

Opponensi vélemény

Borbély Attila

„A diasztolés diszfunkció kialakulását meghatározó miokardiális változások a szívelégtelenség különböző klinikai formáiban”

című MTA doktori értekezéséről

Általános értékelés:

Borbély Attila kutatásainak fókuszában a kontrakció-relaxáció folyamatában bekövetkező változások feltárása állt, elsősorban celluláris szinten, izolált kardiomiocitákon végzett mérésekre alapozva, komplex patofiziológiai körülmények között. Kiemelt figyelmet fordított annak vizsgálatára, hogy milyen funkcionális eltérések jellemzik a humán szívmusclesejteket csökkent ejekciós frakciójú (HFrEF), illetve a megtartott ejekciós frakciójú (HFpEF) szívelégtelenségben, valamint arra, hogy e heterogén betegcsoportokban milyen jellegzetes különbségek lépnek fel a különböző társbetegségek jelenlétében. Előremutató vizsgálatokat végzett továbbá az innovatív, szívmuscle-specifikus miozinaktivátorok hatásmechanizmusának *in vitro* és *in vivo* körülmények között történő jellemzésére. A Jelölt a modern kardiológia alapvető, megoldásra váró kérdéseire keres választ; témaválasztásának indokoltsága és időszerűsége vitán felül áll. Kiemelendő, hogy céljai eléréséhez széles módszertani bázist alkalmaz, és eredményei jelentős tudományos és klinikai relevanciával bírnak.

Formai szempontok:

Az értekezés 109 oldalnyi, magyar nyelven írott szövegből áll, az érdemi rész 82 oldalt tesz ki, melyet 174 jól válogatott irodalmi hivatkozás egészít ki. A disszertáció megértését 46 ábra és 3 táblázat segíti elő. Az értekezés logikusan szerkesztett, belső arányai megfelelőek, fejezetei kellő gondossággal íródtak, kivitelezése szemre tetszetős. Az értekezés nyelvezete gördülékeny, az előforduló gépelési hibák a disszertáció megértését érdemben nem befolyásolják, ezekre külön nem térek ki.

Tartalmi szempontok:

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

Szcientometriai szempontok:

A benyújtott értekezéshez 8 *in extenso*, eredeti, nemzetközi közlemény kapcsolódik közvetlenül a 2006 és 2023 közötti időszakból. A közlemények közül a Jelölt 1 esetben első szerző, míg 4 esetben utolsó szerző. Az értekezésben felhasznált közlemények a kardiológia legrangosabb

nemzetközi folyóirataiban jelentek meg, mint a *Circulation*, *European Heart Journal*, valamint a *Circulation Research*. Ezen publikációk összesített impakt faktora 59,7, melyekre 1340 független citáció érkezett, a legmagasabb idézettségű közleménye 548 hivatkozással rendelkezik. Az értekezés benyújtásáig a Jelölt 64 publikációt jegyzett, publikációinak összesített impakt faktora 209,3, a független hivatkozások száma 4779, Hirsch-indexe 23. Megállapítható, hogy a Jelölt egyértelműen megfelel az MTA Doktori Szabályzatában megfogalmazott, valamint az Orvosi Tudományok Osztálya által támasztott követelményeknek.

Az MTA doktori értekezés részletes bírálata:

Bevezetés és célkitűzések:

A Jelölt világosan, információ-gazdag módon, ugyanakkor kellő önmérsékletet gyakorolva foglalja össze a szívelégtelenség igen terjedelmes nemzetközi irodalmát. A fejezet koherens ívet rajzol a kórkép definíciójától és aktuális epidemiológiai adataitól kezdve a klinikai és társadalmi jelentőség részletezéséig. Kiemelt figyelmet szentel a két alapvető forma, a HFrEF és a HFpEF elkülönítésének, részletesen bemutatva azok eltérő etiológiáját, patofiziológiáját és hemodinamikai sajátosságait, kitérve a jelenleg alkalmazott gyógyszeres terápiákra is.

A Szerző mélyrehatóan tárgyalja a szívizomzatban bekövetkező strukturális és funkcionális változásokat a szívelégtelenség kialakulása és progressziója során, különös tekintettel a kontraktilitást meghatározó tényezőkre. E folyamatok elemzésekor a Jelölt kitér a női nem és a stressz kardiovaszkuláris kockázatot módosító szerepére is. Meggyőző tudományos alapossággal ismerteti a miofilamentális fehérjék transzkripciós és poszttranszlációs módosulásait, integrálva saját – korábbi kutatási fázisából származó – eredményeit is.

