  arány, izovolumetriás relaxációs idő, valamint a Tei index. Csökkent az  $E/A$  és az  $e'/a'$  arány, az ejekciós frakció és a frakcionális rövidülés értéke. Morfológiailag hiperkoleszterinémia hatására megnőtt a szív és a bal kamra tömege. A szérum paraméterek terén az össz koleszterin, LDL és HDL jelentősen megemelkedett a koleszterindús diéta hatására, emellett az ApoB/ApoA arány, valamint az aterogén index is szignifikánsan nőtt. A bal kamrából elvégzett Western blot analízis a PDE9A és PKG1 emelkedését mutatta ki hiperkoleszterinémias nyulakban. A VASP és a foszforilált VASP mennyisége is nőtt, a foszforilált és nem foszforilált VASP aránya viszont nem, amelynek a hátterében az állhat, hogy az upregulált PDE9A korlátozza a cGMP/Protein Kináz G kardioprotektív útvonal bekapcsolását. Humán pitvari trabecula modellen végzett izolált szerves vizsgálataink igazolták, hogy a BGP-15 dózisfüggő módon a pitvari izomzaton negatív inotróp hatást vált ki, melynek maximális mértéke a szerkezetileg hasonló propranolol hatásához mérhető volt.

## Köszönetnyilvánítás

A köszönetem kinyilvánításának megkezdése előtt le kell szögezmem, hogy a sorrend nem fontosság alapján történik, hiszen lehetetlen lenne rangsort felállítani abban, hogy ez az értekezés kiknek a segítségével valósulhatott meg. A kutatói munkám során mindenkitől egy kisebb vagy nagyobb darab „puzzle”-t kaptam a majdnem teljes kép kirakásához, ezen fejezetrészt éppen ezért kronológiai sorrendben igyekeztem megírni.

Hallgatóként, amikor a Debreceni Orvostudományi Egyetem Gyógyszerhatástan-Biofarmácia Tanszékén egy gyógyszerhatástan előadás után Fenyvesi Ferenc csoporttársamat elkísértem a diplomadolgozatához szükséges munkájához az izolált szív laboratóriumba, csodálkozva próbáltam megérteni a dobogó szív mögöttes létét, amelyet Tósaki Árpád Professzor Úr és Szilvássy Zoltán Professzor Úr torakotómiát követően helyeztek fel az aorta majd vena pulmonalis kanülre, és bírták működésre. Az izolálás előtt és után a hallgatókat is bevonták a diszkurzusba és a kísérletes munkába egyaránt. Két szív felhelyezése közben olyan intellektuális témákat boncolgattak, amely graduális hallgatóként még teljes zűrzavart jelentett számomra, és nem gondoltam, hogy a két professzor a legfontosabb fejezetet fogja megnyitni életemben és olyan dolgokra fognak megtanítani, amelyek nélkül most egyrészt ez a mű nem készülhetett volna el, másrészt még kutatónak sem nevezhetném magam. Nem tudom szavakba önteni azt a köszönetet, amivel tartozom nekik azért, amivé váltam.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Tóth László (Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Gyógynövény és Drogismeret Tanszék) és Dr. Dinya Zoltán (Debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetem Analitikai Tanszék) Tanár Uraknak, hogy 1999-ben TDK hallgatójukká fogadtak és önálló munkavégzésre tanítottak. Nem tudok elég hálásnak lenni a gyógyszerész, illetve az orvosi karokon tanító valamennyi tanáromnak, akik nélkül a bázis tudást nem szerezhettem volna meg.

Az egyetemi karrierem véget is ért volna, hogyha Prof. Dr. Vecsernyés Miklós (Debreceni Egyetem, Gyógyszerésztudományi Kar, dékán) nem szorgalmazza felvételemet a Gyógyszerhatástan-Biofarmácia Tanszékre. Köszönöm neki, hogy annak ellenére, hogy mára már másik karon tevékenykedem, a kezemet nem engedte el és barátként, mai napig figyelemmel kíséri a sorsomat.

