



Válasz Prof. Dr. Szokodi István bírálatára

Nagyon szépen köszönöm Professzor Úr értekezésemről készített, minden részletre kiterjedő és nagyvonalú opponensi véleményét. Külön megtiszteltetés számomra, hogy kutatásaim tudományos és klinikai relevanciáját ilyen elismerő szavakkal illette.

Az alábbiakban tisztelettel válaszolok a bírálatban megfogalmazott kérdésekre:

1. A humán mintákon végzett in vitro mérések kapcsán (4.1–4.4. alfejezetek) tisztázandó, hogy az említett alfejezetek eredményei részben azonos beteganyagon elvégzett mérésekből származnak-e, vagy egymástól független kohorszokat képviselnek?

Válasz: A 4.1-4.4. alfejezetekben bemutatott eredmények részben azonos beteganyagon elvégzett mérésekből származnak, jelentős átfedéssel a kohorszok között. A kezdeti, HFrEF és HFpEF fenotípusokat összehasonlító tanulmányunk (4.1.) 44 betegének adatai alapul szolgáltak a későbbi, a diabétesz (4.2.) és a béta-blokkoló kezelés (4.3.) hatásait vizsgáló elemzésekhez is. A titin-specifikus molekuláris vizsgálatokhoz (4.4.) ugyanakkor ezen alapcsoportok egy reprezentatív alcsoportját használtuk fel, kiegészítve újabb kontroll és aorta sztenózis mintákkal a statisztikai erő növelése érdekében.

2. A 4.1. alfejezetben bemutatott mérések során - a passzív feszülés mellett - tapasztalt-e a Szerző szignifikáns különbséget a maximális aktív erő tekintetében a HFrEF és a HFpEF betegcsoportok között? Továbbá, a proteinkináz-A (PKA) kezelés miként befolyásolta ezt a paramétert az egyes csoportokban?

Válasz: A 4.1. alfejezet mérései során a maximális kalcium-aktivált izometriás erő ($F_{\text{aktív}}$) tekintetében nem találtunk szignifikáns különbséget a HFrEF és a HFpEF csoportok között. Bár a HFrEF-ben a miofibrilláris sűrűség alacsonyabb volt, a szarkomerek specifikus erőgeneráló képessége megmaradt. A PKA-kezelés szignifikánsan csökkentette a Ca^{2+} -érzékenységet, de nem volt szignifikáns hatással a maximális aktív erőre egyik csoportban sem.

3. A diabétesz mellett a hipertónia és az obezitás is eredményez-e karakterisztikus eltéréseket a HFrEF és HFpEF betegcsoportok kardiomiocitáinak funkcionális paramétereiben?

Válasz: Igen, a hipertónia és az obezitás karakterisztikus eltéréseket eredményez, különösen a HFpEF fenotípusban. A hipertónia a szívizomsejt-hipertrófia és a titin-izofорма váltás (N2B irányba) egyik fő mozgatórugója, míg az obezitás a szisztémás gyulladás fokozásán keresztül hozzájárul az endothel diszfunkcióhoz és a titin hipofoszforilációjához. Ezek a komorbiditások együttesen okozzák a szívizomsejtek fokozott passzív merevségét, ami a HFpEF egyik legfontosabb celluláris jellemzője.

4. A Jelölt eredményei alapján a membránfosztott szívizomsejteken a titin óriásfehérje merevebb, N2B izoformájának foszforilációs állapota meghatározó a passzív feszülés kialakulásában. Milyen összefüggés áll fenn a szívizom-hipertrófia típusa, mértéke, valamint



a passzív erő nagysága között? A kísérletek során a passzív erőt a preparátum keresztmetszetére normalizálták. Felmerül a kérdés: egy adott szarkomerhossz mellett a nagyobb sejtátmérővel rendelkező kardiomiociták arányosan vagy aránytalanul nagyobb passzív erővel rendelkeznek, amennyiben az értékeket a miofibrilláris denzitásra (vagy területre) normalizáljuk?

Válasz: HFpEF-ben a koncentrikus hipertrófia során a szívizomsejtek transzverzális növekedése dominál, ami a jelen vizsgálatunkban szoros korrelációt mutatott a passzív feszüléssel. Amennyiben az erőértékeket a miofibrilláris sűrűsége normalizálnánk, a HFpEF-ben tapasztalt magas passzív feszülés valószínűleg még kifejezettebb lenne a HFrEF-hez képest, mivel utóbbi csoportban a miofibrillumok részleges pusztulása miatt a "maradék" kontraktilis állományra nagyobb relatív terhelés jutna.

5. Szervi szinten a kardiomiociták titin-alapú passzív merevsége miként viszonyul a diasztolés funkciót meghatározó egyéb tényezőkhez, úgy, mint a miofilamentumok Ca^{2+} -szenzitivitásához, a mikrotubulus-rendszer biztosította viszkoelaszticitáshoz, az extracelluláris mátrix (ECM) összetételéhez, vagy a kamrai geometriához? Ezen tényezők miként hatnak kölcsön a diasztolé korai (gyors telődési), illetve késői (lassú telődési) fázisaiban?

