

A SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM

MULTIDISZCIPLINÁRIS ORVOSTUDOMÁNYI

DOKTORI ISKOLÁJÁNAK

KÉPZÉSI TERVE

Vezető: **Dr. Dux László**
tanszékvezető egyetemi tanár, MTA doktora
Tel.: 62-545-096
e-mail: dux.laszlo@med.u-szeged.hu
SZTE ÁOK Biokémiai Intézet

Helyettes: **Dr. Varró András**
tanszékvezető egyetemi tanár, MTA doktora
Tel.: 62-545-682
e-mail: varro.andras@med.u-szeged.hu
SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

2014

A KÉPZÉSI PROGRAM OKTATÁSI ÉS KUTATÁSI SZERKEZETE ÉS FŐBB SAJÁTOSSÁGAI

I. Az I. SZ. KÉPZÉSI PROGRAM ÁLTALÁNOS ISMERTETÉSE

1. OKTATÁS

A doktori iskola I. képzési programjának alapvető oktatási célkitűzése, hogy a doktoranduszoknak lehetőséget nyújtson a szív-érrendszer ill. a kardiorespiratorikus rendszer élet- és kórtanára, klinikumára, experimentális és klinikai farmakológiájára vonatkozó elméleti és gyakorlati tudásuk elmélyítésére, olyan készségek kialakítására, amelyek révén későbbi pályafutásuk során folyamatosan követhetik, elsajátíthatják és alkalmazhatják az ezen a téren különösen nagy ütemben bővülő újabb ismereteket. Ebben a tekintetben az érdeklődő doktorandusz számára speciális motivációt és kihívást jelenthet az a körülmény, hogy a civilizált országokban a halálozási statisztikák élén a szív- és az érrendszer megbetegedései állnak.

A képzési program **mindhárom témacsoportjában** szereplő doktoranduszok számára **kötelező** kurzusokra kerül sor az alábbiak szerint:

- Könyvtári alapismeretek
- Számítógépes alapismeretek
- Biostatisztika
- A tudományos kutatás etikai kérdései
- Publikációs ismeretek, a tudományos közlés módszertana
- Állatkísérletek az orvostudományban

Ezenfelül az **egyes témacsoportok további kötelező és alternatív** előadások és gyakorlatok látogatását írják elő. Ezek a következők:

I/1 témacsoport

Kísérletes kardiológia és szív-érrendszeri farmakológia

(Programvezető: Dr.Varró András, tanszékvezető egyetemi tanár, SZTE ÁOK Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Tel.: 62-545-682)

Kötelező előadások és tematikájuk

Előadók: Dr.Papp Gyula, Dr.Varró András, Dr.Végh Ágnes, Dr.Leprán István

Szív-érrendszeri farmakológia

A gyógyszerek szívhatásának kórélettani alapjai. A szívfrekvencia és a szívritmus zavarai. Késleltetett utópoteenciál. Önújraingerlődés. Kóros pacemaker aktivitás. Ingerületvezetési zavarok, blokkok. A kóros kontraktilitás. A Frank-Starling törvény, elő- és utóterhelés, nyomásviszonyok, oedema-képződés szívelégtelenségben. A pitvari natriuretikus peptid. A szív oxigén-ellátásának zavarai, koronária-elégtelenség, angina pectoris, myocardialis infarctus. Fizikai, idegi és humorális tényezők szerepe a koronáriák kóros szabályozásában.

A szívműködésre ható gyógyszerek és endogén anyagok. Direkt hatású szerek. Autonóm transzmitterek és hatásukat befolyásoló anyagok. Szívglykozidok és egyéb inotrop szerek. Antiarrhythmiás szerek: hatásmechanizmus, klasszifikáció és reklaszifikációs

kísérletek. Antianginás szerek: nitrátok, nitrát-tolerancia, calcium antagonisták. Egyéb szerek: methylxanthinok, adnozin-származékok, hisztamin, glukagon.

A gyógyszerek érhatásának kóreléttani alapjai. Az érsimaizomzat kontrakciójának és relaxációjának zavarai: az intracelluláris calcium szerepe. Az érendothelium működés-zavara: prostacyclin, thromboxan, EDRF-NO, endothelinek szerepe.

A vasoaktív gyógyszerek és egyéb anyagok. Direkt simaizom-hatású és indirekt úton ható szerek klasszifikációja. Vazokonstriktorok: szimpatomimetikumok eicosanoidok, peptidek (endothelin, angiotenzin, vazopressin). Ergot alkaloidok, adrenerg β -receptor gátlók, szívglikozidok vazokonstriktor hatásai. Direkt vazodilatátorok: calcium antagonisták, kálium csatorna aktiválók, intracelluláris ciklikus nukleotid szint növelés és vazodilatáció, egyéb vazodilatátorok (hydralazin, ethanol). Indirekt vazodilatátorok: szimpatikus aktiváció gátlók, renin-angiotenzin rendszerre ható szerek (renin-antagonisták, ACE és NEP inhibitorok, angiotenzin II receptor antagonisták). A vazodilatátorok klinikai alkalmazása: hipertonia, angina pectoris, szívelégtelenség, perifériás érbántalmak. Shock, hypotenzív állapotok és vasoaktív szerek.

Alternatív előadások, gyakorlatok és tematikájuk

1) Celluláris és szubcelluláris mechanizmusok a kardioaktív szerek szívhatásaiban

Előadó: Dr. Papp Gyula egyetemi tanár, akadémikus (Tel.:62-545-681, e-mail: papp.gyula@med.u-szeged.hu)

Előadások tematikája:

- (a) Elektrofiziológiai alapfogalmak, nyugalmi potenciál, akciós potenciál, ingerületvezetés, elektrofiziológiai mérések.
- (b) A szív akciós potenciáljai és a szív ioncsatornáinak működése.
- (c) Az antiaritmiás szerek osztályozása, az antiaritmiás szerek szívelektrofiziológiai hatásai; az antiaritmiás szerek hatásai az akciós potenciálra és a szív ionáramaira.
- (d) A pozitív inotróp szerek osztályozása, a pozitív inotróp szerek szívelektrofiziológiai hatásai; a pozitív inotróp szerek hatásai az akciós potenciálra és a szív ionáramaira.

Gyakorlatok tematikája: izolált szervi készítmények készítése, vizsgálatok (sinus, A-V csomó, Purkinje rostok automatizációja, pitvari és kamrai elektrofiziológiai mérések, jobb kamrai papilláris izom kontraktilitásának mérése)

2) Endogén protektív hatású anyagok szerepe a szív pathológiás állapotaiban

Előadó: Dr. Végh Ágnes, az orvostudomány doktora, egyetemi tanár

Előadások tematikája:

- (a) A szív iszkémiás megbetegedése. Metabolikus, elektrofiziológiai, hemodinamikai és kontraktilitás változások a szívizom iszkémia során.
- (b) A szív iszkémiás károsodáshoz való adaptációjának lehetősége - az iszkémiás prekondicionálás, miokardiális stunning, hibernáció fogalma, jellemzői. A korai és késői védőhatás jellemzői.
- (c) "Endogén protektív hatású anyagok" (prosztaciklin, bradikinin, nitrogén oxid, adozin) szerepe a szív adaptációs folyamataiban.
- (d) A szív adaptációs folyamatainak manifesztációja a klinikai gyakorlatban ("warm-up" és "walking through" jelenségek, instabil angina). A prekondicionálás alkalmazhatóságának lehetőségei a klinikai gyakorlatban (a prekondicionálás alkalmazása a szívsebészetben és a PTCA során).

- (e) A nitrogén monoxid szerepe a szív különböző patológiás állapotaiban (iszkémia, szívelégtelenség, hyperkoleszterolémia, diabetes, endotoxin shock)
- (f) Az iszkémiás prekondicionálás, miokardiális stunning és hibernáció feltételezett mechanizmusa (trigger mechanizmusok, intracelluláris jelátviteli folyamatok, PKC, ATP-függő kálium csatornák, cGMP/cAMP egyensúly)
- (g) A farmakológiai prekondicionálás lehetősége (nitrogén oxid donorok, ACE gátlók, NEP inhibitorok, adenozin és adenozin agonisták, metabolizmusra ható szerek).
- (h) A szív autonóm beidegzésének szerepe a szívadaptáció kialakításában (baroreflex szenzitivitás és szív frekvencia variabilitás mérése). Fizikai terhelés, mint a prekondicionálás egyik lehetséges módja.

Gyakorlatok: Kísérletesen létrehozott miokardiális iszkémia tanulmányozása nagy állatkísérletes modellben (hemodinamikai, elektrofiziológiai paraméterek mérése, globális és lokális kontraktilitási funkció követésének lehetősége). Iszkémia prekondicionálás kialakításának módjai; rövid koszorúér okklúzió, elektromos szívingerlés, futószalagon történő fizikai terhelés. A farmakológiai prekondicionálás lehetőségeinek bemutatása: nitrogén oxid donorok, ACE gátlók, NEP antagonisták. Prekondicionálás noradrenalinral. A baroreflex szenzitivitás mérése fenilefrin segítségével.