Köszönöm Dr. Bak István akkori kollégámnak, hogy rangidős PhD hallgatóként mindig segített azokban a szituációkban, amikor az izolált szív szövetes részleteiben elvesztem.

Nagyon hálás vagyok Prof. Dr. Antal Miklós Professzor Úrnak, hogy PhD hallgatóként bejárást biztosított a kutatólaboratóriumba és bevezetett az immunhisztokémia és elektronmikroszkópia rejtelseibe.

Hálával tartozom Nilanjana Maulik Professzor asszonynak, hogy a Farmingtoni Egyetemen töltött időszakom alatt, mint témavezető a bizalmába fogadott és olyan projekteket bízott rám, amelyek később citációk százait vonzották. Az Egyesült Államokban töltött kutatási időszak egy új fejezetet nyitott az életemben, ahol olyan metódokat tanulhattam, amelyekre itthon nem lett volna esélyem. Ebben kifejezetten mentoromnak tekintetem Dr. Shigeaki Kaga akkori szívsebész kollégámat, akitől „japános” precizitást, kitartást, strapabírást és alázatot tanulhattam. Itt szeretnék szintén köszönetet mondani az amerikai kutatólaborban eltöltött idő alatt az ott dolgozó Mahesh Thirunavukkarasu, Suresh Varma Penumathsa, Srikanth Koneru, Lijun Zhannak, akik egyaránt segítettek munkámat. Hálás vagyok Dr. Dér Péter barátomnak és hartfordi lakótársamnak, hogy a nehéz helyzetekben is jókedvre derített és csillapította az itthon maradt barátaim és rokonaim miatt érzett honvágyamat. Életem ezen korszakának lelki nehézségeiben szintén rengeteget segített Dr. Gesztelyi Rudolf kollégám és barátom, aki leveleivel és beszélgetéseivel olyan irányba terelt, hogy a külföldi kutatómunkából szakmailag a lehető legjobbat hozzam ki. Tudásával és tapasztalatával a mai napig gazdagítja a tudástáramat, és nagyon köszönöm neki, hogy bármikor bármiben számíthatok rá.

Hálával tartozom Prof. Dr. Helyes Zsuzsanna akadémikus asszonynak, hogy kutatási imádatával és alázatával irányt mutatott abban, hogy hogyan is kellene egy kutatócsoportot irányítani és vezetni.

Köszönettel tartozom Prof. Dr. Ferdinandy Péternek, hogy PhD illetve habilitációm során is építő kritikával segítette munkámat, és a konferenciákon történő beszélgetések során egy-egy apró ötlettel illetve kritikával mutatott irányt tudományos pályám előrehaladásában.

Nagyon hálás vagyok néhai barátomnak Dr. Kemény-Beke Ádámnak, hogy útmutatásával, tanácsaival, intézetünk metodikája az experimentális ophthalmologia irányába is kibővült, illetve nagyra értékelem „A szemészeti készítmények farmakológiája” című habilitációs előadások elkészítésében nyújtott hatalmas szakmai segítségét.

Nagyon köszönöm Papp Zoltán és Tóth Attila Professzor Uraknak, hogy egyetemünk akkori legjobb szívultrahang laborjához szabad bejárást biztosítottak, és mindemellett kutatómunkámat mindig önzetlenül segítették briliáns elméjükkel. Az MTA épületében történő védésükön csodálva szembesültem az akadémiai légkör varázsával, ahol abban a pillanatban fogadtam meg, hogy valaha én is ugyanott akarok állni. Köszönöm, hogy a mű megírásának utolsó pillanatában is tanácsukkal jobba tehettem az értekezést.

Nagyon hálás vagyok Dr. Majoros László professzor barátom szakmai segítségéért, baráti jókedvű beszélgetéseinkért és útmutatásaiért.

Hálámat szeretném kifejezni Prof. Dr. Pórszász Róbertnek, hogy a Farmakológia Intézetben sokat tanulhattam tőle az oktatási metodikák fejlesztése tekintetében.

Köszönöm Prof. Dr. Bhattoa Harjit Palnak, hogy a vérminták analízise tekintetében a leg lehetlenebb pillanatokban is a rendelkezésünkre állt, így egyetlen minta sem ment kárba.

