

Válasz Prof. Dr. Pintér Erika az MTA doktora cím elnyerése érdekében benyújtott pályázatom bírálatára

Tisztelt Professzor Asszony!

Nagy hálával tartozom, amiért elvállalta dolgozatom bírálatát, és értékes észrevételeivel, javaslataival segítette azt az utat, amely az MTA doktori védéshez vezet. A felvetett megjegyzésekre és kérdésekre az alábbiakban válaszolok:

„A dolgozat erőssége, hogy *in vivo* patkány és nyúl modelleken tanulmányozza a hatóanyagokat. Főleg koleszterin-etetéssel kiváltott, illetve diabétesszel járó metabolikus elváltozások keringési hatásait vizsgálja. A dolgozat gyengesége, hogy az alkalmazott természetes forrásból származó bioaktív anyagkeverékek, kivonatok analitikája, kémiai vizsgálatai kevésbé kidolgozottak. Pl. a meggy magkivonatról nem derül ki, milyen aktív anyagokat tartalmaz, a medvehagymánál csak az alliint említi, mint aktív vegyületet.”

Válasz:

Valóban a vizsgált kivonatok analitikája minimális hangsúllyal szerepelt a dolgozatban, aminek oka az volt, hogy az analitikai vizsgálatokban nem én vállaltam domináns részt, így ezzel nem akartam bővíteni a már amúgy is hosszúra sikeredett dolgozatot. A meggy magkivonat analitikája munkacsoportunk egy korábbi kutatása volt Dr. Bak István egyetemi docens vezetésével, „Isolation and analysis of bioactive constituents of sour cherry (*Prunus cerasus*) seed kernel: an emerging functional food.” címmel¹. Hasonló a helyzet a medvehagyma kivonat esetében is, ahol a medvehagyma alliin koncentrációját HPLC vel határoztuk meg², illetve a liofilizátumból készített extraktum komponenseinek spektrumait MALDI-TOF MS módszerrel mutattuk ki³. Mivel az analitika kollaborációban vagy valamelyik másik kutatótársam által lettek elvégezve, így etikusnak sem éreztem ezekkel hosszan foglalkozni egy a saját munkámról szóló disszertációban. A fent említett kivonatok analitikájáról az aktuális kérdéseknél részletesebben írok.

„Formai kifogások:

Fő probléma, hogy a kötelező elemek közül hiányzik a tézispontok összefoglalása, vagyis, hogy a jelölt mit kíván elfogadtatni originális, új eredményeknek munkássága alapján. Ez nagy nehézségek elé állítja a bírálót, aki megpróbálja a következtetések fejezetből kihámozni a lényegét. Kérem a pályázót, hogy az írásbeli válasz mellett a védésen elhangzó előadásában is mutassa be az összefoglalót!”

Válasz:

Teljes mértékben egyet értek a bírálóval, bővíthettem volna a dolgozatot egy tézispontok összefoglalása fejezettel, ezzel segítve a bírálók munkáját. Ezért a hiányosságért külön elnézést kérek, és ahogyan a bíráló kérte, itt írásban, a védésen pedig külön ábrában fogom kivetíteni.

Tézispontok összefoglalása

1. Resveratrol kezelésben részesült streptozotocinnal indukált diabéteszes patkányokban szignifikánsan emelkedik a Trx-1, HO-1 és VEGF expresszió, illetve javul a szívfunkció, mely folyamat gátolható nitrogén-monoxid szintáz inhibitorral. A resveratrol kezelés emellett csökkenti a vércukorszintet, az infarktusos terület méretét, valamint az apoptózist is az iszkémia/reperfúziós (I/R) patkány modellben.
2. A resveratrol hiperkoleszterinémiás patkányokban csökkenti a miokardiális komplikációk miatt megnövekedett infarktusos terület méretét, az apoptózis mértékét, valamint a károsodott angiogenezist. A statin és resveratrol kombinációs terápia hatásait vizsgálva az elsők között mutattuk ki, hogy mennyivel eredményesebbnek bizonyulnak kombinációban a HC-miokardium kezelésében, mint a statinok önmagukban.
3. Az intraperitoneális bromelain kezelés kardioprotektív hatást biztosít globális patkány I/R modellben. Javul továbbá a kamra posztisztkémiás felépülése, csökken az infarktusos terület mérete és az apoptózis mértéke a kezeletlen állatokhoz viszonyítva. Ez a kardioprotektív hatás az Akt-FOXO jelátviteli kaszkád aktiválódásán keresztül jöhet létre.
4. A niacin-kötött krómnak kardioprotektív hatása van posztisztkémiás modellben. A kezelés képes I/R károsodást követően javítani a szívfunkciót, illetve csökkenti az infarktusos terület kiterjedését nőstény és hím egyedekben egyaránt. Hatásának hátterében a fokozott HSP-25, -32, és -70 expresszió állhat, valamint az AMPK fokozott foszforilációja szintén elősegíti a sejtek I/R okozta károsodással szembeni ellenállását.
5. A meggy-mag-kivonat (MMK) a diasztolés funkció javulását eredményezi HC nyúl I/R modelljében. A kezelés az aorta kiáramlási értékeket képes javítani, illetve csökkenti az infarktusos terület nagyságát is. Ennek mechanizmusa kapcsolódhat a szívizomsejtekben megemelkedett COX III és HO-1 expresszióhoz.
6. Hyperkoleszterinémiás nyúl modellben a medvehagyma liofilizátummal (WGLL) történő kezelés számottevő mértékű javulást eredményez a szívfunkciós paraméterekben és a jobb kamrai funkcióban. A medvehagyma liofilizátum emellett még az egészséges kontroll állatokhoz képest is jelentősen emeli a HO-1 expresszióját és javítja a lipid paramétereket.
7. A medvehagyma liofilizátum a sildenafilhez hasonlóan csökkenti a jobb kamrai szívfunkció károsodását monokrotalin-indukálta pulmonális artériás hipertenzív (PAH) modellben, ami emelkedett TAPSE értékben, aorta kiáramlásban és lökettérfogatban mutatkozik meg. A WGLL a sildenafildel összemérhető mértékben mérsékli mind a jobb kamrai hipertrófiát, mind az érfal megvastagodást.
8. A görögszénamag javítja az endothel-funkciót magas zsír és magas cukor diétán tartott (HFHSD) patkány modellen. Az endothelium-függő vazorelaxáció javul diosgenin- és görögszénamag-kezelés hatására egyaránt.
9. A BGP-15 kezelés javítja a 2-es típusú diabétesz következtében károsodott diasztolés szívfunkciót Goto-Kakizaki patkánymodellen, a metabolikus- és vaszkuláris hatásoktól függetlenül. A BGP-15 kedvező hatásai mögött részben a foszfolambán Ser16-os aminosaván történő foszforiláltságának emelkedése, ezáltal a SERCA2a pumpa

megőrzött funkciója állhat, ami a Protein Kináz G (PKG) jelátviteli útvonal aktiválásán keresztül valósulhat meg.

10. Nyúl HC modellen az ateroszklerózis talaján kialakult kardiális diszfunkció a PDE9A enzim megnövekedett expresszióját eredményezi az érfalban és miokardiumban, ez a szívizom-szövetben együtt jár a PKG enzim expressziójának növekedésével, változatlan aktivitás mellett, így a PDE9A overexpressziója hozzájárulhat a kardioprotektív szignálok visszaszorításához.

„A dolgozat szövege nagyrésztben originális, viszont vannak teljesen azonos ábrák, táblázatok és ábraszövegek Kozma Mariann PhD értekezésében publikáltakkal.”

Azonos ábrák és táblázatok a két dolgozatban:

Juhász Béla – MTA Doktori Értekezés		Kozma Mariann – PhD Értekezés	
Oldalszám	Ábra/táblázat száma	Oldalszám	Ábra/táblázat száma
82.	29.	44.	13.
83.	30.	46.	15.
84.	31.	48.	17.
87.	32.	45.	14.
88.	33.	50.	18.
89.	34.	47.	16.

Részben azonos táblázatok a két dolgozatban:

Juhász Béla – MTA Doktori Értekezés		Kozma Mariann – PhD Értekezés	
Oldalszám	Ábra/táblázat száma	Oldalszám	Ábra/táblázat száma
85.	3.	51.	6.
86.	4.	43.	5.

Válasz:

Az MTA doktori értekezést írók esetében a témavezetett PhD hallgatók doktori értekezését, valamint a témavezető MTA doktori értekezést megalapozó közlemények jórészt azonosak. Így az ábrák, anyagok és módszerek szükségszerűen vagy azonosak, maximum minimális eltérést, esetleg az eredetileg angol szövegek magyar nyelvű verziójában térnek el. Kozma Mariann PhD értekezését témavezetésemmel írta, a kutatómunkát irányításommal, velem közösen végezte.

Mind az említett PhD értekezéshez, mind az MTA értekezéshez ugyanazok az eredeti közlemények kerültek felhasználásra és hivatkozással egyértelmű megjelöléssel. Ezeket a szükségszerű hasonlóságok mellett mindketten függetlenül próbáltunk átültetni saját dolgozatunkba. Így az ábrafeliratok fordítása, szerkesztése és elhelyezése így számos esetben különbözik.

A részletekre kitérve:

A disszertáció 29. ábrája és Dr. Kozma Mariann PhD értekezésének 13. ábrája ugyanazt az eredeti ábrát vette alapul (Bombicz et al.: Anti-Atherogenic Properties of Allium ursinum Liophylisate: Impact on Lipoprotein Homeostasis and Cardiac Biomarkers in Hypercholesterolemic Rabbits, Fig. 2.), de a magyar fordítás egymástól függetlenül történt. A disszertációban a 29. ábra A, B és E részén a mértékegység ml/min, szemben a PhD értekezésben írt ml/perccel. Hasonlóképpen a szívfrekvencia (29. ábra D) mértékegysége bpm az ütés/perc-cel szemben, a verőtérfogat ml a ml/ütés helyett. A jelmagyarázatban 60 perc reperfúzió szerepel a reperfúzió 60. perce helyett. További különbségek még az értéktengelyek feliratain a különböző paraméterek elnevezései: aorta átáramlás/aorta kiáramlás (A), perctérfogat/keringési perctérfogat (E), lökettérfogat/verőtérfogat (F), illetve maga az ábraaláírás is.

A disszertáció 30. ábrája és Dr. Kozma Mariann PhD értekezésének 15. ábrája ugyanazt az eredeti ábrát vette alapul (Bombicz et al.: Anti-Atherogenic Properties of Allium ursinum Liophylisate: Impact on Lipoprotein Homeostasis and Cardiac Biomarkers in Hypercholesterolemic Rabbits, Fig. 3.). Hasonlóan az előzőhöz, a tengelyfeliratok fordítása függetlenül történt. Ugyanakkor a disszertáció esetében a függőleges tengelyre mindenhol fölkerült a „(relatív intenzitás)”, mely az eredeti angol ábrán is szerepel, de a PhD értekezéshez készített fordításban nem. Az ábraaláírások itt is jelentősen eltérnek a disszertáció és a PhD értekezés között.

A disszertáció 31. és a PhD értekezés 17. ábrája az előzőekben említett cikk 4. ábrájának fordítása, viszont csak az ábra D betűvel jelölt részén lehetett érdemben fordítást végezni. Különbség van az ábrafeliratban és a tengelyfelirat fordításában (Plakk terület (Tunica adventitia %-ában)/Plakk kiterjedése (%)).

A disszertáció 32. és a PhD értekezés 14. ábrája az eredeti cikk (Bombicz et al.: A Novel Therapeutic Approach in the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: Allium ursinum Liophylisate Alleviates Symptoms Comparably to Sildenafil, Fig. 1.) ábrájának egymástól független fordítása volt. A különbségek a két verzió között teljesen megegyeznek azzal, amit a 29. és 13. ábra esetén bőven kifejtettem, kivéve a jelmagyarázatot (mértékegységek, tengelyfeliratok, ábrafelirat, szövegszerkesztés).

A disszertáció 33. és a PhD értekezés 18. ábrája az eredeti cikk 2. ábrája alapján készült. Különbségek vannak az ábrafeliratok között, a szövegszerkesztésben, valamint az ábra jobb oldalán a szövettani festések elnevezésében (a disszertáció teljesen kiírja a festési módszer nevét, a PhD értekezés rövidítést használ).

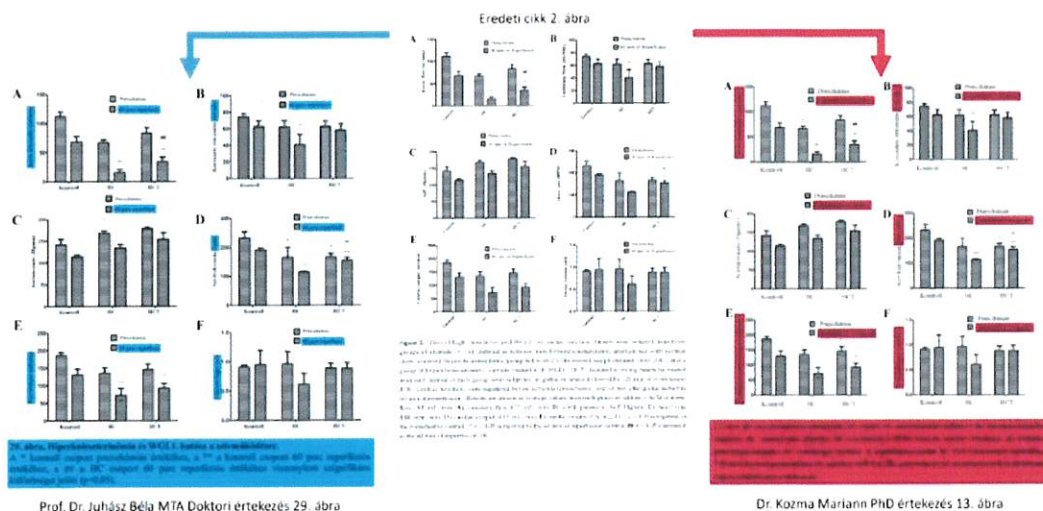
A disszertáció 34. és a PhD értekezés 16. ábrája esetében az eredeti angol cikk 3. ábrájának fordításáról van szó, az egymástól függetlenül végzett munkát a szövegszerkesztés különbségei (betűméret, betűk forgatásának iránya) jelzi. Az ábra A részén a tengelyfelirat disszertációm esetében relatív intenzitás, ami az angol eredeti pontos fordítása, míg a PhD értekezés PDE5A/GAPDH megjelölést használt.

A disszertáció 3. és a PhD értekezés 6. táblázata szintén az eredeti angol cikk (Bombicz et al.: Anti-Atherogenic Properties of Allium ursinum Liophylisate: Impact on Lipoprotein Homeostasis and Cardiac Biomarkers in Hypercholesterolemic Rabbits, Table 2.) alapján

készült. A két változat között alapvető különbségek láthatóak szövegszerkesztés szempontjából, Dr. Kozma Mariann PhD értekezésében az egyes paraméterek mértékegységei is föl vannak tüntetve és a táblázat alatti feliratok is különbözőek.

A disszertáció 4. és a PhD értekezés 5. táblázata az eredeti cikkben (Bombicz et al.: A Novel Therapeutic Approach in the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: Allium ursinum Liophyllisate Alleviates Symptoms Comparably to Sildenafil, Table 2.) közölt táblázat alapján készült. Hasonlóan az előző táblázathoz, a szövegszerkesztésben alapvető különbségek láthatóak. A táblázat alatti feliratok jelentősen eltérnek egymástól. A táblázat első oszlopában számos paraméter elnevezése (már maga a paraméter szó is) eltér disszertációm és a PhD értekezés között: Paraméter/Parameter, LV Ejekciós Frakció/BK EF, LV Frakcionális rövidülés/BK FS, LV tömeg/BK tömeg, Lökettérfogat/Verőtérfogat, Szívfrekvencia/HR.