3) A szívkamra repolarizációs folyamatainak modulálása

Előadó: Dr. Virág László PhD, tudományos főmunkatárs

Előadások tematikája:

- (a) Elektrofiziológiai alapfogalmak, egyensúlyi potenciálok és a Nernst egyenlet, Goldman-Hodgkin-Katz egyenlet, nyugalmi potenciál, akciós potenciál, ingerületvezetés, a kamrai repolarizációban szerepet játszó fontosabb transzmembrán ionáramok jellemzése.
- (b) A szív kamrai repolarizációjának experimentális vizsgálati módszerei: testfelszíni EKG regisztrálás in vivo állatkísérletekben, EKG mérés Langendorff szerint perfundált kisállat szív-preparátumokon, Extracelluláris technika, standard mikroelektrod-technika módszere, patch-clamp technika.
- (c) A fordított frekvenciafüggő repolarizáció megnyúlás lehetséges mechanizmusai, a repolarizáció megnyúlás okozta aritmiák, repolarizációs inhomogenitás, korai utódepolarizáció (EAD), torsade de pointes aritmiák.
- (d) A repolarizáció megnyúlás okozta aritmiák gyógyszeres befolyásolása: Na⁺-csatorna blokkolók és aktivátorok, Ca²⁺-csatorna blokkolók és aktivátorok, K⁺-csatorna blokkolók és aktivátorok.

Gyakorlatok: oldatkészítés, izolált szervi szívpreparátumok készítése, standard mikroelektrodtechnikai mérések szív kamrai preparátumokon, sejtizolációs technikák, a szív kamrai repolarizációjában szerepet játszó fontosabb ionáramok regisztrálása emlős szívből izolált kamrai miocitákon patch-clamp technikával.

4) Vazoaktív gyógyszerek és endogén anyagok hatása a szív-érrendszer fiziológiás és hipoxiás/iszkémiás állapotaiban

Előadó: Dr. Pataricza János az orvostudomány kandidátusa/PhD, egyetemi docens

Előadások tematikája:

- (a) Vazokonstriktor hatású, endogén vegyületek szerepe az ér tónusának fiziológiás és patológiás regulációjában, hatásmechanizmusok (prostaglandinok, leukotrié-nek, angiotenzin, endotelinek, trombin).

- (b) Értónust fokozó endogén vegyületek vazóaktív hatásai. Az endotélium funkciójának gyógyszerekkel történő védelme. (Angiotenzin konvertáz enzimet gátló, nitrogén monoxid szintézist gátló szerek, érkontrakció kiváltása α -adrenerg, prosztaglandin úton és a simaizom membrán depolarizációjával).
- (c) Vazokonstriktív mechanizmusok a vérlemezke és az érfal interakciójának szabályozásában (trombin, endotelinek, leukotriének vérlemezke és érhatásai, ámiloid prekursor protein hatásmechanizmusa). Vérlemezke aggregáció és érkontrakció mérése.
- (d) Az antiaritmiás, hiperpolarizációs mechanizmusokat gátló kálium csatorna blokkolók érhatásainak elemzése endotélium jelenlétében és hiányában (4-aminopiridin, tedisamil, glibenclamid). Kálium csatornákat blokkoló toxinok (karibdotoxin, iberiotoxin) hatásainak vizsgálata aortán, koszorúéren, vénán fiziológiai körülmények között és kísérletes hipoxiában.
- (e) Vazorelaxációs hatású, endogén vegyületek szerepe az ér tónusának fiziológiai és patológiai regulációjában, hatásmechanizmusok (acetilkolin prosztaglandinok, P-anyag, bradikinin, szerotonin, nitrogén monoxid).
- (f) Endotélium eredetű, értónust csökkentő faktorok (EDRF-ek, EDHF-ek) vazóaktív hatásai. Az endotélium funkciójának gyógyszerekkel történő védelme: (EDRF hatásmechanizmusok, nitrogén monoxid szintézise és gátlása, nitrogén monoxid mérése, ciklikus AMP és GMP messenger rendszer regulációja és gyógyszeres befolyásolása.)
- (g) Vazorelaxációs mechanizmusok a vérlemezke és az érfal interakciójának szabályozásában (trombin vérlemezke és érhatásai, adhezív proteinek és receptoraik, Arg-Gly-Asp (RGD) tartalmú peptidek). Vérlemezke adhézió és aggregáció valamint az érfal mechanikai aktivitásának kapcsolata.
- (h) A koszorúereket borító endotélium szerepe a szív vérellátásának szabályozásában fiziológiai és patológiai körülmények között (endotélium eredetű és endotéliumtól független endogén vegyületek és farmakonok hatása a koszorúér tónusára, az endotéliumtól függő vazorelaxáció módosulása hipoxiában, iszkémiában, iszkémiát követő reperfüzióban és prekondicionálás során).

Gyakorlatok:

Izolált érpreparátumok izometriás mérés technikájának gyakorlása (oldatkészítések és számítások). Érkonstriktív mechanizmusok (adrenalin, fenilefrin, prosztaglandin, kálium klorid, koffein). Vérlemezke aggregáció optikai, tubidimetriás mérésének elsajátítása. Akut hipoxia értónusra gyakorolt hatásának vizsgálata. Ép és károsított endotéliumú érpreparátumok készítése. Simaizom membránpotenciáljának mérése intakt érszöveten.

6) A hirtelen szívhalál gyógyszeres és diétás megelőzése

Előadó: Dr. Leprán István az MTA doktora, egyetemi tanár

Összevont tematika:

- (a) Experimentális szívinfarktus: In vitro modellek
 - izolált jobb pitvar-kamrai szívpreparátumon szimulált ischaemia létrehozása a tápoldat összetételének megváltoztatásával (extracelluláris és intracelluláris vizsgálatok);
 - izolált, perfundált, spontán működő szíven globális és regionális ischaemia és reperfüziós károsodás vizsgálata (mechanikai paraméterek, arhythmiai);
- (b) Experimentális szívinfarktus: In vivo modellek I.

- arrhythmia provokálása kémiai ingerekkel (digitális, aconitin, adrenalin, calcium);
- fibrillációs küszöb mérése, aritmiakészség meghatározása (macska, patkány)
- (c) Experimentális szívinfarktus: In vivo modellek II.
 - akut szívizom ischaemia, ill. reperfüzió létrehozása altatott, mesterségesen lélegeztetett patkányban;
 - a hirtelen szívhalál modellje éber szabadon morgó patkányban, előzetes műtét során elhelyezett laza fonal ligatúra meghúzásával;
- (d) Experimentális szívinfarktus: In vivo modellek III.
 - akut szívizom ischaemia létrehozása nagyobb állatokban (nyúl, kutya) - haemodinamikai és EKG vizsgálatok;
 - infarctus késői szakaszának vizsgálata, az infarctusos terület meghatározása (patkány modellben).
- (e) Telítetlen zsírsavakban gazdag diéta eredményeként kialakuló változások a
 - plazma lipoprotein összetételben;
 - biológiai membránok szerkezetében;
 - receptorális hatásokban, ioncsatornáknak;
- (f) A telítetlen zsírsavakban gazdag diéták szerepe a szív-érrendszeri megbetegedések kialakulásának megelőzésében.
- (g) Telítetlen zsírsavakban gazdag diéta eredményeként kialakuló változások
 - egyes gyógyszerek iránti érzékenységekben (farmakodinámiás változások);
 - gyógyszerek farmakokinetikájában.
- (h) Diétás lehetőségek a szív-érrendszeri megbetegedések terápiás kezelésében.

I/2 témacsoport

Klinikai jelentőségű kardiorespiratorikus pathomechanizmusok kísérletes vizsgálata

Vezető: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, MTA Doktora, SZTE ÁOK Sebészeti Műtéttani Intézet, [Tel.: 62-545-102, http://web.med.u-szeged.hu/expsur/info.htm](http://web.med.u-szeged.hu/expsur/info.htm)

A témacsoport oktatási háttére egyrészt szilárd elméleti alapot kíván nyújtani a kardiorespiratorikus rendszer alapvető működésének és vizsgáló módszereinek megértéséhez, másrészt a programban gyakran alkalmazott metodikák gyakorlati elsajátításához kínál lehetőséget. Az egyes kutatási témákkal kapcsolatos speciális, mélyreható ismeretanyagot részben formális kurzusok révén, részben pedig a témavezetővel, oktatókkal, kollégákkal való napi interakciókon keresztül kapja meg a hallgató. Az alábbi formális, kötelező és alternatív kurzusokat kínáljuk.

Kötelező kurzusok

1. Állatkísérletek elmélete és gyakorlata – B szint

Vezető oktató: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, MTA Doktora, Dr. Kaszaki József egyetemi docens

Kötelező tantárgy az ÁOK Multidiszciplináris Doktori Iskola: A keringési rendszer élet- és kórtana c. képzési programja hallgatóinak, a többi ÁOK Ph.D. hallgatónak **szabadon választható** kurzus.

A tantárgy oktatásának célja: az állatkísérletek végzéséhez szükséges bővített elméleti és gyakorlati ismeretek elsajátítása, melynek alapja a 2013. április 15-től hatályos állatvédelmi törvény által előírt oktatási követelmény (40/2013. (II. 14.) Korm.).