Köszönetemet fejezem ki Dr. Varga Balázsnak, hogy kutatócsoportomban egy olyan személyként van jelen, aki a legapróbb részletekben képes több napig elmerengeni és olyan megoldással visszatérni, amelyről álmodni sem merek.

Szintén nagyon köszönöm Dr. Szabó Adrienn belgyógyász barátom szakmai iránymutatásait, amelyeket a betegség mellett tanulhattam meg tőle.

Hálás vagyok Dr. Kertész Attila kardiológus szakorvos egykori PhD hallgatónak, hogy kitartásával, precizitásával, ultrahangos tapasztalatával bővítette metodikai lehetőségeinket, és mai napig számíthatok rá bármilyen echokardiográfiás vagy egyéb kardiológiai problémákban. Nagyon köszönöm Dr. Bombicz Mariann szakgyógyszerész, egykori PhD hallgatónak és barátomnak, hogy kreativitásával, dinamikájával, vidámságával, életkedvével, sportok iránti nyitottságával egy új szint hozott az életembe, és nemcsak kollégaként, hanem barátként is bármikor számíthatok rá.

Hálával tartozom Dr. Priksz Dániel szakgyógyszerész már védett PhD hallgatónak, egyúttal barátomnak, hogy precizitásával, aprólékos, részletekbe menő tudásszomjával, kitartásával, lojalitásával, kiváló fogalmazó készségével szinte minden szakmai nehézségünkben gyógyírt talált a problémára.

Nagyon hálás vagyok a Szegedi Tudományegyetemről kollaborátorunknak Dr. Pósa Anikó docens asszonynak, akivel több pályázatot sikerrel tudunk a hátunk mögött. Ötleteivel, dinamikájával, strapabírásával példaértékű női kutatónak tartom, akire, mint nagyon stabil szakmai kollaborációs partnerre bármikor számíthattam.

Külön köszönöm Prof. Dr. Hohmann Juditnak, Prof. Dr. Csupor Dezsőnek, és Dr. Takács Istvánnak a medvehagyma vizsgálatában nyújtott farmakognóziái és analitikai segítségüket.

Hatalmas köszönet illeti Balla József és Balla György Akadémikus Urakat, hogy szakmai tudásukat, ötleteiket mindig önzetlenül bocsátották a rendelkezésemre, és abban az esetben, ha a kísérleteim megakadtak vagy alkotói válságba kerültem, mindig szakítottak rám időt és hatalmas tapasztalatuknak köszönhetően rengeteget tanulhattam tőlük.

Nagyon köszönöm Dr. Kiszil Okszánának, hogy amikor átkerültünk a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetbe, testvéri szeretettel gondoskodott rólunk.

Köszönettel tartozom Dr. Kurucz Andrea kardiológus szakorvos jelölt, egykori PhD hallgatóm szorgalmas és töretlen munkájáért.

Nagyon köszönöm Dr. Kiss Rita adjunktus asszony segítségét, amit mind a közös munkában, mind az életben tanúsított irányomban. Nagyon hálás vagyok azért, hogy megismerhettem, mert

nélküle biztosra mondhatom, hogy az életem nem így alakult volna, és az orvosi szemléletem nem bontakozhatott volna ki.

Nem tudok elég hálásnak lenni a Debreceni ODT tagjainak (Prof. Dr. Ádány Róza, Dr. Csoma Eszter, Prof. Dr. Harangi Mariann, Prof. Dr. Szűcs Gabriella, Prof. Dr. Balla György, Prof. Dr. Balla József, Prof. Dr. Csernoch László, Prof. Dr. Fülesdi Béla, Prof. Dr. Illés Árpád, Prof. Dr. Muszbek László, Prof. Dr. Nánási Péter, Prof. Dr. Tósaki Árpád), hogy üléseinken történő rutinos, tapasztalt, konstruktív, bölcs hozzászólásaikkal nagyon sokat adtak hozzá a saját kutatási attitűdömhöz.