Válasz: Szervi szinten a szívizomsejtek titin-alapú passzív feszülése ($F_{\text{passzív}}$) alapvető meghatározója a szívizom merevségének, és szoros korrelációt mutat az *in vivo* mért stiffness modulussal, különösen HFpEF fenotípusban. Míg a HFrEF-ben az extracelluláris mátrix (ECM) átépülése, a kollagénlerakódás és az AGEs felhalmozódása dominál, addig a HFpEF-ben a titin merev N2B izoformájának hipofoszforilációja miatti sejtmerevség válik meghatározóvá. A kamrai geometria, különösen a HFpEF-re jellemző koncentrikus hipertrófia, felerősíti ezeket a sejtszintű elváltozásokat, mivel a megnövekedett falvastagság tovább korlátozza a kamrai tágulékonyságot. A miofilamentumok fokozott Ca^{2+} -érzékenysége HFpEF-ben tónusosabb diasztolés állapotot eredményezhet, ami a passzív merevséggel összeadódva rontja a kamrai telődést. A diasztolé korai (gyors telődési) fázisában a titin molekuláris rugóként segíti a rugalmas visszacsapódást (elastic recoil), azonban kóros merevsége és a lassult aktív relaxáció együttesen gátolják ezt a folyamatot. Ezzel szemben a késői diasztolés fázisban a titin-alapú merevség és az extracelluláris mátrix fibrózisa együttesen szabnak határt a kamra tágulásának, amit HFpEF-ben a bal pitvar fokozott kontraktilitása próbál kompenzálni. Ezen tényezők komplex kölcsönhatása vezet a bal kamrai töltőnyomás megemelkedéséhez, ami a betegeknél terhelési intoleranciát és súlyos klinikai tüneteket okoz. Bár a mikrotubulus-rendszer viszkoelaszticitásban betöltött szerepét is vizsgálják, a források alapján HFpEF-ben jelenleg a titin-foszforiláció és a kollagénszerkezet közötti egyensúly tűnik a legmeghatározóbb terápiás célpontnak

6. A Szerző eredményei arra utalnak, hogy a HFpEF heterogén kórkép, amely különböző endofenotípusokból tevődik össze. Ezek kialakulásában - egyéb tényezők mellett - a titin foszforiláció, a miofilamentumok Ca^{2+} -érzékenysége, valamint az extracelluláris mátrix összetétele eltérő mértékben vesz részt, és e folyamatokat alapvetően a társbetegségek (komorbiditási profilok) határozzák meg. Felmerül a kérdés: az endofenotípusok pontosabb azonosítása lehetővé teszi-e a mechanizmus-specifikus, személyre szabott terápiák



alkalmazását? Véleménye szerint milyen mélységű fenotipizálásra lesz szükség a jövőben e cél elérése érdekében?

Válasz: Véleményem szerint HFpEF-ben az endofenotípusok azonosítása kulcsfontosságú mind a kórkép diagnózisában, mind a személyre szabott kezelésében. A jövőben olyan mélységű fenotipizálásra lesz szükség, amely kombinálja a betegek klinikai jellemzőit, specifikus biomarkereket, figyelembe veszi a kardiovaszkuláris és nem kardiovaszkuláris társbetegségeket, a multimodális képalkotás (pl. echocardiographiás vagy MRI-strain, munkaindex paraméterek, nyugalmi és terheléses vizsgálatok) és az invazív (pl. jobb szívfél (Swan-Ganz) katéterezés) hemodinamikai vizsgálatok során meghatározott paramétereket, valamint speciális esetekben (pl. HFpEF „mimickers”) akár a szívizom biopsziás eredményeket. Ez lehetővé tenné a profil-specifikus kezelést (pl. fibrózis-domináns profil esetén antifibrotikus szerek (MRA-k), titin-merevség esetén PKG-aktivátorok, pulmonális hypertóniás (PH) fenotípus esetén foszfodiészteráz gátlók vagy orális levosimendan alkalmazását).

7. A miofilamentális fehérjék oxidatív módosulásai kapcsán megjegyzendő, hogy a mieloperoxidáz által termelt hipoklórossav (HOCl) lényegesen reaktívabb ágens, mint a hidrogén-peroxid (H₂O₂). Tisztázandó, hogy a H₂O₂-vel összevetve mekkora a HOCl diffúziós távolsága a termelődés helyétől sejtszinten? Képes-e a HOCl átjutni a sejtmembránokon, és behatolni az intracelluláris kompartmentekbe? Továbbá, az in vitro alkalmazott koncentrációk miként viszonyulnak a lokális in vivo szintekhez? Összességében: vajon az extracellulárisan (például neutrofil granulociták által) termelt HOCl eljut-e a kontraktilis fehérjékig?