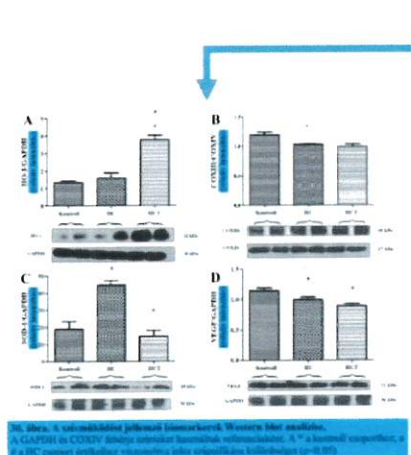
Az alábbiakban bemutatom az eredi forrásokból származó ábrákat és táblázatokat (középen), disszertációm ábráit és táblázatait (balra, a különbségek kékkel jelezve), valamint Dr. Kozma Mariann PhD értekezésének ábráit és táblázatait (jobbra, a különbségek pirossal jelezve).



Mértékegységek
ml/min, bpm, ml
Jelmagyarázat
60 perc reperfúzió
Tengelyfeliratok
Aorta átváramlás, perctérfogat, lökettérfogat
Szövegszerkesztés
Ábraaláírás

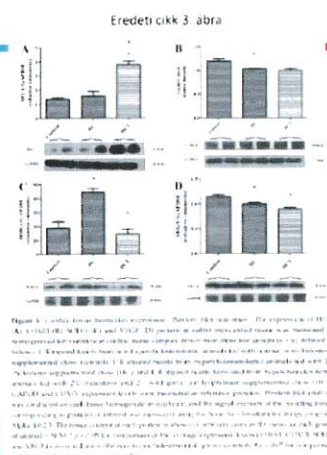


Mértékegységek
ml/perc, ütés/perc, ml/ütés
Jelmagyarázat
Reperfúzió 60. perce
Tengelyfeliratok
Aorta kiáramlás, keringési perctérfogat, verőtérfogat
Szövegszerkesztés
Ábraaláírás

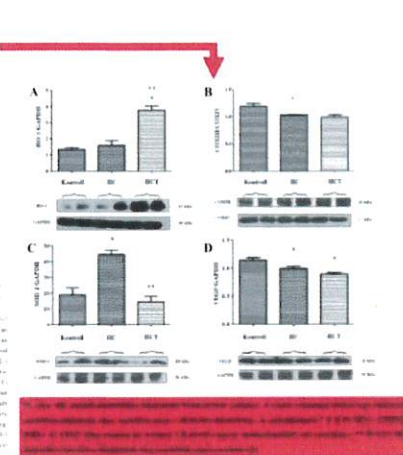


Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 30. ábra

Prof. Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 30. ábra



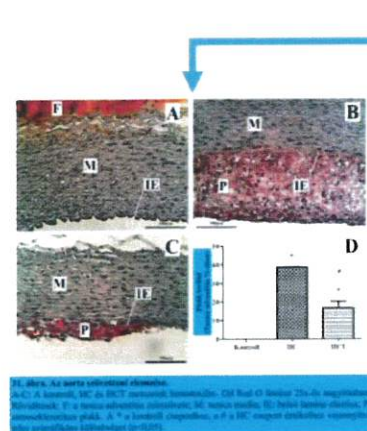
Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 15. ábra



Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 15. ábra

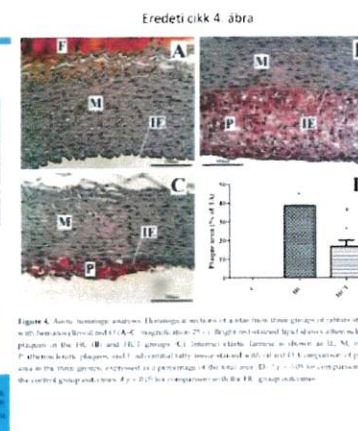
Tengelyfeliratok
(relatív intenzitás)
Szövegszerkesztés
Ábraalírás

Tengelyfeliratok
Szövegszerkesztés
Ábraalírás

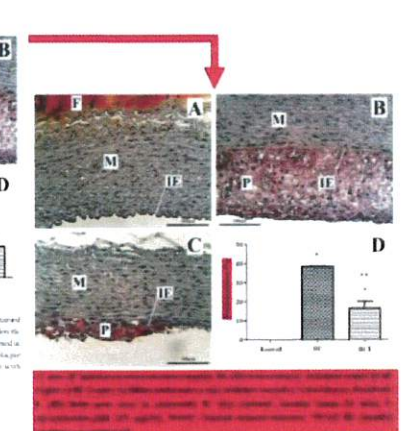


Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 31. ábra

Prof. Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 31. ábra



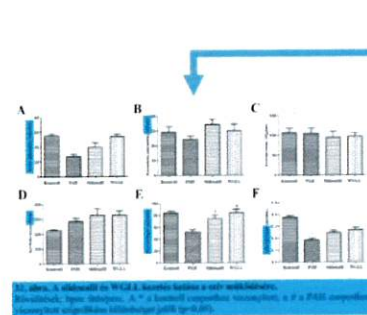
Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 17. ábra



Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 17. ábra

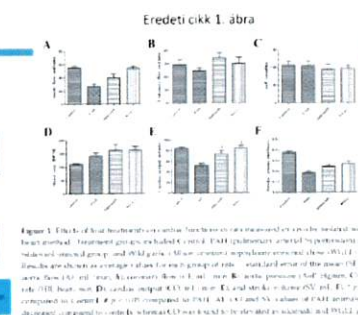
Tengelyfelirat
Plakk terület (Tunica adventitia %-ában)
Szövegszerkesztés
Ábraalírás

Tengelyfelirat
Plakk kiterjedése (%)
Szövegszerkesztés
Ábraalírás

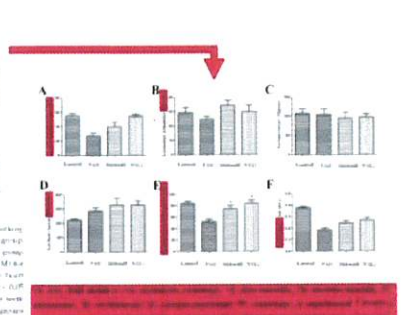


Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 32. ábra

Prof. Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 32. ábra



Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 14. ábra

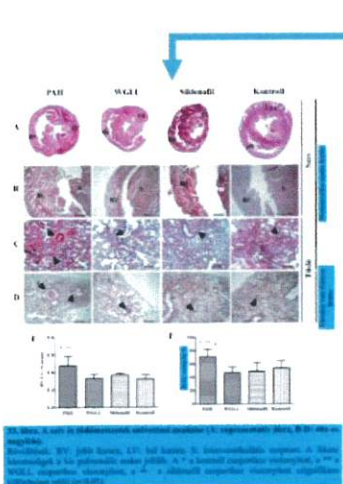


Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 14. ábra

Mértékegységek
ml/min, bpm
Tengelyfeliratok
Aorta átáramlás, perctérfogat, lökettérfogat
Szövegszerkesztés
Ábraaláírás



Mértékegységek
ml/perc, ütés/perc
Tengelyfeliratok
Aorta kiáramlás, keringési perctérfogat, verőtérfogat
Szövegszerkesztés
Ábraaláírás



Prof. Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 33. ábra

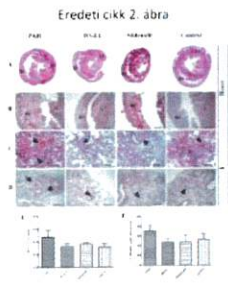
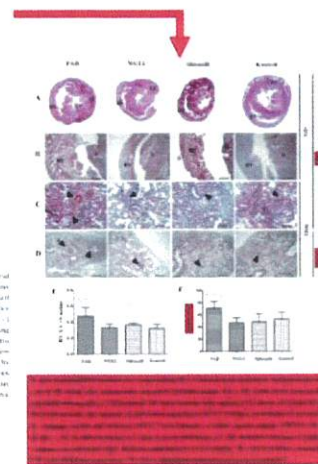


Figure 2. Histological analysis of left ventricular free wall. PAF (percutaneous aortic aneurysm repair) was performed in the left ventricle. (A) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (B) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (C) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (D) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (E) Quantitative analysis of infarct size (area) and (F) quantitative analysis of infarct volume (volume) in the left ventricle. Data are expressed as mean $\pm$ standard error of mean (SEM). * $p < 0.05$ compared to PAF, ** $p < 0.01$ compared to PAF, *** $p < 0.001$ compared to PAF.

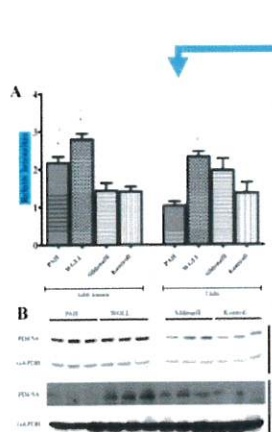


Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 18. ábra

Szöveti festések elnevezései
Elastica van Gieson festés, hematoxilin-eozin festés
Tengelyfelirat
Érfal vastagság %
Szövegszerkesztés
Ábraaláírás



Szöveti festések elnevezései
EVG, HE
Tengelyfeliratok
MWT (%)
Szövegszerkesztés
Ábraaláírás



Prof. Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 34. ábra

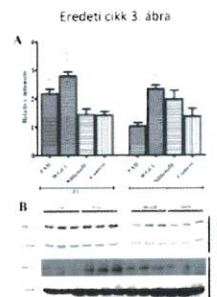
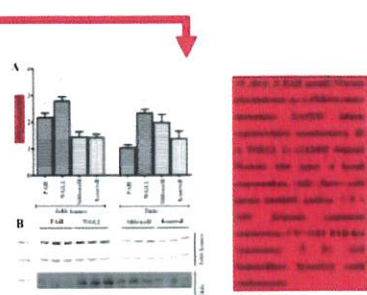
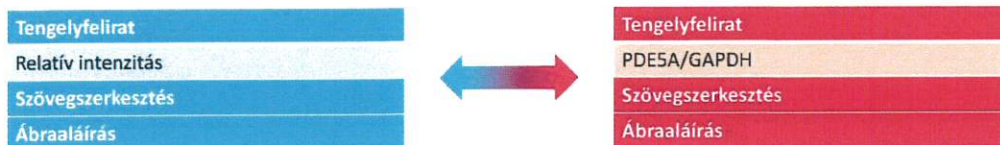


Figure 3. Western blot analysis of left ventricular free wall. PAF (percutaneous aortic aneurysm repair) was performed in the left ventricle. (A) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (B) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (C) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (D) Representative images of infarcted myocardial wall from PAF, WGL, Nidradil, and Control groups. (E) Quantitative analysis of infarct size (area) and (F) quantitative analysis of infarct volume (volume) in the left ventricle. Data are expressed as mean $\pm$ standard error of mean (SEM). * $p < 0.05$ compared to PAF, ** $p < 0.01$ compared to PAF, *** $p < 0.001$ compared to PAF.



Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 16. ábra



Eredeti cikk 2. táblázat

Fig. 2. A szívizom vérellátásának és a szívizom vérellátásának vizsgálata.

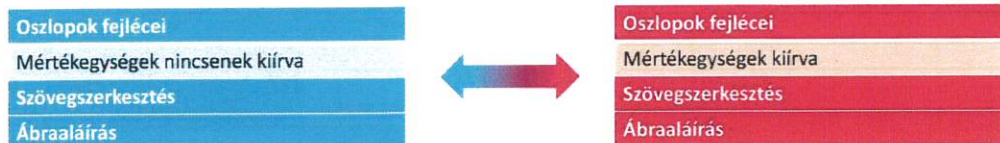
Paraméter	TE	TE + L-NAME	TE + L-NAME + Res	TE + L-NAME + Res + GAPDH	TE + L-NAME + Res + GAPDH + L-NAME
Control	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH + L-NAME	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02

Prof. Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 3. táblázat

Fig. 2. A szívizom vérellátásának és a szívizom vérellátásának vizsgálata.

Paraméter	TE	TE + L-NAME	TE + L-NAME + Res	TE + L-NAME + Res + GAPDH	TE + L-NAME + Res + GAPDH + L-NAME
Control	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH + L-NAME	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02

Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 6. táblázat



Eredeti cikk 2. táblázat

Fig. 2. A szívizom vérellátásának és a szívizom vérellátásának vizsgálata.

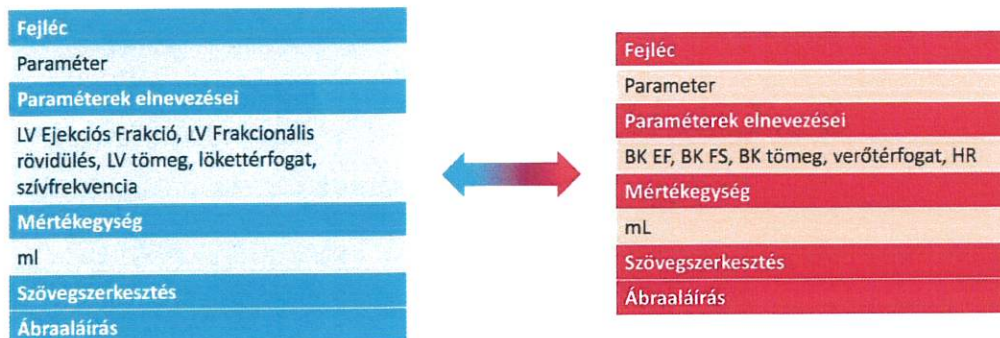
Paraméter	Control	Res	Res + GAPDH	Res + GAPDH + L-NAME
Control	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH + L-NAME	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02

Prof. Dr. Juhász Béla MTA Doktori értekezés 4. táblázat

Fig. 2. A szívizom vérellátásának és a szívizom vérellátásának vizsgálata.

Paraméter	Control	Res	Res + GAPDH	Res + GAPDH + L-NAME
Control	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02
Res + GAPDH + L-NAME	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.02

Dr. Kozma Mariann PhD értekezés 5. táblázat



1. „A resveratrol antidiabetikus és kardioprotektív hatásának vizsgálata:

A 33. oldalon, a resveratrol és statinok hatásai hiperkoleszterinémás patkány modellen paragrafus nehezen érthető, összekeveredett két metódus leírása. A 6. ábra esetében az L-NAME kezelés nem mérsékelte, hanem teljesen kivédte a rezveratrol-mediált vércukor csökkenést az ábra szerint. A 8. ábrán átcuszoszt az ábramagyarázat, ráadásul az oszlopok

jelölése 1, 2, 3..., így nehezen követhető, jobb lett volna, ha legalább rövidítésekkel jelöli az egyes oszlopokat. Ugyanez a probléma a 9. 10. ábra esetében.”

Válasz:

A 33. oldalon ismertetett módszerek leírásai az eredeti közleményeken alapultak, azaz igyekeztem a metodikai részt úgy tárgyalni, hogy a metodikákat egyenként tárgyalom a felhasznált cikkek alapján. Bevallom, nagyon sokat gondolkodtam azon, hogy milyen algoritmus szerint mutassam be a módszertani részt. Lehet, szemléletesebb és érthetőbb lett volna, hogyha nem ezt a logikát követem. A 6. ábra alapján valóban ez nem csak mérséklés, hanem a kezelés kivédte a rezveratrol-mediált vércukor csökkenést. A 8. ábra felirat átugrását kétféleképpen tudtam volna orvosolni: (i) ha a képet kisebb méretűre szerkesztem, ebben az esetben olvashatatlan lett volna; (ii) a 6. ábrát oldaltöréssel átvinni a következő oldalra, mely esetben túl nagy rész maradt volna üresen az előző oldalon. Talán ez utóbbival lehetett volna a legjobban megoldani. A csoportok feliratainak értelmezése a jelen formában tényleg nehézkes. A fogalmazási és szerkesztési hibákat sajnálom.