Hálás vagyok A TEDI titkárának Szalai Andreának, hogy a doktori iskolával, illetve oktatással kapcsolatos adminisztrációs terhet leveszi a vállamról. Dr. Csoma Eszter és Oláh Zsuzsi nélkül a PhD hallgatóim elvesztek volna a szabályzatok útvesztőiben, de mindketten olyan háttértámogatással láttak el minket, hogy a védések gördülékenyebben, mondhatni ünnepi eseményként mehettek végbe.

Külön köszönöm Prof. Dr. Csont Tamás Bálint és Dr. Csonka Csaba önzetlen segítségét, hogy PhD vagy habilitációs pályamunkák alapos bírálatában vagy szakértelmében mindig számíthattam rájuk.

Hálás vagyok a sorsnak, hogy Dr. Szűcs Miklós urológus szakorvos PhD hallgatómat szintén a barátaim sorában tudhatom. Szakmai- és élettapasztalata, szakorvosi szemlélete egy új látásmódot nyitott meg előttem.

Köszönöm Dr. Szokol Miklós kardiológus szakorvos PhD hallgatónak, hogy kiváló intervenciós tudására alapozva a metodikai repertoárunkat ki tudtuk bővíteni.

Nagyon hálás vagyok Szilvássy Zoltán Professor Úrnak, Kovács Péter Professor Úrnak, Szabó Zoltán KK Elnök Úrnak, Dr. Somodi Sándor Tanár Úrnak, hogy tanítványuknak fogadtak, bevezettek a klinikumba, a klinikai farmakológiába, és megtanulhattam a humán vizsgálatok terén pl. a hiperinzulinémiás-euglikémiás clamp (HEGC) módszerét.

Külön köszönöm Dr. Lampé Nórának, egykori PhD hallgatóm töretlen, kitartó hozzáállását, illetve azt, hogy a továbbképzésekre történő felkészülésnél is naprakész kutatómunkával segíti előadásaim színvonalasabbá tételét.

Nagyon köszönöm jelenlegi PhD hallgatóimnak: Dr. Karácsonyi Zoltánnak, Dr. Kozma Máténak, Dr. Szekeres Rékának, Pelles-Taskó Beának és Dr. Blága Zsanettnak, hogy munkájukkal, ötleteikkel, szorgalmukkal, emberségükkel megkönnyítik a mindennapjaimat.

Nagyon hálás vagyok Dr. Szilágyi Annának, Dr. Takács Barbarának és Dr. Tarjányi Verának, hogy a kutatócsoportom részét képezik, és segítenek a mindennapi kutatási feladatok megalapozottabbá és cizelláltabbá tételében.

Hálával tartozom Dr. Szentmiklósi József tanár Úrnak, és Prof. Dr. Szántó Sándornak, hogy a humán etikai engedélyek beadásánál megkönnyítik életemet. Hasonlóképpen köszönöm Dr. Deák Ádám DEMÁB Elnök Úr állatetikai engedélyek benyújtásakor nyújtott segítségét.

Köszönöm Kerekes Juditnak és Kozma Krisztinának, hogy megkönnyítik a munkámat, kedvességükkel és gondoskodásukkal otthonos légkört teremtenek, és feledtetik az intézet minden dolgozójával, hogy valójában egy munkahelyen vagyunk.

Köszönöm Dr. Hegedűs Csabának és Luczi Péternek, hogy bármikor számíthattam rájuk minden szoftveres analízis és egyéb technikai problémák esetében.

Nagyon hálás vagyok Prof. Dr. Balogh Péternek, Dr. Czine Péternek, és Dr. Lengyel Péternek, hogy a matematikai és statisztikai problémák útvesztőiben mindig számíthattam rájuk.

Köszönöm Prof. Dr. Bácskay Ildikó dékán asszonynak, Dr. Fehér Pálma adjunktus asszonynak, Dr. Lekli Istvánnak, hogy a kollaborációs munkánk során mindig pozitívan és segítőkészséggel álltak kutatócsoportunkhoz, és bármikor számíthattunk rájuk a nehéz pillanatokban.