A kurzus megfelel a Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) által javasolt „C” osztályú képzés elméleti és gyakorlati részének. Azok a hallgatók, akik valamennyi előadást meghallgatják, valamennyi gyakorlatot teljesítik, valamint sikeres írásbeli és gyakorlati vizsgát tesznek, kérésre az elméleti és gyakorlati képzésről kiállított igazolás alapján tanúsítványt kapnak az SZTE Munkahelyi Állatkísérletes Bizottságától, amely feljogosít állatkísérletek végzésére az ország bármely intézményében, ill. az EU tagországokban. A tanfolyam tematikája (elmélet + gyakorlat) a 2010/63/EU sz. irányelv által megfogalmazott moduláris rendszerű képzési terv, a FELASA „C” osztályú képzésre vonatkozó, ill. az MTA osztályközi Állatkísérleti Tudományos Bizottságának ajánlásain alapul.

A tanfolyam tematikája (40 óra elmélet + 20 óra szeminárium + 20 óra gyakorlat-bemutató):

Az előadások tematikája (20 x 2 óra):

1. Bevezetés; **Core modul 1:** Az állatkísérletek törvényi szabályozása, az engedélyezések menete.
2. **Core modul 2/1:** Az állatkísérletek etikai vonatkozásai; Az állati jólét szempontjai; Az állatok tudományos célra való felhasználása mellett és ellen szóló érvek
3. **Core modul 2/2:** Az állatkísérletek elméleti háttere és jelentősége; A helyettesítés, csökkentés és tökéletesítés (3R) követelménye; Állatmodellek az orvosbiológiai kutatásokban;
4. **Core modul 2/3:** Az állatkísérletekből nyert eredmények extrapolációja emberre I: Gyulladásos és metabolikus kórképek állatkísérletes modelljei
5. **Core modul 2/4:** Az állatkísérletekből nyert eredmények extrapolációja emberre II: Keringési kórlépek állatkísérletes modelljei
6. **Core modul 3/1:** A kísérleti állatok species specifikus biológiája I; Kis állatok (rágcsálók) bonctana, élettana, örökléstana, immunogenetikája, viselkedés biológiája
7. **Core modul 3/2:** A kísérleti állatok species specifikus biológiája II; Nagy állatok bonctana, élettana, örökléstana, immunogenetikája, viselkedés biológiája
8. **Core modul 4/1:** Állatokkal való bánásmód és kezelési formák
9. **Core modul 4/2:** A kísérleti állatok tartásának jogi szabályozása és a környezetgazdagítás; A kísérleti állatok és állatházak higiénés fokozatai, a kísérleti állatház működtetése
10. **Core modul 5/1:** A fájdalom, a szenvedés és a stressz felismerése; Az altatás és a fájdalomcsillapítás általános szabályai; **Core modul 6.1:** Kíméletes végpontok és az eutanázia alkalmazása
11. **Core modul 5/2:** Species specifikus fájdalom, szenvedés, stressz felismerése és kezelése a gyakorlatban; Az állatok egészségi állapotának monitorozása
12. **Function specific modul 3.2/1:** Transzgenikus állatok, klónozás, genetikai módosítás
13. **Function specific modul 3.2/2:** Gnotobiológia, a laboratóriumi állatok által közvetített fertőzések – zoonózisok és hatásaik a kísérleti eredményekre
14. **Additional (Task specific) modul 10:** Haladó anesztézia: altatás, érzéstelenítés, fájdalomcsillapítás II; Az alkalmazott gyógyszerek, azok dózisa és mellékhatásai;
15. **Additional (Task specific) modul 11/1:** A műtétek általános elvei, az aszepszis szabályai, alapvető sebészi beavatkozások és sebkezelés
16. **Function specific modul 13/1:** Kísérletek tervezése; Életjelenségek megfigyelése, rögzítése, nyilvántartása
17. **Function specific modul 13/2:** Életjelenségek speciális vizsgáló módszerei
18. **Function specific modul 14/1:** Kísérletek és projektek tervezése, kivitelezése. A kísérleti adatok feldolgozása, a statisztikai analízis alapjai

19. **Function specific modul 14/3:** Állatkísérletek helyettesítése, ún. "alternatív" módszerek
20. **Function specific modul 14/4:** Sejt és szövettenyésztés; Ex vivo vizsgálatok (Langendorff szív)

A szemináriumok tematikája (10 x 2 óra):

1. Bevezetés, általános információk, alapvető gyakorlati ismeretek felmérése; Balesetvédelmi oktatás.
2. **Core modul 1/2:** Állatkísérletek jogi szabályozásának gyakorlata I. MÁB engedélyek formai és tartalmi követelményei
3. **Core modul 1/3:** Állatkísérletek jogi szabályozásának gyakorlata II. ÁTET engedélyek formai és tartalmi követelményei
4. **Function specific modul 12:** Az állati jólét gyakorlata; A 3R gyakorlata
5. **Function specific modul 3.2/3:** A kísérleti állatokkal történő munka biztonsági kérdései
6. **Core modul 4/2:** Laboratóriumi rágsálók tartása, gondozása, tenyésztése és regisztrációja
7. **Core modul 4/4:** A konvencionális állatház felépítése, kiegészítő helyiségei, SPF állatok és állatházak, izolátorok
8. **Function specific modul 14/2:** Az eredmények értelmezése, komplex statisztikai analízis
9. **Function specific modul 14/5:** Szakirodalmi és publikációs ismeretek
10. Konzultáció, ismétlés, gyakorlási lehetőség

A gyakorlatok tematikája (7 x 2 óra+2x3 óra):

1. **Function specific modul 3.2/4:** Kísérleti állatok megfogása, kézbevétele, mozgatása; Ivar meghatározás; Állatgondozás gyakorlat (2 óra)
2. **Core modul 3/3:** Magatartás vizsgálati módszerek, Viselkedés biológia a gyakorlatban (2 óra)
3. **Core modul 4/5:** A konvencionális állatház felépítése és működése - állatház látogatás (2 óra)
4. **Function specific modul 7-8:** Minimálisan invazív beavatkozások altatás nélkül: gyógyszerek orális és nem-orális bevitele a gyakorlatban; (2 óra)
5. **Additional (Task specific) modul 9:** Az altatószerek dózisának kiszámítása különböző fajok esetén; Rágsálók altatása, a fájdalom felismerése és csillapítása; (2 óra)
6. **Additional modul 11/2:** Műtői gyakorlat I. Bemószakodás-beöltözés, műtéti terület izolálása; Sebészi csomózás és varratok gyakorlása; Műtői gyakorlat II. Injekciózás, vénabiztosítás; varrat technika és sebkezelés gyakorlása fantomokon (3 óra)
7. **Additional modul 11/3:** A leggyakoribb sebészi eljárások alkalmazása rágsálókon (3 óra)
8. **Function specific modul 13/3:** Életjelenségek invazív és nem-invazív monitorozása rágsálókon, a biológiai mintavétel módszerei (vizelet, vér, biopszia) (2 óra)
9. **Function specific modul 14/5:** Sejt és szövettenyésztés, ex vivo vizsgálatok a gyakorlatban (Langendorff szív) (2 óra) (Biokémia Tanszék)

2. Heveny kardiorespiratórikus kórállapotok: shock, szepszis, iszkémia-reperfúzió kórtana - az alapmechanizmusoktól a klinikumig

Vezető oktatók: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, MTA Doktora, Dr. Molnár Zsolt egyetemi tanár, Dr. Kaszaki József PhD egyetemi docens

Tematika

1. A shockos vérkeringés - történeti háttér, és a shock kórtana

2. A shockos keringés főbb jellegzetességei, a shock kompenzált és dekompenzált fázisai hipovolaemiában, makro és mikrokeringési változások
3. A gyulladáshoz való válaszreakció
4. Sepszis és szepszikus shock pathomechanizmusa
5. A szepszikus shock klinikuma, a disszeminált intravaszkuláris koaguláció
6. Az ischaemia-reperfúzió kórtana, IR szindrómák a klinikumban

ALTERNATÍV KURZUSOK

1. Műtéttechnikai alapismeretek a kísérletes orvostudományban
2. Méréstechnikai alapismeretek
3. Mérési jelek digitális rögzítése és feldolgozása
4. Intravitális mikroszkópos megfigyelések a kísérletes orvostudományban
5. Monitorozás a kísérletes orvostudományban
6. A keringés és a légzés biomechanikája

1. Műtéttechnikai alapismeretek

Előadók: Dr. Kaszaki József egyetemi docens, Dr. Szabó Andrea egyetemi adjunktus, Dr. Boros Mihály egyetemi tanár,

Előadások és csatlakozó gyakorlatok tematikája

1. Az alapvető sebészeti műszerek és varróanyagok ismertetése; használatuk, osztályozásuk szempontjai.
2. Az aszepszis és antisepszis elmélete és gyakorlata
3. Sebészi csomók kivitelezése. Sutura, csatlakozások, elmélet és gyakorlat
4. A bőr átmetszése. A vérzéscsillapítás módszerei. Sebzés módszerei, eszközei.
5. Szövetek tompa preparálása; erek, vénák és artériák feltárása és kanülálása; vérvételi technikák, intravénás infúzió adása.
6. Laparotomiák. Median laparotomia kivitelezése, tájékozódás a hasüregben, a hasfal réteges zárása.