2. „A meggy mag kivonat hatása koleszterindús diétával kiváltott szívbetegség modellben, illetve iszkémia/reperfúziós folyamat során.”

A dolgozatban szerepel a meggy mag kivonat jótékony hatása koleszterinnel dúsított táppal etetett nyulakban. Szignifikáns javulást tudtak kimutatni a szív funkcionális paramétereiben, a koleszterin szintben, és az infarktusos terület csökkenésében a meggy magkivonat hatására.

Arra nem kapunk választ, hogy mit tartalmaz a meggy mag kivonat, mik az aktív hatóanyagai, mi ezeknek a vegyületeknek a molekuláris mechanizmusa. Miért éppen a meggy magkivonatot választották? Különbözik ez az egyéb csonthéjas gyümölcsök magjától összetételében, vagy esetleg más gyümölcsök (cseresznye, barack) magkivonatának is vannak ilyen jótékony hatásai? Elemezték-e a meggy magkivonat összetételét? Lett-e ezeknek a kísérleteknek folytatása, meddig jutott a kutatás? Milyen gyakorlati haszna lehet a kísérleteknek?”

Válasz:

Számos gyümölcs, zöldség, sőt gabonafélék is tartalmaznak biológiailag aktív összetevőket, ugyanakkor a meggy magkivonattal folytatott kísérletemet megelőzően Bak István Tanár úr vezetésével⁴ izoláltuk a meggy mag összetevőit és megállapítottuk, hogy sok biológiailag aktív molekula azonosítható, melyek antioxidáns tulajdonságokkal rendelkeznek. Kutatásainkban bizonyítottuk is, hogy a meggy magban található flavonoidok hozzájárulhatnak a szív iszkémia-reperfúziós károsodás utáni regenerációjához⁵. Ezen a nyomvonalon elindulva kíváncsiak voltunk, hogy koleszterinnel dúsított táppal etetett nyulakban is képes-e a meggy mag kivonata jótékony hatásainak kifejtésére.

A meggy mag, mint élelmiszergyártás-technológiai melléktermék (hulladék) felhasználása is fűtötte a kutatást: az egyébként kidobásra ítélt mag hasznosítása tetszetős volt a kutatócsoport számára. Ez talán a gyümölcsökből feldolgozás után legnagyobb mennyiségben visszamaradó

hulladék, aminek magjában benne van a meggy esszenciája, ráadásul a barackmaggal ellentétben kevésbé káros és ezért volt számunkra vonzó kísérleti célpont.

Más csonthéjasok magjának összetételét, illetve lehetséges hatásait munkacsoportunk nem vizsgálta, de a szakirodalomban fellelhető ezekkel kapcsolatos információ:

A csonthéjas növények közé számos Magyarországon fellelhető növényi faj tartozik. A sárgabarack (*Prunus armeniaca*) gyümölcshúsa számos fenolos vegyületet tartalmaz⁶, míg magja értékes olajat. A barackmagolaj összetételét vizsgálva elmondható, hogy a vegyületek között azonosítottak mint pl. szterolokat, szkvalént, benzaldehidet, számos telítetlen zsírsavat⁷⁻⁹, de ezen kívül cianoglükozidokat is, melyek toxikusak a szervezetre¹⁰. A mag cianoglükozid tartalma miatt fogyasztása és felhasználása korlátozott. Kisebb mennyiségben más csonthéjas gyümölcsök magjában is megtalálható ez a vegyület, mint például a meggy vagy a mandula¹¹.

A meggyet (*Prunus cerasus*) évtizedek óta számos kutató vizsgálta, eredményeik alapján elmondható, hogy a gyümölcs húsa gazdag katechinben és C-vitaminban, valamint fenolos komponensekben (fő komponense a flaván-3-ol)^{12, 13}. Kutatócsoportunk a meggy feldolgozása során melléktermékként keletkező csonthéjas mag vizsgálatával foglalkozott; a hulladék esetleges későbbi hasznosítása céljából, melyben azonosítottunk több biológiailag aktív vegyületet⁴. A meggy mag vizsgálata során kutatócsoportunk egy hexános extrakciós mintaelőkészítési eljárást követően külön vizsgálta a meggy mag szilárd és olajos frakcióját is. A szilárd frakció nagy mennyiségben tartalmaz polifenolokat és flavonoidokat⁴. A meggy magból szilárd frakciójának azonosított komponensei az alábbiak: dihidro-p-kumarinsav, kávéssav, cianidin, peonidin, procianidin, pinocembrin, tangeretin, kvercetin-3-glükozid, klorogénsavval acetilezett kvercetin-3-glükozid, galluszsavval acetilezett procianidin trimer, epikatekin-3-gallát, dimer kumarinsavval acetilezett katekin-3-glükozid, kumarinsavval acetilezett galangin.. A meggy magból szilárd fázisa kis mennyiségű transz-resveratrolt is tartalmaz, melynek antioxidáns, antitrombotikus és gyulladásgátló hatással rendelkezik. A resveratrol citoprotektív hatásai jól ismertek, kutatócsoportunk resveratrolal végzett kezeléssel kapott eredményei alapján a cukorbeteg patkányok esetében csökkentette az állatok testsúlyát, vércukorszintjét, iszkémia/reperfúziót követően mérsékelte a szívek infarktusos területének méretét, csökkentette az endothelin-1 expresszióját és a szív sejteinek apoptózisát, valamint fokozta a GLUT-4 expresszióját¹⁷. Értekezésemben külön is foglalkoztam a resveratrol hatásaival.

A meggy magból olajos frakciójának azonosított komponensei az alábbiak: E-vitamin, 9,12-oktadekánsav-metilészter, oleamid, szkvalén, β -tokoferol, palmitinsav, 1-monoleát, γ -szitoszterol, linolsav, olajsav. A legnagyobb mennyiségben telítetlen zsírsavakat, olajsavat (50-53%) és linolsavat (35-38%) tartalmaz. Ismert, hogy a növényi olajok képesek csökkenteni a vérplazma koleszterin szintjét. Amerikai kutatók által végzett kísérletek során az olajsav és a linolsav hatását összehasonlítva, mindkét telítetlen zsírsav esetén megfigyelhető volt az összkoleszterin és az LDL-szint csökkenése, viszont a linolsav nagy mennyiségben adva csökkentette a HDL-szintjét is¹⁸. A linolsav az omega-6 zsírsavak közé tartozik. Fontos alkotója a növényi és állati sejtmembránoknak, és a megfelelően kialakított omega-3: omega-6 arány képes csökkenteni a koszorúér betegségek kialakulásának kockázatát¹⁹. Az olajos frakcióban 4-5 %-ban található szitoszterol a növényi szterolok közül, amelynek szintén leírták a lipid

státuszt kedvezően befolyásoló hatását. A tokoferol (E-vitamin) a meggy-mag olajos frakciójának egyik minor komponense. A meggy-magból általunk azonosított olajos frakciójának egyes komponensei számos más kutatócsoport témájául is szolgáltak, melynek során többféle jótékony hatást bizonyítottak élő vagy élőből származó kísérleti modelleken. Több tanulmány bizonyította a többszörösen telítetlen zsírsavak szív- és érrendszerre kifejtett védőhatását^{22, 23}. A csonthéjasokból származó olajok felhasználási lehetőségei között említhetjük, a szív- és érrendszert támogató²⁴, valamint fotoprotektív makrotápanyagokként történő alkalmazásukat²⁵. Szintén Bak István akkori kollégámmal együttesen a meggy-mag olajat UV-B besugárzás előtt tengeri malac bőrre vittük fel, majd értékeltük a fénykárosodás mértékét. A kezelés jelentősen csökkentette a lipidperoxidációt és egyéb oxidatív stressz markereket, valamint mérsékelte a hisztológiailag is kimutatható epidermális károsodást. Az eredmények szerint a meggy-mag olaj antioxidáns tulajdonságai révén hatékony fotoprotektív potenciállal bír, így alkalmas lehet bőrvédő készítmények hatóanyagaként¹.

Csiki és munkatársai humán pilot vizsgálatában 14 napos meggy-magkivonat (sour cherry seed extract, SCSE)-kezelt csoportban több paraméter szignifikáns változást mutatott a kiindulási értékhez – és a placebohoz – viszonyítva²⁶. Bár az eltérések mértéke kicsi volt, statisztikailag megbízható változás jelentkezett: (i) nőtt az MCV – az SCSE-csoportban; (ii) emelkedett a szérum transferrin szintje is, ami a vasanyagcsere egy mutatója; (iii) nőtt a neutrophil granulocyták átlagos peroxidáz indexe (MPXI), ami a fehérvérsejtek enzimaktivitásának változására utal; (iv) szintén növekedett a lymphocyták aránya a perifériás vérben (LYMPH%); (v) a neutrophil granulocyták százalékos aránya a fehérvérsejteken belül (NEUT%) ugyanakkor csökkent; (vi) csökkent a szérum ferritin (vasraktár fehérje) szintje is az aktív csoportban. A legtöbb egyéb mért változó – például a hemoglobin koncentráció, a vörösvérsejtek és fehérvérsejtek száma, a vérlemezkeszám, a vérsírszintek (koleszterin, triglicerid, LDL, HDL) vagy a CRP – nem mutatott lényeges változást, azaz nem volt szignifikáns különbség sem a kiindulási értékhez képest, sem a kontroll csoporttal összevetve. A transferrin és ferritin ellentétes irányú elmozdulása arra utalhat, hogy az SCSE hatása érintheti a vasanyagcserét. Megjegyzendő, hogy az alkalmazott dózis relatíve alacsony volt, így erőteljes kardiovaszkuláris hatás (vérnyomás, pulzus) vagy a lipidprofil jelentős változását nem tapasztalták az SCSE kezelés 2 hete alatt. A meggy-mag-kivonatot a vizsgálat résztvevői jól tolerálták. Mellékhatásról vagy rossz közérzetről nem számoltak be és a laboratóriumi biztonsági paraméterek sem jeleztek kedvezőtlen hatást. Külön figyelmet fordítottak a máj- és vesefunkciós tesztekre: az SCSE-kezelés nem emelte meg a májenzimek (GOT, GPT, LDH) aktivitását és nem okozott eltérést a veseműködésre utaló értékekben sem. A szerzők kiemelték, hogy semmilyen toxikus mellékhatást nem tapasztaltak.

Két másik humán tanulmányban Mahmoud és munkatársai két egymást kiegészítő tanulmányban vizsgálták az SCSE immunmoduláló és gyulladáscsökkentő hatásait krónikus gyulladásos állapotokban. A 2013-as vizsgálatban 2-es típusú cukorbetegségben szenvedő betegek perifériás vér leukocitáinak tenyésztésében az SCSE-kezelés fokozta a HO-1 enzim expresszióját, miközben szignifikánsan csökkentette a proinflammatorikus citokineket termelő T-sejt alcsoportok – különösen a CD3⁺TNF- α ⁺ és CD3⁺IL-8⁺ sejtek – arányát. A 2014-es tanulmányban, amely rheumatoid arthritisben szenvedő betegeken végzett hasonló in vitro kísérleteket írt le, az SCSE ugyancsak erőteljes HO-1 indukciót váltott ki, és mérsékelte a

proinflammatorikus jelátvitelt, többek között az NF- κ B útvonal gátlásával, valamint a TNF- α és IL-1 β termelés csökkentésével. A két munka egyaránt arra utal, hogy a meggymag-kivonat a HO-1 útvonal aktiválása révén antioxidáns és citoprotektív hatást fejt ki, miközben mérsékli a krónikus gyulladást fenntartó immunválaszokat, ami releváns lehet anyagcsere-eredetű és autoimmun betegségek kiegészítő kezelésében^{27, 28}.

A gyakorlati haszon tekintetében a meggymagolajból testápoló és arckrém Olabella® néven került kereskedelmi forgalomba, ami gyógyszerárban volt kapható. A humán vizsgálatok felvetik a lehetőséget a szilárd fázis kapszulázott formájának RA-ben illetve DM-ban kedvező immunbefolyásoló hatását, természetesen csak additív terápiaként. A meggymag feldolgozásával csökkenthető az élelmiszeripari hulladék, miközben értéknövelt termékek (olaj, kapszula) állíthatók elő. Egyetemünk, illetve kutatócsoportunk fókuszába később a meggymagot körülvevő meggyhúskivonat tanulmányozása, a proantocianidin gazdag extraktum került.

3. „A medvehagyma-kivonat kardioprotektív szerepének vizsgálata koleszterinnel kiváltott szívbeteg állatmodellben. A medvehagyma hatásának értékelése monokrotalinnal kiváltott pulmonális artériás hipertónia patkánymodellben.

A medvehagyma 0,26 % alliint tartalmaz az analitikai mérések szerint. Más aktív hatóanyagot nem említ a medvehagyma liofilizátumban. Azt gondolja, ez a fő hatóanyag? Milyen specifikus célmolekulákat feltételez, ahol az alliin kifejti hatását? Mi lesz az alliinból az alliináz enzim hatására? Mi a molekuláris mechanizmusa a képződő vegyületeknek, hogyan fejtik ki kardioprotektív hatásukat?”

Válasz:

A medvehagyma (*Allium ursinum* L.) az amarilliszfélék családjába tartozó, vadon termő, évelő növény, mely Ázsia és Európa területén széles körben előfordul. Számos néven ismeretes a népnyelvben (például jurda, poroshagyma, sarima), és az intenzív, fokhagymára emlékeztető íze miatt kedvelt gasztronómiai alapanyag: frissen vagy fűszernövényként is szívesen fogyasztják azokon a vidékeken, ahol megterem²⁹. Karakteres illatát a benne található kéntartalmú vegyületek adják. Ezek közé tartoznak a S-alk(en)il-L-cisztein-szulfoxidok (ilyen prekursor például az alliin) és a γ -glutamil-peptidek, amelyek önmagukban szagtalan, nem illékony anyagok, de a növényi szövet roncsolódásakor enzimatisz uton gyorsan illékony tioszulfínatokká és (poli)szulfidokká bomlanak – ez a folyamat felelős a medvehagyma jellegzetes aromájáért és ízéért³⁰. A medvehagyma emellett nagy koncentrációban tartalmaz polifenolos vegyületeket is, különösképpen flavonoid glikozidokat³¹. E gazdag fitokémiai összetételnek köszönhetően a medvehagyma kivonatának (vagy liofilizált porának) gyógyhatásai több vonásban hasonlítanak a közeli rokon fokhagyma (*Allium sativum*) ismert hatásaira. Néhány tekintetben azonban a medvehagyma még hatékonyabb vagy egyedi hatásokkal is bírhat a fokhagymához képest, ami részben olyan speciális összetevőinek tulajdonítható, mint a fitoszterolok és az egyéb *Allium* fajokban nem fellelhető galaktolipid származékok (pl. a 1,2-di-O- α -linolenoil-3-O- β -D-galaktopiranozil-sn-glicerol, rövidítve DLGG)^{32, 33}.