Köszönöm minden diplomamunkásomnak és TDK hallgatónak, hogy részese volt az életemnek, mert ők is a puzzle egy kis darabját beillesztették a kirakósba.

Hálás vagyok Vatler Gabriellának és Dr. Takács Evelinnek, hogy miattuk nem létezik a szótárban az, hogy adminisztrációs probléma, mert mindent villámütésszerűen megoldanak.

Köszönet illeti a Farmingtoni Egyetem Kísérletes Sebészeti Tanszék, a Gyógyszerhatástani Tanszék és a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet valamennyi munkatársát.

Szeretnék külön köszönetet mondani Dr. Németh József tudományos főmunkatársnak, Dr. Lelesz Beátának, Oláh Krisztinának, és Szegváriné Erdős Andreának a labormunkákban nyújtott segítségüket.

Köszönet illeti Prof. Dr. Mátyus László Dékán Urat, hogy az értekezés befejezésénél minden találkozásunk alkalmával azt sugallta, hogy életem jelen szakaszában, ígéretemnek megfelelően, mi is valójában a legsürgetőbb teendőm.

Köszönöm barátaimnak (megismerés sorrendjében) Nagy Attilának, és anyukájának, Erikának, Dr. Abbas Javadi Dafsarinak, Dr. Mojgan Goulipour Saliminek, Dr. Péter Zoltánnak, Bálega Jánosnak, Puskás Bélának, Anton Pálnak, Békési Tibornak (pótkeresztapámnak), Dr. Bányai Sándornak, hogy a szabadidőmben olyan emberekkel lehetek, mint ők, és segítenek mind a boldog, mind a nehéz idők eltöltésében, illetve átvészelésében.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm a családomnak; édesanyámnak Petrás Máriának, aki önzetlenségével magát mindig háttérbe sorolva támogatta az életutam minden állomását, enyhítve a rám nehezedő anyagi és erkölcsi nehézségeket. Köszönöm feleségemnek Zitának, lányaimnak Zizócának, Jacskának és Hannusnak, hogy az életem részévé váltak, mert nélkülük ez a munka ekkora szívvel és odaadással nem születhetett volna meg.