2. Méréstechnikai alapismeretek

Vezető oktató: Prof. Hantos Zoltán egyetemi tanár

Tematika

1. *Áramlástan alapgondolatjai.* Anyag- és energiamegmaradás (Bernoulli-törvény). A lamináris áramlás: viszkozitás és mérése, a Poiseuille-törvény. Az oszcillációs (pulzatis) áramlás: harmonikus analízis, az impedancia fogalma. A sebességprofil torzulásai, hullámterjedés, visszaverődés. Turbulens áramlás: a Reynolds szám, görbületek, szűkületek és elágazások hatásai. Nem-ideális folyadékok, rugalmas falú csövek.
2. *A vérkeringés reológiai sajátosságai.* Morfometriai adatok. Az artériás impedancia fogalma, nemlinearitások. Kapilláris keringés: a hematokrit-sebesség összefüggés, a sejtes elemek hatása, a transzmurális áramlás törvényszerűségei. Vénás keringés: a transzmurális nyomás jelentősége, az elasztikus instabilitás fogalma, állandó és változó áramlás kollapszibilis csövekben, gravitációs hatások. Pulmonális keringés: az alacsony nyomású rendszer sajátosságai, elaszticitás, a légzés-keringés kölcsönhatás, a kapillárisok "sheet flow" jelensége.
3. *A légutak áramlási sajátosságai.* Morfometriai jellemzés. A légutak impedanciája. Az extrathoracalis légutak nemlinearitásai, lamináris és turbulens áramlás a nagy légutakban. Az áramlási ellenállás sebesség- és térfogatfüggése, kilégzési áramláskorlátozás. A légutak

elzáródása-újrainyílása, a folyadékfilm szerepe. Az alveoláris stabilitás, atelectasis és recruitment. A kollaterális ventiláció.

4. *A puha szövetek biomechanikája.* A deformálható testek mechanikájának alapfogalmai: nyújtás, feszültség, stress relaxáció, stress recovery, a szöveti nemlinearitás. Kvázi-linearitás, harmonikus deformáció, az elasztikus modulus. A viszkoelaszticitás modelljei: Kelvin-, Maxwell- és Voigt-testek, az általánosított Kelvin-modell. A strukturális dekompozíció elve, hiszterezivitás, a konstans-fázisú viselkedés.

5. *A keringési és légzési szövetek.* Strukturális jellemzés. A szívizom, vázizomzat és a símaizom mechanikai tulajdonságai. Az érfal és a bronchusok motorikája, a beágyazottság szerepe. Parenchymális és pleurális mechanika.

3. Intravitális mikroszkópos megfigyelések a kísérletes orvostudományban

Vezető oktató: Dr. Szabó Andrea egyetemi adjunktus

Előadások tematikája

1. Az intravitális mikroszkóp története. A képalkotás (transz- és epi-illumináció) és kiértékelés alapelvei. A fluoreszcens kontraszterősítés (a plazma és a sejtveszték véralakítók festése). Video-demonstrációk.
2. A mikrokeringés élettana és kórélettana. A leukocytá-endothel interakció, alapfogalmak, a gyulladáshos mikrokeringési reakció objektív, kvantitatív paraméterei. Video-demonstrációk.
3. A vékonybél mikrokeringése, anatómia, élettan. Vazoaktív szerek hatásai. A shockos mikrokeringés.
4. Újabb technikák - az ortogonális spektrális polarizációs (OPS) képalkotás. Alapelvek, felhasználási területek. Video- demonstrációk

Gyakorlatok tematikája

1. Intravitális mikroszkópos megfigyelések a gyakorlatban. A vékonybél mikrokeringése in vivo körülmények között. Sebészeti preparálás, a mikrosebészeti technikák gyakorlása.
2. A gyomor mikrokeringési vizsgálata in vivo körülmények között.
3. A nyelőcső mikrokeringése. OPS technika gyakorlása.
4. Parenchymás szervek mikrokeringése: tüdő, máj. Preparálás, in vivo megfigyelések.

4. Monitorozás a kísérletes orvostudományban

Vezető oktató: Dr. Kaszaki József egyetemi docens

Tematika

1. *Intravaszkuláris nyomásmérés:* strain gauge érzékelők és erősítők. Katétervég manométerek. Fázikus és középnyomás. Frekvenciaátviteli függvény. Hiszterezis. A mérőrendszer inertiája. Oldalnyomás és torlónyomás. Hidrosztatikus nyomáskomponens folyadékkatéteres rendszerben.
2. *Véráramlásmérés:* az elektromágneses indukció fogalma, alkalmazhatósága folyadékáramlásmérésekre, a gerjesztőfrekvencia és hullámforma, az elektromos és fiziológiai nullaérték, a mérőfejek felépítése, a mérőberendezés kalibrálása, a fázikus- és középáramlás. Mérések különböző sebészileg feltárt, de intakt ereken, az érfal és a mérőfejelektrodák kontaktusa.
3. *Perctérfogatmérés indikátor hígítási elv alkalmazásával:* A Stewart-Hamilton egyenlet és alkalmazása a vértérfogat és áramlásmérésekre. Az indikátor keveredése. Diffúzibilis és nem diffúzibilis indikátorok. A konvolúciós integrál. Az indikátor recirkulációja és ennek korrekciója. A termodilúciós perctérfogatmérés elmélete és gyakorlati kivitelezése.
4. *Sonomicrometria:* Piezoelektromos ultrahanggenerátor. Adó-, vevő jelátalakítók. Távolságmérés elve somomicrometriával. Szívdimenziók mérése. Konstans ultrahang terjedési sebesség a szívszövet és a vér izotermiás környezetében. Balkamrai hosszanti (bázis-apex) átmérő, rövid (antero-posterior) átmérő, szegmentszössz és falvastagság meghatározása.

Balkamrai kontraktilitás becslése módszerei. Balkamrai nyomás és átmérő szimultán regisztrálása. Végszisztolés nyomás-volumen függvény. Végszisztolés pont kijelölése. Végszisztolés nyomás-rövid átmérő összefüggés merevedségének meghatározása. Balkamrai végszisztolés elasztancia, mint a balkamrai kontraktilitás mérőszáma. Elő- és utóterhelés-függetlenség.

5. *Vérgáz analízis*: Alapfogalmak: pH definíciója, a sav ill. bázis fogalma. pO_2 pCO_2 tenzió vérmintákban és testnedvekben. pH-mérő rendszerek a vér és a testnedvek pH-jának mérésére, üveg-kalomel mikroelektrodák, kapilláris mikroelektrodák, a mérőrendszer kalibrálása. pO_2 , pCO_2 tenzió mérésére alkalmas elektrodák működési elve vérben és testnedvekben. A mérőrendszer kalibrálása gázokkal. Vérvételek ill. mintavételek módja, a mérés kivitelezése Radiometer típusú készülékkel. A normál értékek ismertetése, kóros értékek értékelése. Nomogramok alapján kiszámítható, származtatott paraméterek: plazma bikarbonát, standard bikarbonát, base-excess fogalma, total CO_2 , oxigén telítettség. Acidózis, alkalózis. A plazma és a vér puffer rendszerei. A Henderson-Hasselbach egyenlet értelmezése, a vér és a testnedvek puffer kapacitása.

7. *Biokémiai (a szepszis és a szeptikus shock mediátorainak meghatározására alkalmas) módszerek*: Fotometriás, spektrofluorometriás, radioenzimatikus, magasnyomású kromatográfiás rendszerek. A fotometria alapelvei, mérés látható és UV tartományban. A spektrofluorometria alapelvei: fényforrás, szűrős és monokromátoros készülékek. A gerjesztő és az emissziós hullámhosszak kimérése, optimális résszélesség választása, detektálás. A radioenzimatikus módszerek alapelve: specifikus enzim-szubsztrát reakció a radioaktív termék képzéséhez, extrakció, a radioaktív termék mérése. HPLC rendszerek működési elve: oszloptöltet és oldószerek kiválasztása, az elválasztás optimalizálása (nyomás, áramlási sebesség, ionpár képzés). Detektálásra alkalmazott módszerek: UV-, fluorometriás, elektrokémiai detektorok.

5. A keringés és a légzés biomechanikája

Vezető oktató: Prof. Hantos Zoltán emeritus professzor

Tematika

1. *Gázok nyomásmérése*: mérőátalakítók típusai, érzékenység, linearitás, holttér, frekvenciaátviteli tulajdonságok. *A térfogat- és áramlásmérés* közvetlen és közvetett módszerei: spirometria, pneumotachográfia, pletizmográfia. A változó gázösszetétel hőmérséklet és páratartalom hatása. A funkcionális reziduális kapacitás meghatározása: He-kimosás, testpletizmográfia.

2. *Standard légzésmechanikai módszerek*: A légúti áramlási ellenállás testpletizmográfias meghatározása. Az interpleurális és az oesophagus-nyomás katéteres és ballonos mérése. A teljes légzőrendszer és a tüdő tágulékonyosságának mérése: kvázistatikus és dinamikus compliance.

3. *A kényszerrezgéses impedancia-meghatározás*: a teljes légzőrendszer és a tüdő bemeneti impedanciája a nyomás- és áramlásjelek spektrális kiértékelésével, ill. a hullámcsöves módszerrel. A kollaterális ellenállás és a regionális tüdőimpedancia meghatározása. A légúti és a szöveti mechanika szeparálása az alveoláris kapszula technikájával, ill. a bemeneti impedancia modellillesztésével. A terminális légutak ellenállásának mérése az alveoláris kapszula oszcilláció segítségével.