Mindemellett a medvehagyma gazdag adenozin-forrás is: hozzávetőleg hússzor annyi adenozint, valamint jóval több ajoént tartalmaz, mint a fokhagyma³³. Ezek a vegyületek hozzájárulhatnak a vérnyomás stabilizálásához és a koleszterinszint csökkentéséhez, gátolják a trombocita aggregációt, és javítják a koleszterin-anyagsere élettani szabályozó folyamatait³³. Kémiai összetevői alapján tehát feltételezhető a medvehagyma kedvező kardiovaszkuláris hatása, azonban a vele kapcsolatos preklinikai és klinikai kutatások mindezidáig meglehetősen hiányosak. Munkacsoportunk a közelmúltban egyéb növényi hatóanyagok kardioprotektív hatásait is vizsgálta¹⁷, és jelenleg a medvehagyma ilyen irányú tulajdonságainak feltárását tűzte ki célul. Más kutatócsoportok in vitro kísérletekben kimutatták, hogy a friss medvehagyma leveleiből készített kivonatok jelentősen csökkentették az ADP-indukálta vérlemezke-aggregációt, ami arra utal, hogy a medvehagyma hasonló módon gátolja a trombociták összezsapzódását, mint a klopidoegrél³⁴. E hatás lehetséges magyarázata a medvehagymában is előforduló β -szitoszterol-3-O- β -D-glükozid és a már említett DLGG galaktolipid jelenléte – mindkét vegyület ismert antiaggregációs hatással rendelkezik³². Továbbá korábbi kísérletekben spontán hipertóniás patkányok takarmányát 1% fokhagymával vagy 1% medvehagymával kiegészítve 45 nap elteltével a medvehagymát fogyasztó állatok vérnyomása szignifikánsan csökkent³⁵. A medvehagyma bioaktív komponensei jelentős antioxidáns és szabadgyök-fogó kapacitással is bírnak: kimutatták, hogy a növény levelében és gumójában található anyagok szuperoxid-dizmutáz, kataláz és peroxidáz aktivitást mutatnak, ami nagymértékben hozzájárul az összes antioxidáns hatáshoz³⁶. Emellett a medvehagymából előállított, ajoént, metil-ajoént, allicint és diallil-diszulfidot tartalmazó kivonat a fokhagymáéhoz hasonló mértékben gátolja a koleszterin bioszintézisét is³⁷. Spontán hipertóniás patkányokon a medvehagyma-készítmények a angiotenzin-konvertáló enzimet (ACE) gátolva fejtették ki vérnyomáscsökkentő hatásukat³⁵,³⁸, és bizonyos vizsgálatok szerint ezen ACE-gátló hatás tekintetében a medvehagyma még a fokhagymánál is hatékonyabbnak bizonyult³⁷. Az antihipertenzív, koleszterinszint-csökkentő és ACE-gátló hatások együttesen jótékonyak a szív-érrendszer egészsége szempontjából. Ezt támasztja alá az a kísérletes eredmény is, mely szerint iszkémiával majd reperfüzióval terhelt patkányszívűekben a medvehagymával előkezelt állatoknál sokkal kisebb arányban fordult elő kamrafibrilláció és tachycardia, továbbá jelentősen kisebb infarktusos károsodás alakult ki a szívizomban a kezeletlen kontrollhoz viszonyítva³⁹.

A medvehagyma fő hatóanyagai az alábbi főbb csoportokba sorolhatók, melyeket részletesebben is áttekintünk.

Kéntartalmú vegyületek (szerves kén komponensek)

A medvehagyma jellegzetes illatáért felelős kénes vegyületek közé tartoznak a fent említett S-alk(en)il-L-cisztein-szulfoxidok, mint például az alliin, valamint a γ -glutamil-peptidek. Ezek a vegyületek előanyagai az olyan illó kénvegyületeknek, mint az allicin (diallil-tioszulfínát) és különféle poliszulfidok – utóbbiak közé sorolhatók a diallil-szulfid, -diszulfid és -trisulfid, illetve a medvehagymában nagyobb mennyiségben megtalálható ajoén is. A friss medvehagyma önmagában szagtalan prekursorai (alliin és társai) a növény roncsolásakor az alliináz enzim hatására alakulnak át allicinné, az allicin pedig instabilitása folytán gyorsan további reakcióba lép, többek között ajoénná és diallil-diszulfiddá bomlik³⁰. Ezek a szerves kén vegyületek adják a növény jellegzetes illatát és aromáját, ugyanakkor farmakológiai szempontból is fontosak.

Szerepet játszanak a medvehagyma vérnyomáscsökkentő és koleszterinszint-csökkentő hatásaiban. Az ajoén – melyből a medvehagyma a fokhagymánál jóval többet tartalmaz – erőteljes vérlemezke-aggregáció gátló hatású, hozzájárulva a trombózis megelőzéséhez³³. A kéntartalmú vegyületek komplex módon befolyásolhatják a kardiovaszkuláris rendszert: kimutatták, hogy a medvehagyma-kivonatok gátolják az ACE enzimet, ezáltal tágítják az ereket és csökkentik a vérnyomást^{35, 37}. Állatkísérletekben a medvehagyma a fokhagymához képest nagyobb mértékben mérsékelte a vérnyomást és javította a szérumban a koleszterinprofilját hosszú távú adagolás mellett³⁵. Emellett a medvehagyma kénes vegyületei - a fokhagymához hasonlóan - gátolják a koleszterin szintézisét a májban³⁷, ami hozzájárulhat a vérzsírszint csökkentéséhez és az érlemezsedés megelőzéséhez. Összességében a szerves kén vegyületek jelentős szerepet töltenek be a medvehagyma hatásaiban, beleértve az antimikrobiális, keringésjavító és szívvédő potenciált is (ez utóbbiakat részben az érfalakra, vérlemezkékre és koleszterin-anyagcserére gyakorolt hatásaik révén fejtik ki).

Polifenolos vegyületek (flavonoidok)

A medvehagyma polifenol-tartalma kiemelkedő, különösen a flavonoid típusú vegyületek mennyisége jelentős. A növény leveleiben és hagymájában több vizsgálat is kimutatta a polifenolos komponensek magas szintjét⁴⁰⁻⁴². Oszmiański és munkatársai részletes fitokémiai analízissel igazolták, hogy a medvehagyma leveleiben főként flavonol-glikozidok találhatók nagy mennyiségben³¹. Ezek túlnyomórészt kaempferol-származékok, de más flavonoidokat (például kvercetin különböző glikozidjait) is azonosították a növényben. A polifenolos vegyületek jelentős antioxidáns hatással bírnak, aminek köszönhetően a medvehagyma kivonatai erőteljes szabadgyök-semlegesítő képességet mutatnak. Kísérletes modellekben a medvehagyma antioxidáns aktivitása hozzájárult a sejtek oxidatív stresszel szembeni védelméhez^{40, 42}. Ezen felül a flavonoidoknak számos jótékony élettani hatása lehet: gyulladáscsökkentők, érvédők, és egyes flavonoidok szintén a vérlemezkéké működését is kedvezően befolyásolhatják. A medvehagyma polifenoljai így a kénes vegyületekkel együtt fontos szerepet játszanak abban, hogy a növény fogyasztása támogatja a szív- és érrendszer egészségét, továbbá általános antioxidáns-védelmet nyújt a szervezetben.

Fitoszterolok és szteroid származékok

A medvehagyma különleges összetevői közé tartoznak a fitoszterolok, amelyek a növényben kisebb mennyiségben vannak jelen, de jelentőségük számottevő. A medvehagyma friss leveleiből készült etanolos kivonatban azonosítottak egy specifikus fitoszterol-származékot, a β -szitoszterol-3-O- β -D-glükózid vegyületet³². Ez a szterol-glikozid korábban ismert volt arról, hogy gátolja a vérlemezkéké aggregációját, így antitrombotikus hatású. Jelenléte a medvehagymában hozzájárulhat ahhoz, hogy a növény fogyasztása csökkenti a trombociták túlzott összecsapzódását és így mérsékli a vérrögképződés kockázatát³². A β -szitoszterol és egyéb rokon fitoszterolok emellett közismerten csökkentik a koleszterin felszívódását a bélrendszerben (kompetitíven gátolva a koleszterin bélből való felvételét), ami a szérumban LDL-koleszterinszint mérsékléséhez vezethet. Bár a medvehagymában található fitoszterolok mennyisége nem éri el a dietetikailag hipolipidémiás hatáshoz szükséges dózist, jelenlétük kiegészítheti a többi komponens (pl. adenozin, ajoén) koleszterinszint-csökkentő hatásait. Fontos megjegyezni továbbá, hogy a medvehagyma más szteránvázas vegyületeket is

tartalmaz: korábbi fitokémiai kutatások kimutattak benne szteroid szaponinokat (pl. dioszgenin-származékokat a hagymában), bár ezek mennyisége viszonylag alacsony és a gyógyhatásokhoz való hozzájárulásuk kevésbé ismert.

Galaktolipidek és egyéb különleges vegyületek

A medvehagyma egyik kuriózumnak számító hatóanyaga egy galaktolipid típusú molekula, a korábban említett DLGG. A DLGG (teljes nevén 1,2-di-O- α -linolenoil-3-O- β -D-galaktopiranozil-sn-glicerol) egy glicerín-vázú digalaktóz-diacil-lipid, amelyet eddig nem mutattak ki a termesztett fokhagymában vagy más *Allium* fajokban³². Ezt a vegyületet biológiai tesztek segítségével izolálták medvehagymából, mivel kiderült róla, hogy erőteljes vérlemezke-összecsapódást gátló hatást fejt ki³². A DLGG jelenléte a medvehagymában egyike azoknak a tényezőknek, amelyek a növény egyedi farmakológiai profilját adják, és magyarázatot szolgáltathatnak arra, miért találták bizonyos vizsgálatokban a medvehagymát hatékonyabbnak bizonyos keringési hatások terén, mint a fokhagymát.

A galaktolipideken kívül érdemes megemlíteni, hogy a medvehagymában egyéb bioaktív vegyületek is jelen vannak. Ilyenek például a nukleozidok, elsősorban az adenzin, melynek kiemelkedően magas koncentrációját mérték a növényben³³. Az adenzin egy jól ismert élettani szabályozó molekula, amely a szervezetben értágító és vérnyomáscsökkentő hatású, továbbá gátolja a vérlemezkek aktivitását és javítja a szívizom vérrellátását. A medvehagymában található nagy adenzintartalom hozzájárulhat a növény antihipertenzív és kardioprotektív hatásaihoz, kiegészítve a kénes vegyületek és egyéb komponensek aktivitását³³. Emellett a medvehagyma tartalmaz többféle aminosavat és peptideket, melyek között ritka γ -glutamil-peptideket azonosítottak – ezek hozzájárulhatnak a növény jellegzetes ízéhez, és potenciálisan farmakológiai jelentőségűek lehetnek (például antimikrobiális vagy immunmoduláns hatású is leírtak más *Allium* fajoknál). Végezetül megemlítendő, hogy a medvehagyma friss növényi részeiben kimutathatók bizonyos antioxidáns enzimek (így az említett SOD, kataláz, peroxidáz) aktivitásai is³⁶, ami tovább erősíti a növény antioxidáns hatásprofilját.

Kutatócsoportunk tömegspektrometriai mérések eredményei során a WGLL-ből készített extraktumra vonatkoztatva az alábbi főbb komponenseket azonosította: kaempferol-3-O-rutinozid, quercitrin, juglanin, drakorubin, blumeatin.

Összefoglalva, a medvehagyma számos értékes fitokémiai hatóanyagot tartalmaz, többek között kén-tartalmú vegyületeket (alliin, allicin, ajoén stb.), flavonoid és egyéb polifenolos komponenseket, fitoszterolokat (például β -szitoszterol-glikozid formában), egyedi galaktolipideket (DLGG), valamint adenzint. Komplex összetételének köszönhetően a növény több támadásponton fejthet ki jótékony hatást az emberi szervezetben. Főbb élettani hatásai közé tartozik a vérnyomás csökkentése, a vérlemezkek aggregációjának, a koleszterinszint mérséklése, továbbá erőteljes antioxidáns és gyulladáscsökkentő védelem. Ezek a hatások egyaránt hozzájárulnak a szív- és érrendszeri betegségek kockázatának csökkentéséhez, ami miatt a medvehagyma ígéretes természetes kardioprotektív szernek tekinthető. Ugyanakkor hangsúlyozni kell, hogy a medvehagyma gyógyhatásait modern tudományos módszerekkel eddig viszonylag kevésbé vizsgálták, így további preklinikai és klinikai kutatások szükségesek a benne rejlő terápiás lehetőségek pontos megismeréséhez. Vizsgálatunkban ezért

lioofilizációval előállított medvehagyma-kivonatot alkalmazunk – ez a módszer egyszerű kivitelezhetősége mellett biztosítja a biológiailag aktív molekulák optimális megőrzését a mintában⁴³.

4. „A diosgenin és a görögszéna hatásának vizsgálata az endotél funkcióra magas zsír- és cukortartalmú diéta mellett:

Érdekeselek a görögszénával, illetve diosgeninnel foglalkozó fejezetek. A szerző igyekszik bemutatni a növény fő hatóanyagait, a trigonellint, 4-hidroxi izoleucint, galaktomannánt, kumarinokat, flavonoidokat, polifenolokat, illetve a szaponinok közül a diosgenint. Talán ez a sok aktív anyag az oka, hogy a görögszéna a bevezetőben idézett adatok szerint szinte minden betegségre (diabétesz, elhízás, hiperkoleszterinémia, krónikus gyulladás, daganatos betegségek stb.) jótékony hatással van. Ismer-e a pályázó olyan kontrollált humán vizsgálatokat, melyben kimutatták a növény vagy valamelyik alkotórésze szignifikáns terápiás hatását valamilyen indikációban?”

Válasz:

Köszönöm a bíráló értékes megjegyzését. Valóban érthető, hogy a görögszéna széles körű alkalmazási lehetőségeinek ismertetése első pillantásra túlzónak tűnhet.

Az értekezésben bemutatott kedvező hatásokat jelentős számú preklinikai vizsgálat is alátámasztja, amelyek jól jellemzett állatmodellek alkalmazásával igazolták a görögszéna különböző komponenseinek biológiai aktivitását. Ilyen modellekben dokumentálták például a görögszénamag vizes kivonatának hipoglikémiás hatását alloxan- és STZ-indukált diabéteszben, a lipidprofilra gyakorolt kedvező hatásokat metabolikus szindrómás patkányokban, illetve a diosgenin ateroszklerózist és érfali gyulladást mérséklő aktivitását. Emellett számos vizsgálat rámutatott a 4-hidroxi-izoleucin és a flavonoidok szerepére az inzulinrezisztencia csökkentésében, valamint az oxidatív stressz és gyulladásos mediátorok szabályozásában. Az in vivo tumoros modellkísérletekben mind a teljes mag, mind annak izolált komponensei (pl. diosgenin) csökkentették a daganatok proliferációját, valamint elősegítették az apoptózist, amelyet többek között a p53 és NF- κ B útvonalak szabályozásán keresztül fejtettek ki. Ezek a preklinikai eredmények tehát nemcsak megalapozzák, hanem részben mechanisztikusan is alátámasztják a tárgyalt terápiás lehetőségeket. A történeti háttér bemutatásával, valamint a hagyományos gyógyászatban való alkalmazás ismertetésével nem célokom túlértékelni a növény szerepét, sokkal inkább annak komplex hatóanyagprofilját és ebből fakadó terápiás potenciálját kívánom kontextusba helyezni. Ezen túlmenően, azt is szeretném hangsúlyozni, hogy a görögszéna sokirányú biológiai aktivitása további célzott, farmakodinámiás kutatásokat igényel, amelyek a jövőben megalapozhatják új fitoterápiás vagy gyógyszerfejlesztési stratégiák kialakítását.