Válasz: A mieloperoxidáz (MPO) által termelt hipoklórossav (HOCl) a hidrogén-peroxidnál (H₂O₂) lényegesen reaktívabb és toxikusabb ágens, emiatt azonban élettartama rövidebb, sejtszintű diffúziós távolsága pedig korlátozottabb. Bár a H₂O₂ stabilabb és jól ismert módon membránpermeabilis, az irodalmi források megerősítik, hogy a HOCl is képes áthatolni a sejtmembránokon, és bejutni az intracelluláris térbe. *In vivo* körülmények között gyulladt szövetekben a lokális HOCl koncentráció elérheti akár az 5 mM-os szintet is, míg a kísérletekben alkalmazott mikromoláris dózisok a patológiás állapotok releváns modelljeinek tekinthetők. A vizsgálatok egyértelműen igazolták, hogy az extracellulárisan (például neutrofil granulociták által) termelt HOCl eljut a kontraktilis fehérjékig, ahol direkt oxidatív módosításokat okoz. A kezelés hatására csökken az aktin szulfhidril-csoport tartalma, valamint fokozódik az aktin és a MyBP-C karbonilációja. Ezen molekuláris változások közvetlen következménye a szívizomsejtek aktív erőgenerálásának csökkenése és a passzív merevség jelentős növekedése, ami aláátamasztja a HOCl mélyreható sejtszintű károsító hatását. Az MPO-gátlók vagy antioxidánsok alkalmazása képes kivédeni ezeket a funkcionális károsodásokat, megerősítve, hogy a folyamatért az enzim klorinációs aktivitása a felelős.

8. Mivel magyarázható az a váratlan eredmény, miszerint az ovariektomizált állatok kardiomiocitáinak keresztmetszete jelentősen kisebb volt a kontrollcsoportéhoz képest? Miként egyeztethető össze ez a megfigyelés az ösztrogén szakirodalomból ismert antihipertrófiás hatásával?



Válasz: Valóban váratlan eredmény volt, hogy az OVX patkányok szívmusclejének keresztmetszete kisebb volt a kontrollnál. Ez látszólag ellentmond az ösztrogén antihipertrófiás hatásának. A jelenség magyarázata a kísérlet időbeliségében rejlik: az ovariectomia utáni 16. héten a krónikus ösztrogénhiány miatti szisztémás változások (pl. megváltozott anyagcsere, progeszteron-válasz) olyan komplex kórfolyamatot indíthattak el, amely ebben a stádiumban még nem a klasszikus hipertrófiában, hanem a sejtek funkcionális remodellációjában nyilvánult meg.

9. *Hogyan befolyásolja a szívmuscle-miozin-aktivátor danicamtiv az ATP-igényt és az energiahatékonyságot a szarkomerek, a kardiomiociták, valamint az egész szív szintjén? HFrEF esetén miként módosítja a szer a már eleve energiahányos szívmuscle metabolikus igényeit, figyelembe véve a szívfrekvencia, valamint a különböző elő- és utóterhelési viszonyok (preload és afterload) hatásait is?*

Válasz: A miozin-aktivátorok, így a danicamtiv hatása az ATP-igényre és az energiahatékonyságra alapvetően eltér a hagyományos pozitív inotróp szerektől. A danicamtiv elvileg nem növeli a szívciklus alatti össz-ATP-igényt, mivel a Ca^{2+} -mobilizációt nem befolyásolja. A szarkomer szintjén a szer közvetlenül a kardiális miozinhoz kötődve fokozza az erőgenerálást anélkül, hogy növelné az intracelluláris kalciumszintet, így megspórolja a Ca^{2+} visszapumpáláshoz szükséges ATP-t. A szívmuscle sejtek szintjén szintjén a danicamtiv jelentősen megnyújtja a kontrakció időtartamát (SET) és lassítja az összehúzódás, illetve az elernyedés kinetikáját. Az egész szív szintjén a megnyúlt szisztolé miatt a diasztolé időtartama lerövidül, ami korlátozhatja a koronária-perfúziót. HFrEF esetén az eleve energiahányos szívben ez a rövidülő diasztolés idő fokozhatja a miokardiális iszkémia kockázatát és troponin kiáramláshoz vezethet. A szer javítja a szisztolés paramétereket (BKEF, SV, CO) és a bal kamrai straint, de mindezt a diasztolés funkció romlásának árán teszi. A danicamtiv növeli a pitvari kontraktilitást, ami segít kompenzálni a kamrai diasztolés merevséget és segíti az előterhelés (preload) hatékonyabb kihasználását. A szívfrekvenciát a szer nem befolyásolja, így a metabolikus többletigény nem a frekvencia növekedéséből, hanem a megnyúlt aktív kontrakcióból adódik. Bár a szer hatásmechanizmusa elméletileg energiahatékony, a „luzitrop költség” (iszkémiás rizikó a rövidülő diasztolé miatt) HFrEF-ben korlátozhatja a klinikai alkalmazhatóságot. Ezért a szer alkalmazásakor a preload/afterload viszonyok és a szérumszint szoros monitorozása elengedhetetlen.

Még egyszer nagyon szépen köszönöm Professzor Úr építő jellegű kérdéseit, melyek lehetőséget adtak eredményeim mélyebb összefüggéseinek megvilágítására.

Tisztelettel,


Dr. Borbély Attila
Debreceni Egyetem, ÁOK
Kardiológiai Intézet

Debrecen, 2026. február 9.