I/3 témacsoport

A hypertonia pathomechanizmusának és az antihypertenzív szerek hatásmódjának klinikai és kísérletes vizsgálata

(Vezető: Dr. Ábrahám György egyetemi tanár)

Valamennyi témában résztvevő PhD hallgatók számára kötelező előadások és gyakorlatok

Előadások és tematikájuk

A kardiovaszkuláris rendszer betegségei különös tekintettel a hypertóniára

(a) A vérnyomás szabályozásában résztvevő mechanizmusok

Előadók: Dr.Ábrahám György, Dr.Gecse Árpád, Dr.Sonkodi Sándor,
Dr. Turi Sándor

(b) Az essentialis hypertonia pathomechanizmusa

Előadók: Dr.Farsang Csaba, Dr.Jánosi András, Dr.Ábrahám György,
Dr.Sonkodi Sándor

(c) A hypertonia genetikai vonatkozásai

Előadók: Dr.Puskás László, Dr.Turi Sándor, Dr.Sonkodi Sándor

(d) A hypertonia epidemiológiája

Előadók: Dr.Gyárfás Iván, Dr.Jánosi András, Dr.Farsang Csaba,
Dr.Ábrahám György, Dr.Sonkodi Sándor

(e) A hypertonia gyógyszeres kezeléseiről: A különböző hatásmechanizmusú vérnyomáscsökkentő szerek

Előadók: Dr.Farsang Csaba, Dr.Jánosi András, Dr.Turi Sándor,
Dr.Ábrahám György, Dr.Sonkodi Sándor

Gyakorlatok

(a) Ultrahang (UH) és Doppler UH használata a hypertonia és hypertóniás érelváltozások diagnosztikájában

Gyakorlatvezető: Dr.Morvay Zita

(b) A hypertonia diagnosztikájában használt radiológiai módszerek megtekintése

Gyakorlatvezető: Dr.Nagy Endre

(c) A hypertonia klinikai és kísérletes vizsgálata során leggyakrabban használt kórszövettani vizsgálatok

Gyakorlatvezetők: Dr.Iványi Béla, Dr.Kemény Éva

(d) A leggyakrabban használt hypertóniás állatkísérletes modellek

Gyakorlatvezetők: Dr.Ábrahám György, Dr.Sonkodi Sándor

Alternatív előadások és gyakorlatok a témacsoport egyes témáinál

A magasvérnyomás epidemiológiai vonatkozásai

Témavezető: Dr.Gyárfás Iván, az orvostudomány kandidátusa/PhD, tudományos tanácsadó

Előadások és tematikájuk

(a) Környezeti tényezők szerepe a hypertonia kialakulásában

(b) A hypertonia rizikó tényezői

(c) A hypertonia primer és secundaer prevenciója

Előadók: Dr.Gyárfás Iván, Dr.Jánosi András, Dr.Farsang Csaba,
Dr.Sonkodi Sándor

Gyakorlati foglalkozások:

A hypertonia epidemiológiai vizsgáló módszerei

Gyakorlatvezetők: Dr.Gyárfás Iván, Dr.Jánosi András, Dr.Farsang Csaba,
Dr.Ábrahám György, Dr.Sonkodi Sándor

A hypertóniás érelváltozások és célszervkárosodások pathomechanizmusa

Témavezető: Dr.Sonkodi Sándor, az orvostudomány doktora, egyetemi tanár

Előadások és tematikájuk

- (a) A vérnyomás szabályozásában és a hypertensio kialakulásában résztvevő mechanizmusok.
Az essentiális hypertensio pathomechanizmusa: környezeti tényezők, genetikai tényezők, hormonális mechanizmusok, neuro-adrenerg rendszer Előadó: Dr.Ábrahám György
- (b) A hypertonia pathophysiológiájának és az antihypertensiv szerek hatásmódjának molekuláris háttere Előadó: Dr. Gecse Árpád
- (c) Hypertensios célszerv károsodások
szív: bal kamra hypertrophia - ischaemiás szívbetegség, cardiális elégtelenség
vese: nephrosclerosis - veseelégtelenség
agy: vascularis elváltozások - stroke
perifériás erek: hypertrophiás és arterioscleroticus elváltozások
A hypertensios célszervkárosodások kezelése Előadó: Dr.Sonkodi Sándor
- (d) Renalis hypertensio pathomechanizmusa: parenchymás és vascularis
Előadó: Dr. Sonkodi Sándor
- (c) A hypertóniás érelváltozások pathológiája, különös tekintettel a glomeruláris mikrocirculatio fő eltéréseire Előadók: Dr. Iványi Béla, Dr.Kemény Éva

Gyakorlati foglalkozások:

Hypertensióval kapcsolatos experimentális módszerek. - Kísérletes állatmodellek: spontán hypertensió (Okamoto) patkány, Goldblatt hypertensió, aortaszűkítés az arteria renalisok eredése között, kísérletes glomerulonephritis (Mashugi, Heyman nephritis), 5/6 nephrectomia.
- Vizsgáló módszerek: vérnyomás mérés direkt- (véres úton Statham-fej és Hellige multiscriptor segítségével) és indirekt (W+W vérnyomásmérő) módszerrel, pressor hatás vizsgálatok arteriás és vénás kanülálással patkányokban, a vesekeringés tanulmányozása flowmeterrel.

Gyakorlatvezetők: Dr.Ábrahám György, Dr.Kemény Éva, Dr.Sonkodi Sándor

Gyulladásos megbetegedések szerepe a hypertóniás érelváltozók és az atherosclerosis pathogenesisében

Témavezető: Dr.Morvay Zita PhD, egyetemi docens

Előadások és tematikájuk:

- (a) A modern képalkotó eljárások fizikai alapjai: ultrahang
Előadó: Dr.Morvay Zita
- (b) A modern képalkotó eljárások fizikai alapjai: Doppler vizsgálatok, ultrahang kontrasztanyagok
Előadó: Dr.Morva Zita
- (c) A modern képalkotó eljárások fizikai alapjai: CT vizsgálatok
Előadó: Dr.Nagy Endre
- (d) A modern képalkotó eljárások fizikai alapjai: MR, MR urográfia
Előadó: Dr.Palkó András
- (e) A modern képalkotó eljárások fizikai alapjai: DSA
Előadó: Dr.Nagy Endre
- (f) A parenchymás és vascularis renalis hypertensio pathomechanizmusa
Előadó: Dr.Sonkodi Sándor
- (g) A vérnyomás szabályozása és a hypertensio kialakulásában szerepet játszó mechanizmusok

- Előadó: Dr.Ábrahám György
- (h) Ultrahangvezérelt radiológiai intervenciók
Előadó: Dr.Morvay Zita
- (i) Veseelváltozások szövettani elemzése biopsziás mintából
Előadó: Dr.Iványi Béla
- (j) Ballonkatéteres tágítás és stent implantáció
Előadó: Dr.Nagy Endre

Gyakorlati foglalkozások:

Modern képalkotó eljárások, ultrahang, CT, MR, DSA vizsgálatok megtekintése

Gyakorlatvezetők: Dr.Morvay Zita, Dr.Nagy Endre

DNS-chipek alkalmazása hypertoniás érrendszeri és szervi elváltozások genetikai tényezőinek vizsgálatában

Témavezető: Dr.Puskás László DSc, laboratóriumvezető tudományos tanácsadó

Előadások és tematikájuk:

- (a) Oligonukleotid és cDNS alapú DNS-chipek előállítása, technikai megoldások. DNS-chip alapú diagnosztikai és génexpressziós vizsgálatok technikájának irodalmi áttekintése.
- (b) cDNS-alapú DNS-chipek alkalmazásai génexpressziós vizsgálatokban.
- (c) DNS-chipek a diagnosztikában. A génexpresszió-változások vizsgálatának egyéb módszerei. A kapott eredmények ellenőrzése. Northern-blot eljárás, real-time PCR, in situ hibridizáció, in situ PCR.
- (d) Nanobaktériumok: a mikrobiológia "UFO"-i. Lehetséges szerepük a vesekőképződésben, érlemeszesedésben. Mikrobiológiai leírásuk, citotoxikus hatásuk humán fibroblasztokra - molekuláris biológiai megközelítés.
- (Ezekhez az előadásokhoz csatlakoznak a hypertoniás érrendszeri és szervi elváltozásokkal kapcsolatos klinikai előadások.)

Gyakorlati foglalkozások:

- (a) Oligonukleotid és cDNS alapú DNS-chipek készítése. Mintaelőkészítés (klónok izolálása, PCR, tisztítási eljárások, gélelektroforézis), DNS-chip készítő robot bemutatása, nyomtatás.
- (b) Humán RNS fluoreszcens jelölése reverz transzkripcióban, tisztítás, a jelölt próba hibridizációja humán teszt chipen.
- (c) A hibridizált teszt csip mosása, konfokális lézer szkennel segítségével a chip leolvasása. A kapott eredmények software-es jellemzése, statisztikai elemzések, az eredmények feldolgozása, prezentálása.