## A disszertáció alapjául szolgáló közlemények

1. Juhász, B ; Der, P ; Turoczi, T ; Bacskay, I ; Varga, E ; Tósaki, A. Preconditioning in intact and previously diseased myocardium: laboratory or clinical dilemma? *ANTIOXIDANTS & REDOX SIGNALING* 6 : 2pp. 325-333., 9 p. (2004).
2. Thirunavukkarasu, M ; Penumathsa, SV ; Juhász, B ; Zhan, LJ ; Cordis, G ; Altaf, E ; Bagchi, M ; Bagchi, D ; Maulik, N. Niacin-bound chromium enhances myocardial protection from ischemia-reperfusion injury. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology* 291 : 2pp. H820-H826. (2006).
3. Penumathsa, SV ; Thirunavukkarasu, M ; Koneru, S ; Juhász, B ; Zhan, LJ ; Pant, R ; Menon, VP ; Otani, H ; Maulik, N. Statin and resveratrol in combination induces cardioprotection against myocardial infarction in hypercholesterolemic rat. *Journal Of Molecular And Cellular Cardiology* 42 : 3pp. 508-516., 9 p. (2007).
4. Thirunavukkarasu, M ; Penumathsa, SV ; Koneru, S ; Juhász, B ; Zhan, L ; Otani, H ; Bagchi, D ; Das, DK ; Maulik, N. Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabétesz: Role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. *Free Radical Biology And Medicine* 43 : 5pp. 720-729., 10 p. (2007).
5. Juhász, B ; Thirunavukkarasu, M ; Pant, R ; Zhan, L ; Penumathsa, SV ; Secor, ER ; Srivastava, S ; Raychaudhuri, U ; Menon, VP ; Otani, H, Thrall, RS ; Maulik, N. Bromelain induces cardioprotection against ischemia-reperfusion injury through Akt/FOXO pathway in rat myocardium. *American Journal Of Physiology: Heart And Circulatory Physiology* 294 : 3pp. H1365-H1370. (2008).
6. Juhász, B, Varga, B, Gesztelyi, R, Kemeny-Beke, A, Zsuga, J, Tósaki, A. Resveratrol: A Multifunctional Cytoprotective Molecule. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 11: (8) pp. 810-818., 9 p.(2010). (Review)
7. Juhász, B ; Kertész, A ; Balla, J ; Balla, G ; Szabo, Z ; Bombicz, M ; Priksz, D ; Gesztelyi, R ; Varga, B ; Haines, DD ; Tósaki, A. Cardioprotective Effects of Sour Cherry Seed Extract (SCSE) on the Hypercholesterolemic Rabbit Heart. *Current Pharmaceutical Design* 19 : 39pp. 6896-6905., 10 p. (2013).
8. Kertész, A ; Bombicz, M ; Priksz, D ; Balla, J ; Balla, G ; Gesztelyi, R ; Varga, B ; Haines, DD ; Tósaki, A ; Juhász, B. Adverse impact of diet-induced hypercholesterolemia on cardiovascular tissue homeostasis in a rabbit model: time-dependent changes in cardiac parameters. *International Journal Of Molecular Sciences* 14 : 9pp. 19086-19108., 23 p. (2013).
9. Bombicz, M ; Priksz, D ; Varga, B ; Gesztelyi, R ; Kertész, A ; Lengyel, P ; Balogh, P ; Csupor, D ; Hohmann, J ; Bhattoa, HP ; Haines, DD ; Juhász, B. Anti-Atherogenic Properties of Allium ursinum Liophylisate: Impact on Lipoprotein Homeostasis and Cardiac Biomarkers in Hypercholesterolemic Rabbits. *International Journal Of Molecular Sciences* 17 : 8Paper: 1284, 18 p. (2016).
10. Bombicz, M ; Priksz, D ; Varga, B ; Kurucz, A ; Kertész, A ; Takács, Á ; Pósa, A ; Kiss, R ; Szilvássy, Z ; Juhász, B. A Novel Therapeutic Approach in the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension. Allium ursinum Liophylisate Alleviates Symptoms Comparably to Sildenafil. *International Journal Of Molecular Sciences* 18 : 7Paper: 1436, 19 p. (2017).
11. Priksz, D ; Bombicz, M ; Varga, B ; Kurucz, A ; Gesztelyi, R ; Balla, ; Toth, A ; Papp, Z ; Szilvássy, Z ; Juhász, B. Upregulation of Myocardial and Vascular Phosphodiesterase 9A in A Model of Atherosclerotic Cardiovascular Disease. *International Journal Of Molecular Sciences* 19 : 10Paper: E2882, 18 p. (2018).
12. Szabó, K ; Gesztelyi, R ; Lampé, N ; Kiss, R ; Remenyik, J ; Pesti-Asbóth, G ; Priksz, D ; Szilvássy, Z ; Juhász, B. Fenugreek (Trigonella Foenum-Graecum) Seed Flour and Diosgenin Preserve Endothelium-Dependent Arterial Relaxation in a Rat Model of Early-Stage Metabolic Syndrome. *International Journal Of Molecular Sciences* 19 : 3Paper: E798, 21 p. (2018)



13. Lampé, N ; Priksz, D ; Erdei, T ; Bombicz, M ; Kiss, R ; Varga, B ; Zsuga, J ; Szerafin, T ; Csanádi, Z ; Balla, Gy ; Balla, J ; Szilvássy, Z ; Gesztelyi, R ; Juhász, B. Negative Inotropic Effect of BGP-15 on the Human Right Atrial Myocardium. *Journal Of Clinical Medicine* 9 : 5Paper: 1434, 17 p. (2020).
14. Kozma, M ; Bombicz, M ; Varga, B ; Priksz, D ; Gesztelyi, R ; Tarjányi, V ; Kiss, R ; Szekeres, R ; Takács, B ; Menes, A ; Balla, J ; Balla, Gy ; Szilvássy, J ; Szilvássy, Z ; Juhász, B. Cardioprotective Role of BGP-15 in Ageing Zucker Diabetic Fatty Rat (ZDF) Model: Extended Mitochondrial Longevity. *Pharmaceutics* 14 : 2Paper: 226, 16 p. (2022).
15. Priksz, D ; Lampé, N ; Kovács, Á ; Herwig, M ; Bombicz, M ; Varga, B ; Wilisicz, T ; Szilvássy, J ; Pósa, A ; Kiss, R ; Gesztelyi, ; Raduly, A ; Szekeres, R ; Sieme, M ; Papp, Z ; Toth, ; Hamdani, N ; Szilvassy, Z ; Juhász, B. Nicotinic-acid derivative BGP-15 improves diastolic function in a rabbit model of atherosclerotic cardiomyopathy. *British Journal Of Pharmacology* 179 : 10pp. 2240-2258., 19 p. (2022).

