

Válasz Prof. Dr. Hunyady Béla opponensi bírálói véleményére

Mindenekelőtt szeretném megköszönni Professzor Úrnak, hogy elvállalta MTA doktori értekezésem bírálatát. Szintén köszönöm pozitív, dicsérő szavait, illetve építő jellegű kritikáit és javaslatait.

A kritikai megjegyzésekre az alábbiakban válaszolnék:

Formai észrevételek

Teljes mértékben megértem Professzor Úr észrevételét, mely szerint a nem triviális rövidítések használata valamelyest megnehezíti a bíráló/olvasó feladatát. A rövidítések jegyzékében a félreértések elkerülése végett a triviális (pl. ATP, ASAT, EDTA, *i.m.*, *i.p.*, *i.v.*, *s.c.*, SDS) és nem triviális rövidítéseket is összegyűjtöttem. A nem triviális rövidítések számát igyekeztem a minimálisra korlátozni. Az 57 db. rövidítés valamivel kevesebb, mint fele triviális rövidítés, így ez a szám talán nem túlzó egy 141 oldalas dolgozat esetén. Mindezek mellett - ahogy azt Ön is említi - minden rövidítést igyekeztem szerepeltetni a rövidítések jegyzékében.

Sajnálom, hogy egyes esetekben túlságosan összetettre sikerültek az ábrák. Ez nyilván a kísérletek komplexitásából is adódik. Mindenesetre egyetértek Professzor Úrral abban, hogy valamivel egyszerűbben is megoldhattam volna a jelzett ábrák magyarázatát.

Az ábra magyarázatban használt rövidítéseket illetően igyekeztem azt a közleményeknél is elfogadott szabályt alkalmazni, hogy a rövidítéseket első előfordulásakor kiírom, és utána konzekvensen azokat használom a többi legendában is. Elismerem, hogy olykor ez nehezebben követhető a bíráló/olvasó számára. A 24. ábra B-F panelein a jobb oldali ordináta valóban hiányzik. A jobb oldali ordináta megegyezik az A panelen látható tengellyel.

Tartalmi észrevételek

1) Az eszközök specifikációját tekintve valóban lehettem volna egy kicsit körültekintőbb. Védelmemre szólva számos eszköz specifikációja a hosszú évek során változott (pl. mikroszkópok, molekuláris biológiai eszközök esetén), így nem is lett volna korrekt egy konkrét műszertípus megnevezése. Azt, hogy a vizsgálatokat hol és kik végezték el, előadásomban részletesen be fogom mutatni. Azt azonban elmondhatom, hogy a

mikroszkópos vizsgálatokat a pathológiás elváltozások kiértékelésében jártas kollégáim (Prof. Dr. Iványi Béla, Dr. Dósa Sándor, Dr. Berczi Sándor és Dr. Jármay Katalin) végezték el.

2) Köszönöm szépen megjegyzését. Professzor Úrnak teljesen igaza van abban, hogy indokolt lett volna néhány más munkahelyen dolgozó magyar kolléga munkáját is idézni a dolgozatban. Talán túlságosan is csak az állatkísérletes munkákra koncentráltam. A szegedi munkacsoport mindig is törekedett a magyar pancreatológusok összefogására (ld. pl. Magyar Hasnyálmirigy Munkacsoport szervezése), így magam is elég szerencsétlennek érzem a kitűnő magyar klinikusok említésének hiányát.

3) A pancreas mitokondriumok izolálásának menete kritikus kérdés, úgy gondolom, erre nagyszerűen ráértett a tisztelt bíráló. Odínokova és mtsai. (Gut 2009; 58: 431-442) alapvetően a pancreas szövet homogenizálási folyamatát változtatták meg, ami drámaian befolyásolta a kísérletek eredményeit. Wilson és mtsai. (J Lab Clin Med 1986; 107:51-58) a homogenizáló oldatban 1 mM EDTA-t használtak, ami a Ca^{2+} iont és a Mg^{2+} iont is megköti. A pancreatikus mitokondriumoknak ugyanakkor szükségük van Mg^{2+} -ra, viszont már mikromoláris Ca^{2+} koncentrációkra is membrán depolarizációval válaszoltak. Éppen ezért Odínokova és mtsai. kihagyták a homogenizáló oldatból a mitokondriális depolarizáció gátló dibucaine-t, és EDTA helyett EGTA-t használtak ugyanolyan koncentrációban. Az EGTA a Ca^{2+} -t megköti, a Mg^{2+} -t viszont nem. Fontos megemlíteni, hogy 1 mM EGTA hiányában a pancreasból izolált mitokondriumok membránpotenciálja instabil, a respirációja gátolt volt. Ilyen hatást a máj mitokondriumok esetén nem figyeltek meg. Odínokova és mtsai. a homogenizálást Wilsonéhoz hasonlóan Potterrel végezték, lassabb fordulatszámot (600 vs. 1600 fordulat/perc) használtak, majd az azt követő centrifugálás is valamivel kisebb fordulatszámon történt (850 vs. 2000 g).