A felsorolt előadások és gyakorlatok óraszama ill. a megfelelő tanulmányi és vizsgarend részletei a 3. fejezetben kerültek ismertetésre.

2. AZ I. SZ. KÉPZÉSI PROGRAM KUTATÁSI TERÜLETEI:

Az I. képzési programban a doktoranduszok a szív-érrendszer ill. a kardiorespiratorikus rendszer gyakori megbetegedéseinek kóreltani alapjait, gyógyszeres befolyásolásuk lehetőségeit kutathatja; aktívan részt vehet eddig még tisztázatlan elméleti és gyakorlati szempontból egyaránt fontos tudományos problémák, kutatási feladatok

megoldásában. Az első két témacsoport (I/1 és I/2) döntően **preklinikai** (experimentális), a harmadik témacsoport (I/3) dominálónan **klinikai** kutatásba történő kapcsolódásra nyújt lehetőséget.

I/1 témacsoport

Kísérletes kardiológia és szív-érrendszeri farmakológia

(Vezető: Dr. Varró András egyetemi tanár, MTA doktora (62-545-682) E-mail: varro.andras@med.u-szeged.hu)

Kutatási koncepció

A szív-érrendszeri betegségek kialakulásának megismerése, pathomechanizmusának feltárása és megértése kísérleti módszerek alkalmazását teszi szükségessé. Ugyanez vonatkozik ezen betegségek farmakológiai befolyásolhatóságának tanulmányozására. Ennek megfelelően ezen témacsoport keretében olyan kutatómunka végzésére nyílik lehetőség, amelynek során az egyes **klinikai kórképek** (szív-infarktus, szívritmus-zavarok, szívelégtelenség) különböző **experimentális (állatkísérletes) modelljei** ill. azok kifejtésének menete ismerhető meg. Másrészt a szívérrendszerre, a szív vérellátására ható endogén és exogén anyagok, mindenekelőtt **számos potenciális vagy tényleges gyógyszer** celluláris és subcelluláris (elektrofiziológiai), szöveti vagy szerv-szintű ill. intakt állaton, hemodinamikai eljárásokkal vizsgált **hatásmechanizmusa** és ezen mechanizmusok feltárásának folyamata tanulmányozható ill. részben el is sajátítható.

A konkrét lehetőségek részleteit az alprogram témáinak leírása tartalmazza.

A választható témák a következők:

- (A) Celluláris és szubcelluláris mechanizmusok a kardioaktív szerek szívhatásaiban
- (B) Endogén protektív hatású anyagok szerepe a szív különböző patológiás állapotaiban
- (C) A hirtelen szívhalál gyógyszeres és diétás megelőzése
- (D) A különböző transzmembrán áramok patch-clamp vizsgálata izolált szívizomsejteken és expressziós rendszerekben
- (E) A szívkamra repolarizációs folyamatainak modulálása
- (F) Elektrofiziológiai elváltozások vizsgálata pitvarfibrillációban és szívelégtelenségben
- (G) A szív celluláris elektrofiziológiájának és Ca homeosztázisának vizsgálata. A Na/Ca exchange inhibitorok alkalmazásának következményei a szívizomsejtek Ca homeosztázisában
- (H) A szív és keringési rendszer élet- és kórtana, farmakológiája. Ritmuszavarok keletkezésének experimentális és klinikai vizsgálata. Gyógyszerek proaritmiás hatásának tanulmányozása
- (I) Szívritmuszavarok és szívizom-kontraktilitás farmakológiai vizsgálata

Az egyes témák részletei a következők:

(A) CELLULÁRIS ÉS SZUBCELLULÁRIS MECHANIZMUSOK A KARDIOAKTÍV SZEREK SZÍVHATÁSAIBAN

Dr. Papp Gyula professzor emeritus, akadémikus (62-545-681, E-mail: papp.gyula@med.u-szeged.hu, Dr. Varró András egyetemi tanár, MTA doktora (62-545-682) E-mail: varro.andras@med.u-szeged.hu)

A program során különböző és egymástól eltérő hatásmechanizmusú antiaritmiás és

pozitív inotrop szerek hatásait kívánják vizsgálni konvencionális mikroelektródtechnikai módszerrel nyúl, tengerimalac és patkány szív papilláris izmon és patch-clamp technikával izolált nyúl, tengerimalac és patkány miocytákon. A tervezett kísérletek célja az, hogy megállapítsák és egymással összehasonlítva elemezzék a cardiovascularis szerek hatásait a szívizom akciós potenciáljára, mechanikai aktivitására illetve az azokat meghatározó ionáramokra.

A nyert eredményeket összevetik az elfogadott akciós potenciál és kontrakciós modellek alapján számított értékekkel. Az eredmények várhatóan hozzájárulnak a vizsgált antiaritmikumok és cardiotonicumok szubcelluláris (ioncsatorna szintű) hatásmechanizmusainak tisztázásához. Így e szerek szubcelluláris szintű hatásmechanizmusainak ismerete jelentős segítséget nyújthat ezek, az eddigieknél céltudatosabb klinikai alkalmazásait illetően és új távlatokat jelenthet a már használt gyógyszereknél hatásosabb és szelektívebb új gyógyszerek kifejlesztéséhez.

A kutatási téma koncepciója és célkitűzések

A rendelkezésre álló adatok szerint a szívritmuszavarok (aritmiák) keletkezését az ingerképzési illetve az ingerületvezetési zavarokkal és e két tényező kombinációjával magyarázhatók. Az ingerületvezetési zavarok által előidézett súlyos kamrai aritmiák legelfogadottabban a "reentry" (körbefutó ingerület) jelenséggel értelmezhetők. A "reentry" létrejöttét a kamrai refrakteritás és az ingerületvezetés viszonya szabja meg, amely a szívizom akciós potenciálok tulajdonságaitól illetve végső soron a szívizom különféle ioncsatornáinak működésétől függ. Így érthető, hogy az aritmiák kezelésére használt gyógyszerek által az ioncsatornákra gyakorolt hatások ismerete a modern farmakológia egyik kulcskérdésévé vált.

Az antiaritmias gyógyszerek illetve hatások legáltalánosabban elfogadott osztályozása Vaughan Williams nevéhez fűződik (1). Ezen osztályozás a különféle antiaritmias gyógyszereknek a szívizom akciós potenciáljára gyakorolt, egymástól eltérő hatásain alapszik.

Az I. osztályú antiaritmias hatást főleg az ingerületvezetési sebesség csökkentésével lehet magyarázni, amelynek hátterében a gyors nátrium csatornák működésének frekvencia és feszültségfüggő gátlása áll. Ezen utóbbi jelenség modern értelmezését a "modulated receptor" (2) illetve a "guarded receptor" (3) hipotézis kidolgozása tette lehetővé. A nátrium csatornáknak a különböző szerek által előidézett frekvenciafüggő gátlása szolgált alapul az I. osztályba sorolt antiaritmias gyógyszerek alcsoportokba történt további felosztásához.

Az ide sorolt gyógyszerek szinte kivétel nélkül negatív inotrop hatásúak, ami az intracelluláris nátriumaktivitás csökkentésével hozható összefüggésbe. Ez utóbbi feltételezett mechanizmus és a negatív inotrop hatás esetleges frekvenciafüggő jellege azonban még nem tisztázott.

A II. osztályú antiaritmias hatás antiadrenerg mechanizmusokkal hozható összefüggésbe.

A III. osztályba sorolt antiaritmias hatások közös tulajdonsága, hogy az ide tartozó szerek mind megnyújtják a szívkamra akciós potenciáljának időtartamát (API), illetve az effektív refrakter periódust (ERP). E hatások szubcelluláris (ioncsatorna szintű) hátterében azonban eltérő mechanizmusok húzódnak meg, amelyek a mai napig sem tisztázottak kellőképpen. A feltételezhető főbb szubcelluláris mechanizmusok, amelyek az API-t illetve az ERP-t megnyújthatják a következők:

- 1) Az ún. "window nátrium áram" fokozása, illetve/vagy a gyors nátrium áram inaktivációjának lassítása. Ez a mechanizmus esetleg a terápiában is kiaknázzható pozitív inotrop hatással járhat együtt. (DPI 201-106, veratrin).