A teljes közlemény lista MTMT szerint külön csatolva

## Tudományometriai adatok

Juhász Béla tudományos és oktatói munkásságának összefoglalása MTA  
V. Orvostudományi Osztálya (2024.04.04)

Tudományos közlemények	Száma		Hivatkozások <sup>1</sup>	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
<b>I. Tudományos folyóiratcikk<sup>2</sup></b>	<b>114</b>			
szakcikk nemzetközi folyóiratban, idegen nyelvű		105	1809	2341
szakcikk hazai idegen nyelvű		1	1	1
szakcikk magyar nyelvű		0	0	0
szakcikk sokszerzős, érdemi szerzőként <sup>3</sup>		0	0	0
összefoglaló közlemény		6	343	374
rövid közlemény		2	8	14
<b>II. Könyvek</b>	<b>0</b>			
<b>a) Szakkönyv, kézikönyv, tankönyv szerzőként</b>	<b>0</b>			
idegen nyelvű		0	0	0
magyar nyelvű		0	0	0
aa) Felsőoktatási tankönyv		0	0	0
<b>b) Szakkönyv, kézikönyv, konferenciakötet, tankönyv szerkesztőként</b>	<b>0</b>			
idegen nyelvű		0		
magyar nyelvű		0		
bb) Felsőoktatási tankönyv		0		
<b>III. Könyvrészlet</b>	<b>3</b>			
idegen nyelvű		3	0	0
magyar nyelvű		0	0	0
cc) Felsőoktatási tankönyvfejezet		0	0	0
<b>IV. Konferenciaközlemény<sup>4</sup></b>	<b>0</b>		0	0
<b>Oktatási közlemények összesen (II.aa,bb-III.cc)</b>		0	0	0
<b>Tudományos közlemények összesen (I-IV)</b>		<b>117</b>	<b>2161</b>	<b>2730</b>
<b>Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)</b>	<b>117</b>		<b>2161</b>	<b>2730</b>

<b>V. További tudományos művek</b>	22			
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságu folyóiratokban		16	6	7
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok		2	0	0
Oltalmak (szabadalmak)		4	0	0

<b>VI. Hivatkozott absztraktok<sup>5</sup></b>	1		1	1
<b>Összes hivatkozás<sup>1</sup></b>			2168	2738
<b>Hirsch index<sup>6</sup></b>	27			
<b>g index<sup>6</sup></b>	48			

<b>Speciális tudományometriai adatok</b>	<b>Száma</b>	<b>Összes hivatkozás</b>
Első szerzős teljes folyóiratcikkek száma <sup>2</sup>	8	303
Utolsó szerzős teljes folyóiratcikkek száma <sup>2</sup>	19	191
A tudományos fokozat (PhD 2004) elnyerése utáni teljes tudományos folyóiratcikkek száma	109	2533
Az utolsó 10 év (2014-) tudományos, teljes, lektorált tudományos folyóiratcikkeinek száma	65	580
A legmagasabb hivatkozottságu közlemény hivatkozásainak száma (az összes hivatkozás százalékában)	267	9,75%
Hivatkozások száma, amelyek nem szerepelnek a WoS/Scopus rendszerben		176
Jelentés, guideline	0	0
Csoportos (multicentrikus) közleményben kollaborációs közreműködő <sup>7</sup>	0	0