A görögszéna (*Trigonella foenum-graecum*) humán klinikai vizsgálatokban bizonyítottan kedvező élettani hatásokat mutatott számos különböző indikációban, amelyek a hormonális szabályozástól kezdve a glükóz-anyagcsere és lipidprofil javításán át egészen a kognitív funkciókig terjednek. A növény hatékonyságát jól megtervezett, randomizált, kontrollált humán vizsgálatok igazolták, amelyek során standardizált kivonatokat vagy teljes drogformákat alkalmaztak, jellemzően kettős vak módszertannal. A klinikai alkalmazhatóságát az elmúlt

évtizedekben több tanulmány is részletesen vizsgálta, különös tekintettel a metabolikus, hormonális és gyulladásos folyamatokra gyakorolt hatásaira. E vizsgálatok középpontjában olyan indikációk álltak, mint a 2-es típusú diabetes mellitus, inzulinrezisztencia, hipogonadizmus, nem alkoholos zsírmájbetegség (NAFLD), illetve az életkorral összefüggő kognitív hanyatlás. Az eredmények azt mutatják, hogy a görögszéna több célrendszeren keresztül képes kedvező adaptációt kiváltani a szervezetben, mellékhatások nélkül vagy minimális mellékhatás-profillal, így alkalmazása bizonyos kardiometabolikus és hormonális indikációkban tudományosan megalapozott lehetőséget kínál. Számos tanulmány dokumentálta a görögszéna szignifikáns vércukorcsökkentő hatását. Prediabéteszes és T2DM-es alanyokon végzett vizsgálatok során a kivonat hatására csökkent az éhomi vércukorszint és a HbA1c, valamint javult az orális glükóztolerancia⁴⁴⁻⁴⁶. Ezekben a vizsgálatokban a görögszéna javította az inzulinérzékenységet és a glükóz-homeosztázist, anélkül, hogy súlyos mellékhatást idézett volna elő.

Hasonlóképpen kedvező eredményeket közöltek a lipidanyagcsere vonatkozásában is. A triglicerid- és LDL-koleszterinszintek szignifikánsan csökkentek, míg a HDL szintje javult^{46, 47}. A zsírmáj kezelésében végzett vizsgálatban 8 hetes beavatkozás során jelentős mértékű májenzim-csökkenést, valamint az ultrahangos steatosis súlyosságának mérséklődését figyelték meg⁴⁶.

A hormonháztartásra gyakorolt hatását különösen a férfiak körében értékelték. Randomizált, kettős vak, placebo-kontrollált vizsgálatok szerint a görögszéna kivonat szignifikánsan növelte a szabad tesztoszteronszintet és az androgén indexet, miközben javította a szubjektív férfi klimaxszal összefüggő panaszokat (AMS-skála) és fizikai teljesítményt (grip-erő)^{48, 49}. A kivonat ezen hatásai mellékhatásmentesen jelentkeztek, különösen alacsony kiindulási hormonszintű alanyoknál.

Perimenopauzális nők esetében is vizsgálták a görögszéna hatását: egy több hetes intervenció során szignifikáns javulást észleltek az életminőségi mutatókban, beleértve az alvásminőséget, libidót és energiaszintet⁴⁵. Ezeket a hatásokat az ösztrogénreceptor-aktivációval és a fitoösztrogén-tartalommal hozzák összefüggésbe.

Kognitív funkciók és oxidatív stressz vonatkozásában is születtek eredmények. Egy vizsgálatban a görögszéna 12 hetes alkalmazása idősebb felnőtteknél szignifikáns javulást eredményezett a rövid távú memória és a verbális tanulás terén, továbbá csökkentette a szisztolés vérnyomást⁵⁰. A hatásokat a szer antioxidáns tulajdonságaival magyarázták, többek között a teljes antioxidáns kapacitás (TAC) növekedése és a lipidperoxidációs marker (MDA) csökkenése révén.

Saját kutatócsoportunk is végzett egy randomizált, placebo-kontrollált, kettős vak humán vizsgálatot egészséges önkéntesek bevonásával⁵¹. A résztvevők napi háromszor 2 kapszula (kapszulánként 500 mg) standardizált görögszéna kivonatot kaptak 11 napon keresztül. A beavatkozás hatására szignifikáns mértékben csökkent az éhomi vércukorszint, és javult a glükóztolerancia. Emellett hormonális szinten is markáns változásokat detektáltunk: a melanin-koncentráló hormon (MCH) szintje statisztikailag szignifikánsan csökkent, amely az

inzulinérzékenység és az étvágy-szabályozás szempontjából kedvező irányú adaptációként értelmezhető. A készítmény kiváló tolerálhatóságot mutatott, mellékhatást nem észleltünk.

Összefoglalva, a kontrollált humán vizsgálatok – beleértve saját kutatásunkat is – alapján a görögszéna (*Trigonella foenum-graecum*) standardizált kivonatai és drogformái több célrendszerre kiterjedően mutatnak kedvező élettani hatásokat, különösen a hormonális homeosztázis, a glükóz- és lipidanyagcsere, az oxidatív stressz, valamint a neurokognitív funkciók területén. A randomizált, placebo-kontrollált vizsgálatok eredményei igazolják a glikémiás paraméterek (pl. éhomi vércukor, HbA1c), a szérum lipidek, az androgén státusz (pl. szabad tesztoszteron), valamint az oxidatív stressz biomarkereinek kedvező irányú változását. A legtöbb tanulmány jó tolerálhatóságról számolt be, a mellékhatások előfordulása ritka és enyhe volt. Bár a klinikai vizsgálatok többsége viszonylag rövid időtartamú és korlátozott esetszámú, az összegyűlt bizonyítékok alapján a görögszéna alkalmazása lehetőségként vetődik fel különböző kardiometabolikus és hormonális diszfunkciók kiegészítő kezelésében.

A görögszéna hosszú távú biztonságosságának és terápiás hatékonyságának pontosabb karakterizálása a jövőbeni kutatások fontos irányát képezheti. Nagyobb esetszámú, hosszabb utánkövetésű, jól kontrollált klinikai vizsgálatok hozzájárulhatnak a klinikailag releváns hatásprofil és alkalmazási lehetőségek megbízhatóbb meghatározásához.

5. „A BGP-15 hatásainak vizsgálata genetikai cukorbeteg állatmodellben, különös tekintettel a kardiális és vaszkuláris paraméterekre.

A BGP-15-tel kapcsolatos közlemények fogadtatása igen megosztó a kutatói közösségben. A szerző a bevezetésben az írja: „A gyógyszerjelölt inzulin-érzékenyítőként belépett klinikai fázisba és humán páciensekben fokozta a szövetek inzulin-érzékenységét.” (minor megjegyzés: a páciensek esetében felesleges a humán jelző). Mit tud klinikai vizsgálatok eredményeiről?”

Válasz:

Tisztelettel köszönöm a kérdést. Valóban, a BGP-15 gyógyszerjelöltet számos hazai és külföldi kutatócsoport vizsgálta, igen különböző indikációkban, és különféle hatásmechanizmusok leírásával. A klinikai vizsgálatok közül 3 tanulmány adataival rendelkezünk. Az elsőben (fázis 2A) a BGP-15 hatékonyságát és biztonságosságát placebóval hasonlították össze inzulinrezisztens betegek körében egy 28 napos dózis-eszkalációs vizsgálat során. Negyvenhét, nem cukorbeteg, csökkent glükóztoleranciával rendelkező beteget véletlenszerűen osztottak be 4 hetes kezelésre, amely során 200 mg vagy 400 mg BGP-15-öt, illetve placebót kaptak. Az inzulinrezisztenciát hiperinzulinémiás euglikémiás clamp technikával és a homeosztázis modell értékelési módszerrel határozták meg, míg a β -sejt funkciót intravénás glükóztolerancia teszttel mérték. Mindkét BGP-15 dózis szignifikánsan növelte a teljes test inzulinérzékenységét (M-1, $p = 0,032$), az teljes test glükózfelhasználását (M-2, $p = 0,035$), az izomszövet glükózfelhasználását (M-3, $p = 0,040$), valamint a zsírmintes testtömeg glükózfelhasználását (M-4, $p = 0,038$) a kiindulási értékhez és a placebóhoz képest⁵². A következő tanulmány célja a BGP-15 hatékonyságának értékelése volt az olanzapin által kiváltott anyagcsere-mellékhatások kezelésében, egészséges önkéntesek körében. Harminchét, normális glükózanyagcserével rendelkező, 18–55 éves alanyt véletlenszerűen osztottak be 17 napos, napi egyszeri 400 mg BGP-15 vagy placebo kezelésre, amely mellett 3 napig 5 mg, majd további 14

napig 10 mg olanzapint kaptak. A teljes test és az izomszövet glükózfelhasználását hiperinzulinémiás-euglikémiás clamp technikával határozták meg. A várakozásoknak megfelelően a 17 napos olanzapin-kezelés inzulinrezisztenciát és testsúlynövekedést okozott mindkét csoportban ($p < 0,05$). A BGP-15 alkalmazása szignifikánsan csökkentette az olanzapin által kiváltott inzulinrezisztenciát. A BGP-15 hatása az inzulin által serkentett glükózfelhasználásra leginkább az izomszövetre vonatkozó értékekben mutatkozott meg. Az alanyokban a BGP-15 a teljes vizsgálati időszak alatt biztonságosnak és jól tolerálhatónak bizonyult⁵³. A harmadik legnagyobb vizsgálatban (NCT01069965) a biztonságosság és a megfelelő dózis meghatározása állt a középpontban 2-es típusú cukorbetegségben és inzulinrezisztenciában szenvedő betegek körében. Ez egy randomizált, dupla-vak, placebo-kontrollált, párhuzamos csoportos, többdózisos, multicentrikus vizsgálat volt a BGP-15 biztonságosságának és hatékonyságának értékelésére, napi egyszeri vagy kétszeri orális adagolással metformin és szulfonilurea vagy metformin mellett, 2-es típusú cukorbeteg pácienseknél. A study öt aktív kezelési kart és egy placebo kart tartalmazott. A betegek vagy metformin + szulfonilurea, vagy metformin monoterápiában részesültek alapesetben. A résztvevőket a következő BGP-15 adagolási csoportokba randomizálták: 100, 100 + 100, 200, 200 + 200, 400 mg/nap vagy placebo, kiegészítő terápiaként az aktuális kezelésük mellé (13 hétig). A bevonási kritériumok között szerepelt: 2-es típusú cukorbetegség diagnózisa az Amerikai Diabetes Társaság (ADA) kritériumai szerint, 30 és 70 év közötti életkor (beleértve), $HbA_{1c} \geq 7,5\% - \leq 12,0\%$. Összesen 196 résztvevőt vontak be, azonban a finanszírozási támogatás visszavonása miatt a vizsgálat megszakadt.

Ezen kívül egy II/III fázisú klinikai vizsgálat (EudraCT 2020-005539-62) is indult, amely a BGP-15 hatását vizsgálta COVID-19 miatti kórházi kezelésben részesülő betegeknél, placebóval összehasonlítva, de ezt a vizsgálatot is a finanszírozás elégtelensége miatt idő előtt leállították.

Saját vizsgálataiban kimutatta, hogy a BGP-15 nem csökkenti szignifikánsan a vércukorszintet és az inzulin rezisztenciát sem Goto-Kakizaki diabéteszes patkányokban. Hogyan magyarázza ezt az ellentmondást?

Válasz:

Köszönöm az érdekes kérdésfelvetést. Ebben a tanulmányban a rövid vizsgálati idő alatt az éhomi vércukorszintekben valóban nem találtunk szignifikáns eltérést, de nem csak a BGP-15-tel kezelt, hanem a metforminnal kezelt állatok esetében sem, azonban tendenciózus csökkenés már megfigyelhető volt mindkét esetben az egészséges kontrollhoz viszonyítva (Wistar: 6,2 mmol/l; GK: 13,6 mmol/l; GK+BGP15: 10,9 mmol/l; GK+MET: 11,2 mmol/l). A jelenségre a következő magyarázatok szolgálhatnak: bár a GK-patkányok már fiatalon hiperglikémiásak, a perifériás inzulinrezisztencia (különösen az izom- és zsírszövetben) kevésbé kifejezett 12–20 hetes korban, mint idősebb korban. A GK patkányok diabéteszes fenotípusa elsősorban a β -sejtek defektusából és csökkent inzulinszekrécióból ered, amely már korai életkorban is jelen van⁵⁴. A β -sejtek inzulintermelése csökkent, így még ha a perifériás inzulinérzékenység javul is (pl. metformin vagy BGP-15 hatására), a korlátozott inzulinmennyiség miatt az éhomi vércukorszint nem csökken drasztikusan. Ezen patkánymodellben a korai életkorban a

szervezet különböző kompenzáló folyamatokkal próbálja fenntartani a vércukorszint homeosztázisát, így más mechanizmusok (pl. fokozott glikogenolízis, glukagon szekréció) megakadályozhatják a jelentős vércukorszint-csökkenést. Ez előfordulhat főleg akkor, ha még nincs kifejezetten súlyos hiperglikémia. A metformin, illetve a BGP-15 hatása nem azonnali, különösen éhomi vércukorszintek esetében. Több napos vagy hetes kezelés után mérhető szignifikáns hatás, és az is gyakran inkább postprandiális plazma glükóz vagy glikált hemoglobin (HbA1c) szinten észlelhető⁵⁵.

Ezt későbbi vizsgálatunkban meg tudtuk erősíteni, hiszen elhízott, 2-es típusú diabéteszes ZDF modellünkben a BGP-15 kezelés hosszabb távon (12 hónap után) szignifikánsan csökkentette az éhomi glükóz szintet (mintegy 18 mmol/l-ről 11 mmol/l-re) ezen felül (6 hónapnál és 12 hónapnál) már szignifikánsan csökkentette az OGTT alatt mért vér glükóz szintet^{56, 57}.

Kérem, mutassa be a Goto-K állatok jellemzőit! Magyarázza el, mi a HOMA index, és hogyan történik a kiszámolása!

Válasz:

A Goto-Kakizaki (GK) patkány egy poligén 2-es típusú cukorbetegség (T2DM) modell, amelyet glükóztoleráns Wistar patkányok ismételt szelekciós tenyésztésével hoztak létre. Az állatmodell spontán, korai kezdetű diabéteszt mutat, amelyben az inzulinrezisztencia és a β -sejt működés zavara egyaránt jelen van. Teljes genom szekvenálás során 1839 GK-specifikus aminosav-változtatást okozó génvariánst azonosítottak, többek között olyan génekben, amelyek a glükóztranszportért (Slc2a2), a kalciumcsatorna működéséért (Adcy3, Cacna1f), valamint a β -sejtek fejlődéséért (Bmp4, Hnf4g, Bad) felelősek. A β -sejtek proliferációját és túlélését befolyásoló gének, mint például a Bmp4 és Hnf4g mutációi magyarázzák a GK patkányokban megfigyelt csökkent pankreasz β -sejt tömeget. Olyan gének variánsai, mint az Ide, Ppp1r3c és Gckr, az inzulin jelátvitelt és anyagcserét érintik, hozzájárulva a perifériás inzulinrezisztenciához. Erősségei: a modell mérsékelt hiperglikémiát, inzulinrezisztenciát, csökkent glükóz-indukált inzulinszekréciót és krónikus, alacsony fokú gyulladást mutat, amelyek jól tükrözik az emberi T2DM jellemzőit. A GK patkányban kialakulnak diabéteszes szövődmények, mint nefropátia, retinopátia és kardiovaszkuláris problémák, így alkalmas hosszú távú vizsgálatokra. A modellben megfigyelhetők a bélrendszeri eltérések (pl. bélmorphológia, motilitás, mikrobiom változások), amelyek relevánsak a diabétesz patofiziológiájában és kezelésében. Az elhízás hiánya lehetővé teszi a genetikai és molekuláris mechanizmusok tisztább vizsgálatát. A modell gyengeségei a következők: nem az elhízáshoz kötődő 2-es típusú diabéteszt modellezi, így korlátozottan használható annak kutatására; valamint a diabétesz súlyosságának változékonysága is előfordulhat. Az inzulinszekréció zavara mérsékelt, emiatt korai életkorban a bazális hiperglikémia hiányozhat, ami korlátozhatja a súlyosabb diabéteszes fenotípus modellezését. Összefoglalva tehát: a GK patkány diabéteszes fenotípusa a több gén által befolyásolt komplex mechanizmus eredménye, amelyek a hasnyálmirigy β -sejt funkcióját, az inzulinszekréciót és a perifériás inzulinérzékenységet érintik. Ez a poligén genetikai háttér jól tükrözi az emberi 2-es típusú cukorbetegség

multifaktoriális jellegét, így a GK patkány értékes modell a betegség genetikai hátterének tanulmányozásához, természetesen a felsorolt korlátok figyelembevételével.