Külön alfejezet foglalkozik a mieloperoxidáz enzim szerepével és a szívizom kontraktilis rendszerét érintő oxidatív fehérjekárosodásokkal, amelyek alapvető fontosságúak a kórfolyamatok mechanizmus-szintű megértéséhez. Végezetül a munka bemutatja a szív pumpafunkciójának javítását célzó új, innovatív lehetőséget, a miozinaktivátorok alkalmazásának elméleti hátterét és jelentőségét. E témák szisztematikus ismertetése során fogalmazza meg a szerző a megválaszolásra váró fő tudományos kérdéseit, valamint jelöli ki az értekezés mértéktartó és világos célkitűzéseit.

Módszerek:

A választott modern módszertan rendkívül széles metodikai bázison nyugszik, melyet a Szerző magas színvonalon alkalmazott. A kísérleti munka alapját a különböző fajokból (humán, patkány, kutya) származó szívizomminták képezik, amelyek lehetővé tették a kórfolyamatok többoldalú vizsgálatát.

A metodikai arzenál gerincét az izolált, membránfosztott szívizomsejteken végzett funkcionális mérések alkotják, kiegészítve az ép sejtmembránnal rendelkező kardiomiocitákon történt Ca^{2+} -szint változások és a szarkomerhossz-rövidülések egyidejű regisztrálásával. A Szerző nagy hangsúlyt fektetett a strukturális alapok feltárására is, amelyet fény- és elektronmikroszkópos kvantitatív hisztomorfometriával végzett el.

A molekuláris szintű elemzések során a Jelölt részletesen vizsgálta a miofilamentális fehérjék és a titin izoforma-összetételét, valamint azok foszforilációs állapotát. Külön kiemelendő az oxidatív fehérjekárosodások (SH-oxidáció, karboniláció) precíz meghatározása, valamint a mieloperoxidáz klorinációs és peroxidáz aktivitásának mérése, amelyek kulcsfontosságúak a mechanizmus-szintű következtetések levonásához.

A patkánymodellen nyert sejtszintű eredményeket *in vivo* végzett vizsgálatok validálják, ahol a konvencionális és strain echokardiográfia, valamint az elektrokardiográfia biztosította a fenotípus alapos jellemzését. Az adatok feldolgozását minden esetben adekvát statisztikai elemzés követte.

Eredmények és megbeszélés:

Az eredmények bemutatása logikus felépítésű; a szöveges részhez kapcsolódó ábrák világosan szerkesztettek, és alapvető segítséget nyújtanak a megállapítások értelmezéséhez. Az egyes alfejezetek végén a Jelölt a kapott eredményeket magas színvonalon taglalja, azokat kritikusan, számos szempontot mérlegelve elemzi.

Kiemelendő, hogy a bemutatott eredmények közvetlen hatást gyakorolnak a klinikai gyakorlatra. A HFpEF hátterében álló, eddig kevésbé ismert patomechanizmusok, valamint a diasztolés funkciót befolyásoló tényezők alapos feltárása hiánypótló irodalmi adatokkal szolgált a szakterület számára. Emellett a miozinaktivátorok alkalmazásából adódó, a diasztolés funkciót potenciálisan korlátozó hatások felismerése meghatározó jelentőségű. E megfigyelések közvetlen módon járulnak hozzá a szívelégtelenség jövőbeli, személyre szabott kezelési stratégiáinak kidolgozásához, így a munka tudományos és gyakorlati relevanciája egyaránt kimagasló.

Új tudományos eredmények összegzése:

A Jelölt 8 alpontba szedve foglalja össze az értekezés legfontosabb észleléseit.

A Jelölt önálló, új tudományos eredményeiként a következőket fogadom el:

1. Membránfosztott humán kardiomiocitákon nyert eredményei alapján, míg a HFrEF-ben észlelhető kontraktilitási defektus hátterében az alacsonyabb miofibrilláris sűrűség és a csökkent miofilamentális Ca^{2+} -érzékenység áll, addig HFpEF-ben a kardiomiocita-hipertrófia, a fokozott passzív feszülés és a megnövekedett Ca^{2+} -szenzitivitás együttesen járul hozzá a diasztolés diszfunkció (kóros relaxáció és csökkent tágulékonyság) kialakulásához.
2. Kimutatta, hogy a miokardiális fibrózis, a kardiomiociták fokozott passzív feszülése, a glikációs végtermékek (AGEs) felhalmozódása és az endotél diszfunkció együttesen, de eltérő mértékben járulnak hozzá a diabéteszes HFrEF és HFpEF kórfolyamatához. Míg HFrEF-ben elsősorban a fibrózis és az AGE-lerakódás dominál, addig HFpEF-ben a hipertrófiás szívműködő sejtek kórosan emelkedett passzív feszülése játszik meghatározó szerepet a kamrafunkció megváltozásában.
3. Leírta a β -adrenerg jelátviteli útvonal és a celluláris Ca^{2+} -homeosztázis fenotípus-specifikus módosulásait, ami mechanisztikus magyarázatot ad arra, hogy a β -blokkolók terápiás hatékonysága miért csekélyebb HFpEF-ben a HFrEF-hez képest.
4. Igazolta, hogy a merevebb N2B titin-izóforma alacsony foszforilációs szintje kulcsszerepet játszik a szívelégtelen betegek kardiomiocitáira jellemző, kórosan emelkedett passzív feszülés kialakulásában.
5. Leírta, hogy a mieloperoxidáz hatására képződő oxidánsok csökkentik a szívműködő sejtek aktív erőgenerálását és a miofilamentumok Ca^{2+} -érzékenységét, ugyanakkor növelik a passzív feszülést. Igazolta továbbá, hogy ezen elváltozások az enzim klorinációs aktivitására vezethetők vissza.

6. Igazolta, hogy az akut stressz kiváltotta progeszteronszint-emelkedés mind intakt, mind ovariectomizált állatokban a miofilamentális Ca^{2+} -érzékenység csökkenésével jár együtt. Ezzel párhuzamosan megállapította, hogy ösztrogénhiányban a szívizom-specifikus miozin-kötő C-fehérje (cMyBP-C) fokozott foszforilációja növeli a kardiomiociták Ca^{2+} -aktivált erőgenerálását.
7. Megállapította, hogy izolált, intakt membránú kutya szívizomsejteken a miozinaktivátor omecamtiv mecarbil (OM) – változatlan Ca^{2+} -tranziensek mellett – fokozta a kontrakciós erőt, mely döntően a kontrakciós idő megnyúlásának tulajdonítható. Igazolta továbbá, hogy a relaxáció már alacsony OM-koncentrációk mellett is károsodott.
8. Igazolta, hogy a direkt szívizommiozin-aktivátor danicamtiv *in vivo*, egészséges patkánymodellen jelentősen fokozta a bal kamra szisztolés funkcióját a szisztolés ejekciós idő megnyújtása révén. Ezzel párhuzamosan, a szer mérsékelten rontotta a diasztolés funkciót, és kedvezőtlenül módosította a diasztolés és szisztolés időtartamok arányát.

A következő kérdéseket kívánom intézni a Jelölthöz:

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?
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?
3. A diabétesz mellett a hipertónia és az obezitás is eredményez-e karakterisztikus eltéréseket a HFrEF és HFpEF betegcsoportok kardiomiocitáinak funkcionális paramétereiben?
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 sejtmérettel rendelkező kardiomiociták arányosan vagy aránytalanul nagyobb passzív erővel rendelkeznek, amennyiben az értékeket a miofibrilláris denzitásra (vagy területre) normalizáljuk?
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 diasztolés korai (gyors telődési), illetve késői (lassú telődési) fázisaiban?
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?

7. A miofilamentális fehérjék oxidatív módosulásai kapcsán megjegyzendő, hogy a mieloperoxidáz által termelt hipoklórossav (HOCl) lényegesen reaktívabb ágens, mint a hidrogén-peroxid (H_2O_2). Tisztázandó, hogy a H_2O_2 -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?
8. Mivel magyarázható az a váratlan eredmény, miszerint az ovariectomizált állatok kardiomiocitáinak keresztmetszete jelentősen kisebb volt a kontrollcsoportéhoz képest? Miként egyeztethető össze ez a megfigyelés az ösztrogén szakirodalomból ismert antihipertrófiás hatásával?
9. Hogyan befolyásolja a szívizommiozin-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 szívizom metabolikus igényeit, figyelembe véve a szívfrekvencia, valamint a különböző elő- és utóterhelési viszonyok (preload és afterload) hatásait is?

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

Pécs, 2026. január 29.



Dr. Szokodi István
az MTA doktora