4) A bázikus aminosavak közül a hosszú szénláncú (alifás) bázikus aminosavak váltanak ki nagy dózisban akut pancreatitist. Az L-citrullin 2,9 g/kg dózisban adva nem okoz betegséget. Nem teljesen világos, hogy ez miért van így. Az L-citrullin neutrális pH-n nem bázikus karakterű, bár önmagában a bázikus tulajdonság nem elég a pancreatitis kiváltásához (ld. pl. L-hisztidin esete). Sokkal könnyebb magyarázatot találni az L-hisztidin és a D-ornitin hatástalanságára. Az előbbi aminosav a legkevésbé bázikus a bázikus aminosavak közül, ráadásul egy cirkuláris struktúrával rendelkezik. A D-aminosav pedig valószínűleg nem tud bejutni a sejtbe, hiszen a bázikus aminosav transzporterek szelektívek az L izoformákra. A

humán relevanciát illetően azt tudom mondani, hogy ilyen nagy dózisban az ember nem fogyaszt aminosavakat. A mitokondriális károsodást valószínűleg más faktorok hozhatják létre (mint pl. az epesavak). Mindenesetre azt is fontos megemlíteni, hogy a humán betegséget kiváltó kórokokat tekintve (epekövesség és alkoholfogyasztás) nem/sem áll rendelkezésre jó állatmodell.

5) A kérdésselvetés teljesen jogos. A bázikus aminosavakat a nekrotizáló kórforma, a cholecystokinint pedig az enyhe ödémás pancreatitis kiváltására használtuk aszerint, hogy éppen milyen súlyosságú betegséget akartunk vizsgálni. Több esetben fontosnak éreztük azt is megvizsgálni, hogy az egyes patogenezisben résztvevő kórfolyamatok mennyire jellemzőek általában a betegségre, vagy mennyire az adott modellre.

6) Rendkívül érdekes felfedezés volt a máj és a pancreas mitokondriumainak érzékenységi eltérései. Mindkét szerv komoly fehérjeszintetizáló kapacitással rendelkezik, amihez igen sok energia szükséges. Az érzékenységi különbségnek valószínűleg strukturális okai lehetnek, de ennek részleteire kevés irodalmi adat áll rendelkezésre. Ismert, hogy a máj és a pancreas mitokondriumok által mediált sejthalál utak különbözőek lehetnek (Odinokova és mtsai. Gut 2009; 58:431-442). Azt sem szabad elfelejteni, hogy a pancreas sok emésztőenzimet tartalmaz. Ezen kísérletek humán relevanciát nagyon nehéz megítélni. A bázikus aminosavak a szervezetben valószínűleg nem érnek el ilyen magas koncentrációt. Ennek ellenére azt mondom, hogy egyéb faktorok vonatkozásában is fontos lehet ez az érzékenységbeli különbség. Fentebb már említettem pl. a máj és a pancreas mitokondriumok Ca^{2+} -ra való érzékenységét.

7) Az AIHA egy arginázgátló vegyület. Mivel az argináz az urea ciklus egyik kulcs enzime, így a gátlószerek esetén mindenképpen felmerül a potenciális toxicitás problémaköre. Az AIHA alkalmazása során vizsgálatainkban pancreaticus HSP72 expresszió fokozódást találtunk, ami felveti a vegyület potenciális stresszor hatását. Az irodalomból nem ismerek olyan argináz gátlót, ami a humán akut pancreatitis terápiájára is alkalmas lehet. Meg kell jegyezni, hogy kísérleti jelleggel a tumor terápiában használják a rekombináns arginázokat (pl. ld. Lam és mtsai. Cancer Lett. 2009; 277:91-100). Ezek az enzimek az L-arginin lebontását katalizálják, amely a tumorsejtek citotoxicitásához vezet.

8) A legtöbb kísérletes akut pancreatitis tanulmány esetén a terápiás próbálkozások során a különféle vegyületeket előkezelésben adják. Emberekben a profilaktikus alkalmazásra csak a iatrogén úton kiváltott betegség (pl. ERCP-indukálta pancreatitis) esetén van lehetőség.

A methylprednisolon hatását a kísérletes akut pancreatitis kialakulása után nem vizsgáltuk. Irodalmi adatok szerint a szteroidok alkalmazása nem sokkal az experimentális akut pancreatitis kiváltása után többnyire még jótékony hatással bír a specifikus NF- κ B inhibitor PN50 peptidhez hasonlóan (Letoha és mtsai. World J Gastroenterol. 2005; 11:990-999). A gyógyszeres kezelés kezdetének időzítése azonban minden bizonnyal kulcskérdés. Ha az akut pancreatitis kapcsán beindul a szisztémás gyulladási kaszkád kialakulása, akkor abba már nagyon nehéz beavatkozni, mert ez egy öngerjesztő folyamat. Talán ez az egyik oka, hogy az akut pancreatitis kezelése a mai napig nem megoldott.

Végezetül ismét szeretném megköszönni Professzor Úr értékes bírálatát. Köszönöm, hogy a nyilvános védés kitűzését javasolta. Egyúttal kérem Professzor Urat válaszaim elfogadására.

Szeged, 2012-12-10

Tisztelettel:

Dr. Rakonczay Zoltán
tudományos főmunkatárs