A kérdés második részére válaszolva: A HOMA index egy egyszerű módszer az inzulinrezisztencia becslésére, amelyet rutinszerűen alkalmaznak a cukoranyagcsere-zavarok szűrésében és követésében. Az inzulinrezisztencia és a hasnyálmirigy β -sejtjei működésének becslésére szolgál az éhomi vércukor- és inzulinszint alapján. Az alap hipotézis az, hogy a szervezet inzulin-glükóz homeosztázisa tükrözi az inzulinérzékenységet és a hasnyálmirigy inzulintermelő képességét. Az egészséges szervezetben az éhomi vércukorszint viszonylag alacsony inzulinszint mellett is fent lehet tartani, mert a sejtek érzékenyek az inzulinra, így hatékonyan veszik fel a glükózt. Inzulinrezisztencia (IR) esetén, amikor a sejtek kevésbé érzékenyek az inzulinra, a vércukorszint fenntartásához a hasnyálmirigynek több inzulint kell termelnie. Ezért az éhomi vércukor- és inzulinszint is magasabb lesz. A HOMA index ezt a kapcsolatot használja ki: A HOMA-IR érték a két paraméter (éhomi glükóz és inzulin) szorzatán alapul, így minél magasabb mindkettő, annál nagyobb az inzulinrezisztencia. Leggyakrabban a HOMA-IR (inzulinrezisztencia) értéket használják a klinikai gyakorlatban.
$$\text{HOMA-IR} = (\text{éhomi inzulin [mU/l]} \times \text{éhomi glükóz [mmol/l]}) / 22,5.$$
 A magasabb HOMA-IR érték nagyobb inzulinrezisztenciát jelez, tehát a HOMA index értéke fordítottan arányos az inzulinérzékenységgel. A normál tartomány 2,0-ig terjed, 3,0 felett már inzulin-rezisztenciáról beszélünk.

Kísérleteiben bemutatja a BGP-15 diasztolés funkciót javító hatását GotoK patkányokban. Milyen molekuláris mechanizmusokkal magyarázható ez a hatás?

Válasz:

Ebben a tanulmányban a szív diasztolés funkciójának megőrzését írtuk le GK patkányokban. Molekuláris biológiai vizsgálataink alapján a BGP-15-kezelés növeli a foszfolambán szerin 16-os aminosavon történő foszforilációját. A foszfolambán fehérje egy negatív szabályozója a SERCA pumpának, amely diasztolé alatt eltávolítaná a Ca^{2+} -ionokat a sejt-lazmából úgy, hogy visszapumpálja azokat a szarkoplazmatikus retikulumba. A foszfolambán foszforilációja feloldja ezt a gátlást, így javítja a pumpa Ca^{2+} visszaszívó kapacitását, elősegítve a szívizom ellazulását és a diasztolés funkció javulását. (Megjegyzés: ausztrál kutatók azt találták, hogy a BGP-15 kezelés egérben a Serca2a gén expresszióját is növeli⁵⁸, illetve a SERCA pumpa aktivitását fokozza vázizomban⁵⁹ – ezen eredmények a Nature Communications és a Nature folyóiratokban kerültek publikálásra). A foszfolambán Ser16 foszforilációját a Protein Kináz A (PKA) vagy a Protein Kináz G (PKG) végzi. Ebben a tanulmányban a következő lépésként meghatároztuk a PKG enzim aktivitását, annak egy specifikus foszforilációs targetje, a Vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) foszforilációjának vizsgálatával. Ez a foszforilációs esemény megbízható és érzékeny biomarkerként szolgál a PKG aktivitásának monitorozására. A BGP-15 kezelt állatok mintáiban szignifikánsan emelkedett VASP Ser239 foszforilációt találtunk, így arra következtettünk, hogy a BGP-15 kezelés növeli a PKG jelátviteli út aktivitását. Ezt a mechanizmust igazán a következő, hiperkoleszterinémias nyulakon végzett tanulmányban bontottunk ki⁶⁰. A BGP-15 kezelés szignifikánsan csökkentette

a miociták passzív erejét (elernyedés meghatározója), emelte a miokardiális cGMP-szintet (a PKG kofaktora), emelte a cGMP/PKG arányt, fokozta a foszfolambán Ser16 és a PKG-függő Ser239 VASP foszforilációt, emelte a titin óriásfehérje (a passzív feszülés meghatározója) össz-Ser/Thr és PKG-specifikus S4080 foszforilációját. Klasszikus farmakológiai módszerrel megerősítettük, hogy további Ser16/Thr17 foszfolambán foszforiláció már nem elérhető specifikus aktivátor (BAY 44-2272) kezeléssel sem a BGP-15 csoportban, míg a kezeletlen csoportban igen. A cGMP-t elbontó, ezáltal a PKG útvonalat gátló foszfodiészteráz (PDE) 1 és 5 enzimek expressziója csökkent a kezelt állatok mintáiban. Ennek alapján a molekuláris hatásmechanizmus egyik alapja PKG útvonal serkentése, a SERCA pumpa aktivitásának növelése a foszfolambán gátlásának feloldásával, valamint a miociták passzív feszülésének csökkentése a titin PKG-függő foszforilálásával, ezzel elősegítve a szívizom jobb diasztolés működését.

Mik a BGP-15 fő molekuláris támadáspontjai? Milyen egyéb indikációkban merült fel a használata?

Válasz:

A BGP-15 esetében több molekuláris támadáspont is lehetséges, melyek egy része már a szakirodalomban egyértelműen leírt, másik része pedig kutatás tárgya. A molekulával jelenleg - a debreceni kívül - egy pécsi, egy kínai (Tongji Medical College, Huazhong University), valamint két ausztrál (University of Melbourne, University of Adelaide) kutatócsoport is intenzíven foglalkozik.

1. A kardiovaszkuláris indikációban saját kutatócsoportunk több közleményt is publikált, melyekben a lehetséges mechanizmusokat is elemeztük. Ezek közül kiemelendő a vegyület mitokondriális, illetve intracelluláris Ca^{2+} anyagcserére kifejtett hatása. Radiotelemetriás EKG-vizsgálattal leírtuk, hogy a BGP-15 alkalmazása isoproterenol-indukált tachycardiás, arrhythmias patkánymodellel növeli a paraszimpatikus tónust, kedvezően befolyásolja a szívfrekvencia-variabilitást (HRV), csökkenti a kamrai arrhythmia előfordulását és izolált kamrai cardiomyocytaikon csökkenti az isoproterenol-indukálta utódepolarizációkat, nyújtja a nyugalmi szarkomerhosszt és csökkenti az intracelluláris Ca^{2+} -tranzienst⁶¹.

2. Az általunk fentebb (Goto-Kakizaki study) leírt PKG és SERCA-függő útvonalakon túl vizsgáltuk a gyógyszerjelölt mitokondriális hatásait is. A vegyület alkalmazása 12 hónapig ZDF állatmodellel növelte a túlélést, a kezelt állatokban nőtt a citokróm c oxidáz expressziója és aktivitása, valamint az ATP-szintáz expressziója és aktivitása is, mely a jobb aerob sejtanyagcserét jelzi⁶². Kimutattuk, hogy a BGP-15 diabéteszes szemekben növelte a SIRT1 expresszióját és mérsékelte az MMP9 szintjét, fokozta a HSP70 expresszióját, és csökkentette az NF- κ B szintjét patkányok retina szöveteiben. A SIRT1 expressziójának fokozása előnyös, mivel a NAD^+ -dependens deacetyláz aktivitással rendelkező SIRT1 kulcsszerepet tölt be a sejtek stresszválaszának szabályozásában. Aktiválása gátolja a gyulladásos transzkripciós faktorok – így például az NF- κ B – működését, fokozza a mitokondriális biogenezist, valamint elősegíti a sejtek túlélését oxidatív és metabolikus stresszhelyzetekben. Emellett javítja az inzulinjelátvitelt, csökkenti az apoptózist és mérsékli az extracelluláris mátrix degradációját⁶³.

3. A pécsi kutatócsoport is leírt számos, protektív mitokondriális hatást. Kimutatták, hogy a BGP-15 jelentős hatással van az OPA1-re (optic atrophy 1), amely egy mitokondriális belső membránban lokalizált GTPáz enzim, és kulcsfontosságú szerepet tölt be a mitokondriális belső membránok fúziójában. Ez a fúziós folyamat elengedhetetlen a mitokondrium integritásának, működésének és morfológiájának fenntartásához, különösen stresszhelyzetekben. Igazolták, hogy a BGP-15 elősegíti a mitokondriális fúziót az OPA1 aktiválásán keresztül, amely stabilizálja a mitokondriális kriszták membránjait és védelmet nyújt a mitokondrium fragmentációja ellen. A BGP-15 felhalmozódik a mitokondriumokban, és kifejezetten csökkenti a mitokondriális ROS termelődést, elsősorban a légzési lánc I-es és III-as komplexeinek, valamint a citokróm b régiójának szintjén. Ez a hatás nem közvetlen antioxidáns aktivitásból ered, hanem inkább a mitokondriális funkció modulálásán keresztül valósul meg, amely oxidatív stressz állapotokban mérsékli a ROS generálódását. A BGP-15 által kiváltott mitokondriális ROS csökkenés következtében mérséklődik a stressz-kinázok, például a JNK aktivációja, amelyek egyébként a mitokondriumokba transzlokálódva elősegítik a mitokondriális permeabilitási átmeneti pórus (MPTP) kinyílását, ezáltal előidézve sejthalált. A BGP-15 a mitokondriális membránok stabilizálásával és az MPTP nyílásának gátlásával csökkenti az oxidatív stressz vagy gyulladásos ingerek által kiváltott apoptózist. Jelenleg ez, a mitokondriális funkció OPA1-en keresztüli aktiválása a legvalószínűbb hatásmechanizmus, több új (2024-2025-ös) forrás OPA1 aktivátorként vagy mitokondriális célzott terápiaként hivatkozik a BGP-15-re⁶⁴⁻⁶⁶.

4. Az ausztrál (University of Adelaide) csoport egy merőben más indikációban, de hasonlóan, a BGP-15 mitokondrium-protektív hatásait kihasználva a fertilitásra vonatkozó eredményekről számolt be (a rangos Nature Communications és Reproduction folyóiratokban). A Robinson Kutatóintézetének legfrissebb publikációi szerint a BGP-15 mint mitokondriális aktivátor jelentős mértékben javítja a spermiumminőséget, ami közvetlenül hozzájárul a termékenység javulásához. Intraperitoneális BGP-15 (15 mg/kg/nap $\times$ 4 nap vagy 3 hét) kezelés után idős hím egerekben csökkent a spermium DNS-oxidáció, gyorsabb volt az embrionális fejlődés morfokinetikája IVF után (több, mint 2-sejtes és blastocysta stádium), megnövekedett a magzati tömeg, a perinatális túlélés és a születési arány. A BGP-15 fokozza a mitokondriális membránpotenciált (MMP), csökkenti a mitokondriális ROS-termelést, az oxidatív DNS károsodást és fragmentációt, (8-OHdG), és fokozza az antioxidáns enzimek (SOD, CAT, glutation-peroxidáz) aktivitását. Ezután a BGP-15-öt 40 humán ejakulátumból származó minta kezelésére 10 μ M koncentrációban alkalmazták, ahol a következő eredményeket találták: emelkedett spermium motilitás, és DNS-oxidáció csökkenés 57 %-kal a kontroll mintákhoz képest, illetve a különféle spermium szelekciós eljárások (simple wash, swim-up, density gradient centrifugation, DGC) során jelentősen csökkent a DNS fragmentáció és oxidáció, nőtt a MMP (mitokondriális membránpotenciál)^{64, 65, 67}. Újabb adatok alapján a női megtermékenyülési képesség is javulhat^{68, 69}. A BGP-15 alkalmazása (14 hónapos nőstény egerekben 2 héten át) jelentősen csökkentette a petefészek fibrózisát, a mérhető kollagén-felhalmozódást, és ezzel párhuzamosan megduplázta a petesejtek ovulációs számát a gonadotropin kezelés után. A BGP-15 hatására fokozódik az olyan mátrix metalloproteinázok (pl. MMP13) kifejeződése és aktivitása, amelyek lebontják a feleslegesen felszaporodott kollagént, a kezelés javítja a mitokondriumok energiaellátó képességét, ezzel támogatva az aktív tüszőnövekedés energiaigényét, csökkenti a mitokondriális ROS termelődését, módosítja

a makrofágok polarizálódását M2 irányba. A Nat. Comm.-ban legfrissebben megjelent (2025 március) publikáció új mechanisztikus összefüggést tár fel a mitokondriumok működése és a telomerhossz szabályozása között az embrió korai fejlődése alatt, és bemutatja, hogy ezt a folyamatot mitokondriális terápiára célzott gyógyszerekkel, például BGP-15-tel módosítani lehet, amely potenciálisan javíthatja az utódok egészségi állapotát. A BGP-15 (100 mg/kg, i.p., 4 napig) képes volt csökkenteni az mtROS mennyiségét (MitoSOX Red festéssel vizsgálva, mely mitokondrium-specifikusan jelzi a szuperoxid jelenlétét) és ezáltal helyreállítani a telomerhossz növekedését és a belső sejtömeget a blastocysták sejtjeiben mind rotenonnal kezelt (lélegzési lánc gátlószer), mind előregedő vagy elhízott egerek modelljében⁶⁵. Ezek alapján egy szabadalom (AU2018337761A1) is benyújtásra került (University of Adelaide, Mitochondron technologies Ltd.)⁶⁴.

5. Hősokk fehérje indukciós hatás: a BGP-15 a membrán lipid raftok (koleszterinben és szfingolipidekben gazdag membrán-mikrodomainek) szerkezetének módosításán keresztül elősegíti a Rac1 GTPáz aktivációját, ami aktiválja a HSF-1 transzkripciós faktort, meghosszabbítja annak promoterhez kötődését, gátolja acetilációját, és ezzel szignifikánsan fokozza a HSP70 (HSPA1A/B) gén expresszióját. Emellett epigenetikai úton is megkönnyíti a HSP gének hozzáférhetőségét és átírását⁷⁰. A BGP-15 által indukált hősokkfehérje (HSP70/HSPA1A/B) expresszió mögött összetett, membránstrukturális és jelátviteli folyamatok állnak, melyekben kiemelt szerepet játszanak a lipid raftok. A lipid raftok összetételének változása az inzulinrezisztencia kezelésében azért lehet kiemelten fontos, mert ezek a speciális membránmikrodomainek kulcsszerepet töltenek be az inzulin receptor és a hozzá kapcsolódó jelátviteli molekulák működésében.