- 2) A befelé irányuló L-típusú kalciumáram (I_{Ca}) növelése, illetve inaktivációjának lassítása (OPC-8212, Bay K 8644). Ilyen módon hat több a terápiában is használatos cardiotonikum. Ezen szerek egy részének terápiás hasznát azonban koszorúér szűkítő hatásuk nagymértékben korlátozza.
- 3) Az ún "transient outward" áram (I_{to}) gátlása (tedisamil, kinidin).
- 4) Az ún. "inward rectifier" káliumáram (I_{K1}) gátlása (terikalant, kinidin)
- 5) Az ún "delayed rectifier" káliumáram (I_K) gátlása. Az utóbbi áram egy gyors (I_{Kr}) és egy lassú (I_{Ks}) komponensből áll. Az I_{Kr} specifikus gátlószerei (d-sotalol, E-4031, dofetilid) az akciós potenciál időtartamát fordított frekvenciafüggő módon ("reverse rate dependency") nyújtják meg (5), s ez különösen lassú szívfrekvenciánál a repolarizáció diszperziójának megnöveléséhez és ún. korai utódepolarizáció "early afterdepolarization" (EAD) kialakulásához vezethet. Ezen utóbbi két tényezővel magyarázható leginkább ezen gyógyszerek torsadogen proaritmias mellékhatása is, amely nagymértékben gátolja terápiás használhatóságukat (6). Egyes vélemények szerint a lassan aktiválódó I_{Ks} áram gátlószerei (azimilid, chromanol 293B, azimilid, L-735, 821) viszont a szív akciós potenciáljait frekvencia független módon nyújtják meg, s így az I_{Kr} gátlóknál előnyösebb III osztályú antiaritmias hatással rendelkezének. Ezen utóbbi feltételezés jelenleg is a kutatások középpontjában áll (7, 8).
- 6) Az ATP függő szarkolemmális káliumáram I_{KATP} gátlása. Ezen utóbbi áram gátlása ugyan nem eredményezi az API illetve az ERP megnyújtását normális (egészséges) kamrai szívizmon, de kivédheti illetve csökkentheti a hipoxia és az ischaemia által kiváltott, aritmogénnek tartott acut API és ERP megrövidülést. Ilyen hatásmechanizmusú antiaritmias gyógyszer ugyan nincsen forgalomban, azonban a jelenleg használatos antiaritmikumok hatása ebből a szempontból még tisztázatlan. Ígéretes kutatások utalnak arra, hogy az I_{KATP} -t bizonyítottan gátló orális antidiabetikumok (glibenclamid, tolbutamid) antiaritmias hatással rendelkeznek mind állatkísérletekben (9), mind a klinikai gyakorlatban (10). A már forgalomban lévő antiaritmias gyógyszerek által az I_{KATP} -ra gyakorolt hatás tisztázása, amely a jelen kutatási téma egyik kérdése, fontos tényező az antiaritmias szerek hatásmódjának megértésében és komoly segítséget jelenthet a jövőben új, specifikus antiaritmias szerek kifejlesztéséhez.
- 7) Az ún "Na/Ca exchanger" áram ($I_{Na/Ca}$) befolyásolása. Az $I_{Na/Ca}$ újabb kutatások szerint jelentős szerepet játszik a szívizom repolarizációjának szabályozásában (11). A jelenleg forgalomban levő antiaritmias és pozitív inotrop gyógyszerek $I_{Na/Ca}$ -ra gyakorolt hatása, néhány kezdeti eredménytől eltekintve (12), szinte teljesen ismeretlen, így ennek tisztázása szintén fontos előrelépést jelentene e szerek szubcellularis szintű hatásmechanizmusának megértésében.

A IV. osztályba sorolt kalciumantagonista antiaritmias szerek (verapamil, diltiazem, nifedipin) antiaritmias hatásukat feltehetőleg a kóros automácia illetve a károsodott szívizomban az aritmogén "lassú válasz" jellegű akciós potenciálok gátlása útján fejtik ki. E szerek antiaritmias hatásához természetesen hozzájárul jelentős és a terápiában már régóta kiaknázott antianginás és vérnyomáscsökkentő hatásuk is. A IV. osztályba sorolt antiaritmias szerek közös szubcellularis hatásmódja a I_{Ca} gátlása. Annak ellenére, hogy e szerek I_{Ca} gátló hatása már elég jól dokumentált az irodalomban, néhány kérdés mégsem tisztázott kellően ezen a területen sem. Ezek közé tartozik e szerek által kifejtett hatás frekvenciafüggésének illetve az L és a T-típusú kalciumcsatornák iránti hatáspecifitásának tisztázása.

Az V. osztályba sorolt antiaritmias gyógyszerek, amelyeket specifikus bradikardizáló szereknek neveztek (13), újabban kerültek az érdeklődés előterébe. A legvalószínűbb szubcellularis hatásmechanizmus, amellyel a specifikus bradikardizáló hatás magyarázható, az ún "pacemaker" áram (I_f) gátlása lenne. A már terápiában is használt antiaritmias

gyógyszerek hatása erre az áramra ma még túlnyomórészt ismeretlen.

Az újabb pozitív inotrop szerek hatásmechanizmusa nem kellően tisztázott. A foszfodieszteráz enzim gátló hatás eredményeképpen a cAMP szint megnövekszik, amely a befelé irányuló kalciumáram fokozását hozza létre. Ez utóbbi hatás a "whole cell" voltage clamp technikával pontosan meghatározható. E mellett a hatásmód mellett - úgy tűnik - számos új pozitív inotrop szer növeli a kontraktilis proteinek kalcium iránti érzékenységét. E hatásmechanizmus elemzésére az intracelluláris kalcium aktivitás epifluoreszcens módszerei alkalmazhatók.

A kutatási téma előzményei

Az antiaritmiás gyógyszerek hatása az egészséges szív akciós potenciáljainak különböző paramétereire, fiziológiásnak tartott frekvenciáknál, már kellőképpen tisztázott (16). Ezek az eredmények szolgáltak alapul a különböző osztályozási kísérletekhez (1,4), amelyek közül a mai napig is a Vaughan Williams nevéhez fűződő beosztás (1) a legnépszerűbb mind az experimentális farmakológusok mind a klinikusok körében. Sokkal kevesebb adat áll azonban rendelkezésünkre ezen szereknek az akciós potenciálokra gyakorolt frekvenciafüggő hatásairól (14, 15) illetve a szív különféle ionáramaira gyakorolt hatásairól. Ismert hogy a kinidin, lidokain, amiodaron és a flekainid gátolják a szív gyors nátriumcsatornáit, mind kamrai miocytákon (16, 17, 18, 19), mind Purkinje rostokon (20). A kinidin, főleg az aktív, nyitott állapotú nátriumcsatornához kötődve (18), míg a lidokain és az amiodaron főleg az inaktív állapotú csatornához kötődve (19, 20) fejt ki gyors nátriumáram-gátló hatását. A kinidintről és a lidokainról korábban kimutatták, hogy gátolja az ún. "window nátriumáramot" is (21). Az I_{Ca} gátlásáról már beszámoltak a kinidin (22, 23), a flekainid (24) és az amiodaron (25) esetében. A verapamil ilyen irányú hatása közismert. A legtöbb antiaritmiás és pozitív inotrop szer hatása a repolarizációt döntően meghatározó, különféle kálium áramokra, nem tekinthetők kellően tisztázottnak. Adatok állnak ugyan rendelkezésünkre a kinidin, flekainid, amiodaron gátló hatásairól az I_{to} (26), I_{kl} (21, 23, 27) illetve I_K (28, 29) káliumáramokra. E hatások részletes "csatorna-kinetikai" analízise azonban még mindig nem történt meg. Egyáltalán nem rendelkezünk "voltage-clamp" adatokkal számos antiaritmiás és pozitív inotrop szerrel kapcsolatban az I_{kATP} és $I_{Na/Ca}$ áramokat illetően. Ugyancsak kevés "voltage-clamp" információ (30) áll rendelkezésünkre e szereknek a pacemaker (I_f) áramot befolyásoló hatásairól.

Külön problémát jelent az antiaritmiás és pozitív inotrop gyógyszerek proaritmiás mellékhatásainak felismerése és mechanizmusának megértése. Saját eredményeink azt sugallják, hogy kombinált hatásmechanizmussal (IB + III osztály) nagymértékben csökkenteni lehetne az aritmogén tényezőket (32, 33). Szintén újabb saját adataink kétségeket támasztanak az I_{Ks} gátló antiaritmiás szerek kedvező hatásait illetően (34, 35).

Az alkalmazandó módszerek rövid összefoglalása

a) Standard mikroelektródtechnika

Nyúl, tengerimalac és patkány jobb kamrai papilláris izmát kiperaráljuk, majd 37°C-on inkubált szervfürdőbe helyezzük. A tápoldatot (bikarbonát puffer-Tyrode) 100 % O_2 -el oxigenizáljuk. A preparátumokat 0.1- 4 Hz frekvencia tartományban, pontingerléssel, bipolaris platina elektródokat alkalmazva, elektromosan ingereljük. A különböző kapcsolási idejű extraszisztolék kiváltásához programozott ingerlést alkalmazunk. A készítményekből 5-10 Mohm ellenállású, 3 M KCl-al töltött, üvegapilláris elvezető elektródák segítségével,

intracelluláris (transzmembrán) potenciálokot vezetünk el, amelyeket előerősítés és erősítés után oszcilloszkópon regisztrálunk. Az analóg elektromos jeleket, AD konverter segítségével, komputerrel is regisztráljuk, illetve tároljuk. Az akciós potenciálok felszálló szárának meredekségét elektromos differenciáló egység segítségével mérjük.