6. A melbourne-i ausztrál kutatócsoport a 2010-es években 2 rangos publikációt is közölt a molekula izom-hatásaival kapcsolatban. Vizsgálataik alapján izomdisztrófiás egérmodelleken a BGP-15 kezelés javította az izom architektúráját, növelte az izom erősségét és kontraktilis képességét, mérsékelte a betegségre jellemző tüneteket, például a kyphosist (gerincgörbület) és az izomgyengeséget, valamint meghosszabbította az élettartamot⁵⁹. A DMD modellekben a SERCA fehérje funkciója károsodik, ami hozzájárul az izomkárosodáshoz. A BGP-15 növeli a Hsp72 expresszióját, amely közvetlen interakcióban áll a SERCA-val, megvédve annak aktivitását, ezáltal javítva a Ca^{2+} homeosztázist és csökkentve az izomsejtek degenerációját. A következő, Nat. Comm.-ban megjelent publikációjukban szereplő részletes molekuláris bizonyítékok azt mutatják, hogy a BGP-15 közvetlenül modulálja az inzulin-szerű növekedési faktor 1 receptor (IGF1R) jelátviteli útját, és így protektív hatást gyakorol a szívre és a vázizomra⁵⁸. A BGP-15 kezelés hatására szignifikánsan megnőtt az IGF1R aktiváló foszforilációja a szívizomban, mind szívelégtelenség és pitvarfibrilláció egér modelljeiben, mind tenyésztett szívizomsejtekben. A BGP-15 módosítja a plazmamembrán lipid összetételét – különösen csökkenti a gangliozid GM3 szintjét és növeli a membrán fluiditását. Ez az átalakulás kedvez az IGF1R hatékonyabb foszforilációjának és aktiválódásának ligand (IGF-1) hatására. Neonatális patkány szívizomsejteken végzett kísérletekben igazolták, hogy a BGP-15 emeli az IGF1-indukált IGF1R foszforilációt.

Összefoglalva a BGP-15 támadáspontjai: a mitokondriális fúzió és az energiatermelés növelése mind a testi sejtekben, mind az ivarsejtekben (OPA1, ATP5), a SERCA-pumpa aktiválása, és az IGF1R-út, ezáltal a szív- és vázizom funkciók támogatása, a membrán

lipidraftok fluiditásának növelése, hsp70 indukció általi általános protektív hatás a sejteket ért stresszorokkal szemben, HDAC gátlás és SIRT1 serkentés; a sejtek túlélésének növelése.

Hogy állnak ezek a kutatások? Vannak meggyőző klinikai adatok? Milyen mellékhatások prediktálhatók a BGP-15 terápiával kapcsolatban?

Válasz:

Köszönöm az érdekesítő kérdést. Korábban a Mitochon Technologies, jelenleg a Vitaleon Pharma (Hollandia) egy 2. fázisú klinikai vizsgálatot indít, amelynek célja a BGP-15 hatékonyságának megállapítása a termékenység és a reprodukív egészség javításában.

A korábbi klinikai I és IIb fázis vizsgálatok során nem rögzítettek súlyos nemkívánatos eseményeket. A kezelés során jelentkező nemkívánatos események (TEAE-k, Treatment-Emergent Adverse Events): sem a hematológiai vizsgálatok, sem a vizeletvizsgálatok nem mutattak ki biztonsági aggályokat a BGP-15-tel kapcsolatban. Leggyakoribb TEAE-k: fertőzések (33%), gyomor-bélrendszeri panaszok (13%, pl. puffadás, székrekedés, hasmenés), idegrendszeri panaszok (11%, pl. fejfájás). A TEAE-k súlyossága és gyakorisága a placebo- és az aktív kezelési csoportokban hasonlóak voltak, és nem volt kimutatható semmilyen mintázat vagy összefüggés a kezelés hatására^{71, 72}.

A BGP-15 preklinikai és eddigi klinikai adatok alapján biztonságosnak látszik, egyes esetekben azonban – főleg speciális gyógyszerkombinációkban – súlyosbíthat bizonyos mellékhatásokat, mint amilyen az 5-FU-indukálta bélgyulladás és hasmenés⁷³. Saját állatkísérletes modellünkben isoproterenollal előkezelt szíveken, és nagyon nagy dózisban (80-160 mg/ttkg) bradycardiát és AV-blokkot figyeltünk meg⁶¹. Irinotekánnal kezelt egérmodellben a BGP-15 – habár csökkentette az izomtömegvesztést - ugyanakkor tovább csökkentette az izomfehérje-szintézist, és növelte a mátrix-metalloproteáz aktivitást. Ez átmeneti, de akár káros (izomdystrophiára emlékeztető) izomelváltozásokhoz is vezethet⁷⁴. Nagyobb, hosszabb időtartamú, humán biztonsági vizsgálatokra még szükség van az esetleges ritka mellékhatások pontosabb felderítéséhez.

6. „Aterogén étrenddel kiváltott hiperkoleszterinémiában bekövetkezett változások értékelése a szívfunkcióban és biokémiai paraméterekben, különös tekintettel a PDE9A expresszióra.

A PDE9A expressziója jól ismert az agyban. 2008-ban közzéték először, hogy a BAY 73-6691 szelektív PDE9A gátló jó lehet Alzheimer kór kezelésére. (van der Staay FJ, Rutten K, Bärfacker L, Devry J, Erb C, Heckroth H, et al. (October 2008). "The novel selective PDE9 inhibitor BAY 73-6691 improves learning and memory in rodents". *Neuropharmacology*. 55 (5): 908–18. doi:10.1016/j.neuropharm.2008.07.005. hdl:1874/32084. PMID 18674549. S2CID 24171186.)

Mit tud a szelektív PDE9A gátlók fejlesztéséről, kísérletes adairól és esetleges felhasználásáról a kardiovaszkuláris területen?"

Válasz:

A PDE9 (foszfodiészteráz 9) gátlók a ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP) szignalizáció modulációján keresztül fejtik ki hatásukat. A PDE9A enzim rendelkezik a legnagyobb affinitással a cGMP iránt az összes foszfodiészteráz közül, különösen a nátriuretikus peptid/cGMP jelátviteli útvonalon képződött cGMP-re szelektív, ugyanis a sejten belül ezzel ko-lokalizáltan található meg⁷⁵. Klinikai vizsgálatok során a PDE9 gátlók biztonságosnak és jól tolerálhatónak bizonyultak, jelenleg II. fázisú klinikai tesztelés alatt állnak Alzheimer-kór, szkizofrénia és sarlósejtes vérszegénység kezelésére^{76, 77}. Szívbetegségek területén a CRD-740 nevű PDE9 gátló ígéretes eredményeket mutatott szívelégtelenségben szenvedő betegek kezelésében, szignifikánsan növelve a plazma cGMP szintjét. Gén szintű vagy farmakológiai PDE9-gátlás egérmodellekben megemeli a szívben az intracelluláris cGMP szintet, és reverzálja, illetve megelőzi a bal kamrai hipertrófiát és funkcióromlást – ez a hatás független a NO-tól, tehát főként a nátriuretikus peptid útvonal révén történik. In vitro és preklinikai egérmodellekben (pl. CRD-733, KR39526, KR39582, C33(S) molekulákkal) a PDE9-gátlás visszafordította a szívizom hipertrófiát, javította a bal kamra funkcióját és megelőzte vagy mérsékelte a tüdőödémát, bal pitvari tágulatot, illetve redukálta a diasztolés töltőnyomást⁷⁸⁻⁸⁰. A szívelégtelenség juh modelljében PDE9-gátló (PF-04749982) adására dóziszfüggő cGMP emelkedés, artériás és pitvari nyomáscsökkenés, perifériás ellenállás csökkenés, és a legmagasabb dózisban átmeneti szívizomteljesítmény-növekedés, illetve javuló vese-funkció volt megfigyelhető⁸¹. A PDE9-gátlás nátriuretikus, diuretikus, vazodilatátor és antifibrotikus hatásokat is felerősíthet, amelyek mind kedvezőek a szívizom hipertrófiájával járó állapotokban és szívelégtelenségben. Nagyállat-modellekben (pl. juh) a PDE9-gátlók kombinációja egyéb szerekkel (ARNi, valsartan) még erőteljesebb hemodinamikai, renális és szívizom-protéktív választ eredményez, például csökken a teljes perifériás ellenállás, bal pitvari nyomás, nő a diurézis és nátriurézis^{82, 83}. Az első humán, randomizált, placebo-kontrollos fázis II vizsgálatok (CARDINAL-HF, CRD-740 molekulával) igazolták, hogy a PDE9-gátlók jól tolerálhatók, nem okoznak jelentős mellékhatásokat, továbbá szignifikáns emelkedést hoznak létre a biomarker-szintként is használt plazma cGMP-ben – azaz hatékonyan aktiválja a nátriuretikus peptid rendszert. A kezdeti klinikai eredmények alapján a PDE9-gátlás reményteli új célpont lehet a szívelégtelenség modern farmakoterápiájában⁸⁴.

Végezetül szeretném még egyszer megköszönni Professzor Asszonynak a nagyon alapos és előremutató bírálatát, valamint az építő jellegű észrevételeket, amelyek nagyban hozzájárultak munkám továbbfejlesztéséhez. Hálás vagyok az értékes útmutatásért és támogatásért, amelyek ösztönzőleg hatnak a további kutatásaimra is.

Irodalom:

1. Bak I, Czompa A, Csepányi E, et al. Evaluation of systemic and dermal toxicity and dermal photoprotection by sour cherry kernels. *Phytotherapy research : PTR* 2011; 25: 1714-1720. 20110712. DOI: 10.1002/ptr.3580.

2. Bombicz M, Priksz D, Varga B, et al. Anti-Atherogenic Properties of *Allium ursinum* Liophyllisate: Impact on Lipoprotein Homeostasis and Cardiac Biomarkers in Hypercholesterolemic Rabbits. *Int J Mol Sci* 2016; 17 20160810. DOI: 10.3390/ijms17081284.
3. Bombicz M, Priksz D, Varga B, et al. A Novel Therapeutic Approach in the Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension: *Allium ursinum* Liophyllisate Alleviates Symptoms Comparably to Sildenafil. *Int J Mol Sci* 2017; 18 20170704. DOI: 10.3390/ijms18071436.
4. Bak I, Lekli I, Juhasz B, et al. Isolation and analysis of bioactive constituents of sour cherry (*Prunus cerasus*) seed kernel: an emerging functional food. *Journal of medicinal food* 2010; 13: 905-910. DOI: 10.1089/jmf.2009.0188.
5. Bak I, Lekli I, Juhasz B, et al. Cardioprotective mechanisms of *Prunus cerasus* (sour cherry) seed extract against ischemia-reperfusion-induced damage in isolated rat hearts. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2006; 291: H1329-1336. 20060414. DOI: 10.1152/ajpheart.01243.2005.
6. Kan T, Gundogdu M, Ercisli S, et al. Phenolic compounds and vitamins in wild and cultivated apricot (*Prunus armeniaca* L.) fruits grown in irrigated and dry farming conditions. *Biol Res* 2014; 47: 46. 20140923. DOI: 10.1186/0717-6287-47-46.
7. Rudzinska M, Gornas P, Raczyk M, et al. Sterols and squalene in apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel oils: the variety as a key factor. *Nat Prod Res* 2017; 31: 84-88. 20160108. DOI: 10.1080/14786419.2015.1135146.
8. Lee HH, Ahn JH, Kwon AR, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of apricot seed. *Phytotherapy research : PTR* 2014; 28: 1867-1872. 20140915. DOI: 10.1002/ptr.5219.
9. Gandhi VM, Mulky MJ, Mukerji B, et al. Safety evaluation of wild apricot oil. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 1997; 35: 583-587. DOI: 10.1016/s0278-6915(97)00026-4.
10. Chaouali N, Gana I, Dorra A, et al. Potential Toxic Levels of Cyanide in Almonds (*Prunus amygdalus*), Apricot Kernels (*Prunus armeniaca*), and Almond Syrup. *ISRN Toxicol* 2013; 2013: 610648. 20130919. DOI: 10.1155/2013/610648.
11. Homoki JR, Nemes A, Fazekas E, et al. Anthocyanin composition, antioxidant efficiency, and alpha-amylase inhibitor activity of different Hungarian sour cherry varieties (*Prunus cerasus* L.). *Food Chem* 2016; 194: 222-229. 20150729. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.07.130.
12. Wojdylo A, Nowicka P, Laskowski P, et al. Evaluation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruits for their polyphenol content, antioxidant properties, and nutritional components. *Journal of agricultural and food chemistry* 2014; 62: 12332-12345. 20141211. DOI: 10.1021/jf504023z.
13. Yilmaz FM, Karaaslan M and Vardin H. Optimization of extraction parameters on the isolation of phenolic compounds from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) pomace. *J Food Sci Technol* 2015; 52: 2851-2859. 20140411. DOI: 10.1007/s13197-014-1345-3.
14. Szabo ME, Gallyas E, Bak I, et al. Heme oxygenase-1-related carbon monoxide and flavonoids in ischemic/reperfused rat retina. *Investigative ophthalmology & visual science* 2004; 45: 3727-3732. DOI: 10.1167/iovs.03-1324.

15. Tosaki A and Das DK. The role of heme oxygenase signaling in various disorders. *Molecular and cellular biochemistry* 2002; 232: 149-157. DOI: 10.1023/a:1014885014600.
16. Czompa A, Gyongyosi A, Czegledi A, et al. Cardioprotection afforded by sour cherry seed kernel: the role of heme oxygenase-1. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2014; 64: 412-419. DOI: 10.1097/FJC.0000000000000132.
17. Lekli I, Szabo G, Juhasz B, et al. Protective mechanisms of resveratrol against ischemia-reperfusion-induced damage in hearts obtained from Zucker obese rats: the role of GLUT-4 and endothelin. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2008; 294: H859-866. 20071207. DOI: 10.1152/ajpheart.01048.2007.
18. Grundy SM. Monounsaturated fatty acids, plasma cholesterol, and coronary heart disease. *The American journal of clinical nutrition* 1987; 45: 1168-1175. DOI: 10.1093/ajcn/45.5.1168.
19. Kris-Etherton PM and Fleming JA. Emerging nutrition science on fatty acids and cardiovascular disease: nutritionists' perspectives. *Adv Nutr* 2015; 6: 326S-337S. 20150515. DOI: 10.3945/an.114.006981.
20. Fernandez ML and Vega-Lopez S. Efficacy and safety of sitosterol in the management of blood cholesterol levels. *Cardiovasc Drug Rev* 2005; 23: 57-70. DOI: 10.1111/j.1527-3466.2005.tb00157.x.
21. Hennig B, Toborek M and McClain CJ. High-energy diets, fatty acids and endothelial cell function: implications for atherosclerosis. *Journal of the American College of Nutrition* 2001; 20: 97-105. DOI: 10.1080/07315724.2001.10719021.
22. Ip WT, McAlindon A, Miller SE, et al. Dietary omega-6 fatty acid replacement selectively impairs cardiac functional recovery after ischemia in female (but not male) rats. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology* 2016; 311: H768-780. 20160715. DOI: 10.1152/ajpheart.00690.2015.
23. Gilbert K, Malick M, Madingou N, et al. Metabolites derived from omega-3 polyunsaturated fatty acids are important for cardioprotection. *European journal of pharmacology* 2015; 769: 147-153. 20151110. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.11.010.
24. Rajaram S, Connell KM and Sabate J. Effect of almond-enriched high-monounsaturated fat diet on selected markers of inflammation: a randomised, controlled, crossover study. *The British journal of nutrition* 2010; 103: 907-912. 20091029. DOI: 10.1017/S0007114509992480.
25. Pilkington SM, Watson RE, Nicolaou A, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids: photoprotective macronutrients. *Exp Dermatol* 2011; 20: 537-543. 20110516. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2011.01294.x.
26. Csiki Z, Papp-Bata A, Czompa A, et al. Orally delivered sour cherry seed extract (SCSE) affects cardiovascular and hematological parameters in humans. *Phytotherapy research : PTR* 2015; 29: 444-449. 20150109. DOI: 10.1002/ptr.5273.
27. Mahmoud F, Haines D, Al-Awadhi R, et al. Sour cherry (*Prunus cerasus*) seed extract increases heme oxygenase-1 expression and decreases proinflammatory signaling in peripheral blood human leukocytes from rheumatoid arthritis patients. *International immunopharmacology* 2014; 20: 188-196. 20140312. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.02.031.

28. Mahmoud FF, Al-Awadhi R, Haines DD, et al. Sour cherry seed kernel extract increases heme oxygenase-1 expression and decreases representation of CD3+ TNF-alpha+ and CD3+IL-8+ subpopulations in peripheral blood leukocyte cultures from type 2 diabetes patients. *Phytotherapy research : PTR* 2013; 27: 767-774. 20120731. DOI: 10.1002/ptr.4783.
29. Hanelt P, Büttner R and Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben G. *Mansfeld's Encyclopedia of Agricultural and Horticultural Crops: (Except Ornamentals)*. Springer, 2001.
30. Sun Yoo K and Pike LM. Determination of flavor precursor compound S-alk(en)yl-l-cysteine sulfoxides by an HPLC method and their distribution in *Allium* species. *Scientia Horticulturae* 1998; 75: 1-10. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(98\)00107-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(98)00107-1).
31. Oszmianski J, Kolniak-Ostek J and Wojdylo A. Characterization and content of flavonol derivatives of *Allium ursinum* L. plant. *Journal of agricultural and food chemistry* 2013; 61: 176-184. 20121218. DOI: 10.1021/jf304268e.
32. Sabha D, Hiyasat B, Grotzinger K, et al. *Allium ursinum* L.: bioassay-guided isolation and identification of a galactolipid and a phytosterol exerting antiaggregatory effects. *Pharmacology* 2012; 89: 260-269. DOI: 10.1159/000337380.
33. Sendl A, Elbl G, Steinke B, et al. Comparative pharmacological investigations of *Allium ursinum* and *Allium sativum*. *Planta medica* 1992; 58: 1-7. DOI: 10.1055/s-2006-961378.
34. Hiyasat B, Sabha D, Grotzinger K, et al. Antiplatelet activity of *Allium ursinum* and *Allium sativum*. *Pharmacology* 2009; 83: 197-204. 20090128. DOI: 10.1159/000196811.
35. Preuss HG, Clouatre D, Mohamadi A, et al. Wild garlic has a greater effect than regular garlic on blood pressure and blood chemistries of rats. *Int Urol Nephrol* 2001; 32: 525-530. DOI: 10.1023/a:1014417526290.
36. Stajner D, Popovic BM, Canadanovic-Brunet J, et al. Antioxidant and scavenger activities of *Allium ursinum*. *Fitoterapia* 2008; 79: 303-305. 20080209. DOI: 10.1016/j.fitote.2007.01.008.
37. Reuter HD. *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 2 pharmacology and medicinal application. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 1995; 2: 73-91. DOI: 10.1016/S0944-7113(11)80052-8.
38. Mohamadi A, Jarrell ST, Shi SJ, et al. Effects of wild versus cultivated garlic on blood pressure and other parameters in hypertensive rats. *Heart Dis* 2000; 2: 3-9.
39. Rietz B, Isensee H, Strobach H, et al. Cardioprotective actions of wild garlic (*allium ursinum*) in ischemia and reperfusion. *Molecular and cellular biochemistry* 1993; 119: 143-150. DOI: 10.1007/BF00926865.
40. Godevac D, Vujisić L, Mojović M, et al. Evaluation of antioxidant capacity of *Allium ursinum* L. volatile oil and its effect on membrane fluidity. *Food chemistry* 2008; 107: 1692-1700.
41. Gitin L, Dinica R and Parnavel R. The influence of extraction method on the apparent content of bioactive compounds in Romanian *Allium* spp. leaves. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 2012; 40: 93-97.

42. Djurdjevic L, Dinic A, Pavlovic P, et al. Allelopathic potential of *Allium ursinum* L. *Biochemical Systematics and Ecology* 2004; 32: 533-544. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2003.10.001>.
43. Halpern GM. Anti-inflammatory effects of a stabilized lipid extract of *Perna canaliculus* (Lyprinol). *Allerg Immunol (Paris)* 2000; 32: 272-278.
44. Hota D, Padhy BM, Maiti R, et al. A Placebo-Controlled, Double-Blind Clinical Investigation to Evaluate the Efficacy of a Patented *Trigonella foenum-graecum* Seed Extract "Fenfuro(R)" in Type 2 Diabetics. *J Am Nutr Assoc* 2024; 43: 147-156. 20230717. DOI: 10.1080/27697061.2023.2233008.
45. Najdi RA, Hagraas MM, Kamel FO, et al. A randomized controlled clinical trial evaluating the effect of *Trigonella foenum-graecum* (fenugreek) versus glibenclamide in patients with diabetes. *Afr Health Sci* 2019; 19: 1594-1601. DOI: 10.4314/ahs.v19i1.34.
46. Hadi A, Arab A, Hajianfar H, et al. The effect of fenugreek seed supplementation on serum irisin levels, blood pressure, and liver and kidney function in patients with type 2 diabetes mellitus: A parallel randomized clinical trial. *Complement Ther Med* 2020; 49: 102315. 20200201. DOI: 10.1016/j.ctim.2020.102315.
47. Rao A, Steels E, Beccaria G, et al. Influence of a Specialized *Trigonella foenum-graecum* Seed Extract (Libifem), on Testosterone, Estradiol and Sexual Function in Healthy Menstruating Women, a Randomised Placebo Controlled Study. *Phytotherapy research : PTR* 2015; 29: 1123-1130. 20150424. DOI: 10.1002/ptr.5355.
48. Hausenblas HA, Conway KL, Coyle KRM, et al. Efficacy of fenugreek seed extract on men's psychological and physical health: a randomized placebo-controlled double-blind clinical trial. *J Complement Integr Med* 2020; 18: 445-448. 20200522. DOI: 10.1515/jcim-2019-0101.
49. Lee-Odegard S, Gundersen TE and Drevon CA. Effect of a plant extract of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) on testosterone in blood plasma and saliva in a double blind randomized controlled intervention study. *PloS one* 2024; 19: e0310170. 20240917. DOI: 10.1371/journal.pone.0310170.
50. Foroumandi E, Javan R, Moayed L, et al. The effects of fenugreek seed extract supplementation in patients with Alzheimer's disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Phytotherapy research : PTR* 2023; 37: 285-294. 20221005. DOI: 10.1002/ptr.7612.
51. Kiss R, Szabo K, Gesztelyi R, et al. Insulin-Sensitizer Effects of Fenugreek Seeds in Parallel with Changes in Plasma MCH Levels in Healthy Volunteers. *Int J Mol Sci* 2018; 19: 20180308. DOI: 10.3390/ijms19030771.
52. Literati-Nagy B, Kulcsar E, Literati-Nagy Z, et al. Improvement of insulin sensitivity by a novel drug, BGP-15, in insulin-resistant patients: a proof of concept randomized double-blind clinical trial. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme* 2009; 41: 374-380. 20090212. DOI: 10.1055/s-0028-1128142.
53. Literati-Nagy B, Peterfai E, Kulcsar E, et al. Beneficial effect of the insulin sensitizer (HSP inducer) BGP-15 on olanzapine-induced metabolic disorders. *Brain research bulletin* 2010; 83: 340-344. 20100916. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2010.09.005.

54. Akash MS, Rehman K and Chen S. Goto-Kakizaki rats: its suitability as non-obese diabetic animal model for spontaneous type 2 diabetes mellitus. *Curr Diabetes Rev* 2013; 9: 387-396. DOI: 10.2174/15733998113099990069.
55. Rosen P and Wiernsperger NF. Metformin delays the manifestation of diabetes and vascular dysfunction in Goto-Kakizaki rats by reduction of mitochondrial oxidative stress. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2006; 22: 323-330. DOI: 10.1002/dmrr.623.
56. Kozma M, Bombicz M, Varga B, et al. Cardioprotective Role of BGP-15 in Ageing Zucker Diabetic Fatty Rat (ZDF) Model: Extended Mitochondrial Longevity. *Pharmaceutics* 2022; 14: 20220119. DOI: 10.3390/pharmaceutics14020226.
57. Wachal Z, Szilagyí A, Takacs B, et al. Improved Survival and Retinal Function of Aging ZDF Rats in Long-Term, Uncontrolled Diabetes by BGP-15 Treatment. *Front Pharmacol* 2021; 12: 650207. 20210416. DOI: 10.3389/fphar.2021.650207.
58. Sapra G, Tham YK, Cemerlang N, et al. The small-molecule BGP-15 protects against heart failure and atrial fibrillation in mice. *Nature communications* 2014; 5: 5705. 20141209. DOI: 10.1038/ncomms6705.
59. Gehrig SM, van der Poel C, Sayer TA, et al. Hsp72 preserves muscle function and slows progression of severe muscular dystrophy. *Nature* 2012; 484: 394-398. DOI: 10.1038/nature10980.
60. Priksz D, Lampe N, Kovacs A, et al. Nicotinic-acid derivative BGP-15 improves diastolic function in a rabbit model of atherosclerotic cardiomyopathy. *British journal of pharmacology* 2022; 179: 2240-2258. 20220205. DOI: 10.1111/bph.15749.
61. Bernat B, Erdelyi R, Fazekas L, et al. Drug Candidate BGP-15 Prevents Isoproterenol-Induced Arrhythmias and Alters Heart Rate Variability (HRV) in Telemetry-Implanted Rats. *Pharmaceutics* 2023; 16: 359.
62. Kozma M, Bombicz M, Varga B, et al. Cardioprotective Role of BGP-15 in Ageing Zucker Diabetic Fatty Rat (ZDF) Model: Extended Mitochondrial Longevity. *Pharmaceutics* 2022; 14: 226.
63. Wachal Z, Szilagyí A, Takács B, et al. Improved Survival and Retinal Function of Aging ZDF Rats in Long-Term, Uncontrolled Diabetes by BGP-15 Treatment. *Frontiers in Pharmacology* 2021; Volume 12 - 2021. Original Research. DOI: 10.3389/fphar.2021.650207.
64. Gonzalez MB, McPherson NO, Connaughton HS, et al. Mitochondrial activator BGP-15 protects sperm quality against oxidative damage and improves embryo developmental competence. *F&S Science* 2025; 6: 42-54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xfss.2024.12.001>.
65. Winstanley YE, Rose RD, Sobinoff AP, et al. Telomere length in offspring is determined by mitochondrial-nuclear communication at fertilization. *Nature communications* 2025; 16: 2527. DOI: 10.1038/s41467-025-57794-7.
66. Wang Q, Dong M, Xia X, et al. OPA1 Enhances Microglial Amyloid- β Clearance and Alleviates Cognitive Impairments in an Alzheimer's Disease Model. *Aging Dis* 2025 20250420. DOI: 10.14336/ad.2025.0082.
67. Gonzalez MB, Campugan CA, Connaughton HS, et al. REPRODUCTIVE AGEING: BGP-15 mitigates adverse impacts of aging on sperm quality, fertility, and offspring health in male mice. *Reproduction* 2024; 168: e240105. DOI: 10.1530/rep-24-0105.

68. Kriebs A. Reducing ovarian fibrosis extends female reproductive lifespan. *Nature Aging* 2022; 2: 691-691. DOI: 10.1038/s43587-022-00273-1.
69. Umehara T, Winstanley YE, Andreas E, et al. Female reproductive life span is extended by targeted removal of fibrotic collagen from the mouse ovary. *Sci Adv* 2022; 8: eabn4564. 20220617. DOI: 10.1126/sciadv.abn4564.
70. Budzyński MA, Crul T, Himanen SV, et al. Chaperone co-inducer BGP-15 inhibits histone deacetylases and enhances the heat shock response through increased chromatin accessibility. *Cell Stress Chaperones* 2017; 22: 717-728. 20170504. DOI: 10.1007/s12192-017-0798-5.
71. N-Gene Research Laboratories I. Safety and Efficacy of BGP-15 in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus, <https://www.clinicaltrials.gov/study/NCT01069965> (2014).
72. Vitaleon Pharma Homepage, <https://vitaleonpharma.com> (2024).
73. McQuade RM, Al Thaalibi M, Petersen AC, et al. Co-treatment With BGP-15 Exacerbates 5-Fluorouracil-Induced Gastrointestinal Dysfunction. *Front Neurosci* 2019; 13: 449. 20190508. DOI: 10.3389/fnins.2019.00449.
74. Campelj DG, Timpani CA, Petersen AC, et al. The Paradoxical Effect of PARP Inhibitor BGP-15 on Irinotecan-Induced Cachexia and Skeletal Muscle Dysfunction. *Cancers* 2020; 12: 3810.
75. Lee DI, Zhu G, Sasaki T, et al. Phosphodiesterase 9A controls nitric-oxide-independent cGMP and hypertrophic heart disease. *Nature* 2015; 519: 472-476. 20150318. DOI: 10.1038/nature14332.
76. McMurray JJV and Docherty KF. Phosphodiesterase-9 Inhibition in Heart Failure: A Further Opportunity to Augment the Effects of Natriuretic Peptides? *J Am Coll Cardiol* 2019; 74: 902-904. DOI: 10.1016/j.jacc.2019.07.008.
77. Cardurion Pharmaceuticals I. A Study of IMR-687 in Subjects With Sickle Cell Disease, <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04474314> (2025).
78. Richards DA, Aronovitz MJ, Liu P, et al. CRD-733, a Novel PDE9 (Phosphodiesterase 9) Inhibitor, Reverses Pressure Overload-Induced Heart Failure. *Circ Heart Fail* 2021; 14: e007300. 20210119. DOI: 10.1161/circheartfailure.120.007300.
79. Lee JH, Park H, Lee SH, et al. Novel PDE9 inhibitors, KR39526 and KR39582, attenuate cardiac hypertrophy and fibrosis induced by pressure overload. *Journal of pharmacological sciences* 2025; 158: 353-362. 20250530. DOI: 10.1016/j.jphs.2025.05.015.
80. Wang P-x, Li Z-m, Cai S-d, et al. C33(S), a novel PDE9A inhibitor, protects against rat cardiac hypertrophy through upregulating cGMP signaling. *Acta pharmacologica Sinica* 2017; 38: 1257-1268. DOI: 10.1038/aps.2017.38.
81. Scott NJA, Rademaker MT, Charles CJ, et al. Hemodynamic, Hormonal, and Renal Actions of Phosphodiesterase-9 Inhibition in Experimental Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology* 2019; 74: 889-901. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.05.067>.
82. Scott NJA, Charles CJ, Prickett TCR, et al. Phosphodiesterase 9 Inhibition Combined With Valsartan and With Sacubitril/Valsartan in Experimental Ovine Heart Failure. *J Am Heart Assoc* 2024; 13: e036689. 20241122. DOI: 10.1161/jaha.124.036689.

83. Scott NJA, Prickett TCR, Charles CJ, et al. Augmentation of Natriuretic Peptide Bioactivity via Combined Inhibition of Neprilysin and Phosphodiesterase-9 in Heart Failure. *JACC Heart Fail* 2023; 11: 227-239. 20230111. DOI: 10.1016/j.jchf.2022.11.006.
84. Udelson JE, Surks H, Belohlavek J, et al. A phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled study to assess the tolerability and pharmacodynamic effects of CRD-740, a PDE9 inhibitor, in participants with chronic heart failure. *European heart journal* 2024; 45. DOI: 10.1093/eurheartj/ehae666.1081.