A következő paramétereket tervezzük megmérni: nyugalmi potenciál, akciós potenciál amplitúdó, 50 és 90 %-os repolarizációs idő, a depolarizáció maximális sebessége és kontrakciós erő. Az alprogramban szereplő szerek hatásait 20-40 perces szuperfúzió után kezdjük mérni. Az eredmények statisztikai kiértékelését a páros és páratlan Student "t" próbával végezzük el.

b) "Whole-cell" (egész-sejt) voltage clamp technika

A Hamill és mtsai (31) által leírt "patch-clamp" technika egész sejt "voltage-clamp" módszerét alkalmazzuk nyúl, tengerimalac és patkány kamrai izolált miocytákon. A kamrai miocytákat retrográd koronária perfúzió alkalmazásával, I. típusú kollagenáz enzimmel izoláljuk (36). A méréseket -Nikon inverziós mikroszkópra helyezett - szervfűrdőben, Narashige hidraulikus mikro-"drive" és Axopatch 1-D patch-clamp erősítő segítségével végezzük. A "patch" elektródákat kétfázisú húzással készítjük, amelyek ellenállása a standard, intracelluláris jellegű elektróda-oldattal történő feltöltés után, 2-4 Mohm. A nagy ellenállású kontaktust a sejtmembrán és az elektróda között ("gigaseal") enyhe szívással érjük el. A "gigaseal"-t további szívással vagy oszcilláló áramlökéssel nyitjuk meg, így teremtve meg az elektromos összeköttetést az elektróda és az intracelluláris tér között. Az analóg voltage clamp jeleket Axon "Labmaster" DMA AD "interface" és Axon PCLAMP szoftver alkalmazásával, IBM AT típusú számítógépen jelenítjük meg, tároljuk és értékeljük ki. A vizsgálandó anyagok hatásait 5-10 perces szuperfúzió után kezdjük mérni. Az eredmények statisztikai analízisét a páros és páratlan Student "t" próbával végezzük.

c) Intracelluláris calciummérés

Az intracelluláris calciummérést indo-1 epifluoreszcens módszerrel tervezzük megmérni. A kísérletekhez az előzőekben már említett módon izolált kamrai miocytákat használunk. A sejteket inverziós mikroszkópra helyezett szervfűrdőben indo-1 aminoszter festékkel inkubáljuk 5 percig. Ezután a sejteket normál tápoldatba helyezük. A sejtekbe penetrált lipoid-oldékony indo1 aminoszter festéket a sejt citoplazma enzimjei deszterifikálják, amely így vízdékony lipoid inszolubilis formában a sejtől nem tud távozni. A sejteket ultraibolya fényvel (xenon lámpa) világítjuk meg. A sejtekben az izgató fénysugár hatására az indo-1 festék az intracelluláris szabad kalcium koncentrációjától függően 400 és 500 nm hullámhosszú fény fluoreszcens kibocsátásával válaszol. A 400 és 500 nm-es fényemissziót fotométerekkel és megfelelő erősítőkkel regisztráljuk. Az intracelluláris kalcium koncentrációt illetve annak változásait a megfelelő kalibrálások után a 400 és 500 nm-es fénykibocsátás arányváltozásaiból számítjuk ki.

A téma lehetséges gyakorlati jelentősége

A kutatási tervjavaslatban vázolt kísérletek gyakorlati jelentősége két fő irányba mutathat. Az antiaritmiás és pozitív inotrop szerek ioncsatornákra gyakorolt hatásainak pontosabb ismerete segítséget nyújthat a már meglévő szerek klinikai alkalmazását illetően. A megfelelő hatásmechanizmusú gyógyszer tudatos alkalmazásával esetleg kedvezőbb terápiás hatás érhető el és bizonyos mellékhatások elkerülhetővé válnak. A hatásmód mélyebb

ismerete segítséget nyújthat az antiaritmiás és pozitív inotrop gyógyszerekkel történő racionális kombinációs kezeléshez. Másrészt, az antiaritmiás szerek ionsatornákra gyakorolt hatásának ismerete serkentőleg hathat új, az eddigieknél specifikusabb gyógyszerek kifejlesztéséhez. Ezen utóbbi szempont különösen időszerűvé vált az újabb molekuláris biológiai kutatások eredményeinek fényében, hiszen a funkció és struktúra mélyreható ismerete az eddigieknél tudatosabb gyógyszerkutatási stratégiát tesz lehetővé.

Mindezekon kívül a program természetesen lehetőséget kínál a fiatal doktorjelölteknek a szív farmakológia alapkérdéseinek megismeréséhez, amelyek keretében az alábbi konkrét problémákat vizsgálják:

- a) Az antiaritmiás szerek frekvenciafüggő hatásai a szív akciós potenciáljára és az azt meghatározó ionáramokra.
- b) Az új típusú pozitív inotrop szerek hatásai az intracelluláris kalciummozgásokra.
- c) A proaritmia celluláris mechanizmusa.

A kutatás műszeres és személyi feltételei

A SZTE Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetben, a tervezett vizsgálatok céljára, rendelkezésünkre áll két nagyméretű kb. 8 x 8 m-es és három kisebb méretű kb. 4 x 4 m-es laboratóriumi helység. Ugyancsak rendelkezésünkre áll 4 konvencionális mikroelektródtechnikai berendezés (4 db mikromanipulátor, 3 db HugoSachs és 1 db Bio-Logic intracelluláris erősítő és differenciáló berendezés, 4 db Tekronix memoria-oszcilloszkóp, 4 db 386 IBM kompatibilis számítógép perifériákkal és 1 "patch-clamp" mérőhely (1 db Narishige hidraulikus mikrodrive és 1 db mechanikus manipulator, 1 db TMC-rezgésmentes lézerasztal, 1 db Nikon TMS inverziós mikroszkóp video kiépítéssel, 1 db Axopatch-1 D patch clamp erősítő, 3 db Axon Labmaster DMA interface + pentium IBM kompatibilis számítógép perifériákkal). A konvencionális mikroelektródtechnikát 1970 óta rendszeresen alkalmazzuk intézetünkben a szívre ható gyógyszerek kutatásában. A patch-clamp módszert Lathrop professzor (Cincinnati, USA), az epifluoreszcens kalciummérést Eisner professzor (Liverpool, Anglia) laboratóriumában, a témavezető megtanulta, így a módszerek elsajátítását illetően előreláthatóan a doktorjelölt kutatóknak nem kell különösebb nehézséggel számolniuk

Irodalmi hivatkozások jegyzéke

1. Vaughan Williams EM: Classification of anti-dysrhythmic drugs. *Pharmacol Ther B* 1975; **1**: 115-138
2. Hondeghem LM, Katzung BG: Antiarrhythmic agents: The modulated receptor mechanism of action of sodium and calcium channel-blocking drugs. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1984; **24**: 387-423
3. Starmer CF, Grant AO, Strauss HC: Mechanisms of use-dependent block of sodium channels in excitable membranes by local anaesthetics. *Biophys J* 1984; **46**: 15-27
4. Campbell TJ: Kinetics of onset of rate-dependent effects of class I antiarrhythmic drugs are important in determining their effects on refractoriness in guinea-pig ventricle, and provide a theoretical basis for their subclassification. *Cardiovasc Res* 1983; **17**: 344-35
5. Strauss HC, Bigger JC, Hoffman BF: Electrophysiological and β -receptor blocking effects of MJ 1999 on dog and rabbit cardiac tissue. *Circ Res* 1970; **26**: 661-678
6. Waldo AL, Camm AJ, deRuyter H, Friedman PL, MacNeil DJ, Pauls JF, Pitt B, Pratt CM, Schwartz PL, Veltri EP: Effect of D-sotalol on mortality in patients with left ventricular dysfunction after recent and remote myocardial infarction. The SWORD investigators. *Survival with oral D-sotalol. Lancet* 1996; **348**(9019): 7-12

7. Jurkiewicz NK, Sanguinetti MC: Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide class III antiarrhythmic agent. Specific block of rapidly activating delayed rectifier K⁺ current by dofetilide. *Circ Res* 1993; 71: 75-83
8. Linch JJ, Houle MS, Stump GL, Wallance AA, Gilberto DB, Jahansouz H, Smith GR, Tebben AJ, Liverton NJ, Selnick HG, Claremon DA, Billman GE: Antiarrhythmic efficacy of selective blockade of the cardiac slowly activating delayed rectifier current I(K_s), in canine models of malignant ischemic ventricular arrhythmia. *Circulation* 1999; 100: 1917-1922
9. Kantor PF, Coetzee WA, Carmeliet EE, Dennis SC, Opie LH: Reduction of ischemic K⁺ loss and arrhythmias in rat heart. Effect of glibenclamide, a sulfonylurea. *Circ Res* 1991; 66: 478-485
10. Cacciapuoti F, Spiezia R, Bianchi U, Lama D, D'Avino M, Varrichio M: Effectiveness of glibenclamide on myocardial ischemic ventricular arrhythmias in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *M J Cardiol* 1991; 67: 843-847
11. Egan TM, Noble D, Noble SJ, Powell T, Spindler AJ, Twist VW: Sodiumcalcium exchange during the action potential in guinea-pig ventricular cells. *J Physiol* 1989; 411: 639-661
12. Eyolfson DA, Dhalla NS: Interaction of some antiarrhythmic drugs with the heart sarcolemmal Na⁺-Ca²⁺ exchange system. *Basic Res Cardiol* 1989; 84: 414-420
13. Köbinger W, Lille C: Specific bradycardiac agents - A novel pharmacological class? *Eur Heart J* 1987; 8 (suppl L): 7-15
14. Varró A, Elharrar V, Surawicz B: Effect of antiarrhythmic drugs on the premature action potential duration in canine cardiac Purkinje fibers. *J Pharmacol Exp Ther* 1985; 233: 304-311
15. Varró A, Nakaya Y, Elharrar V, Surawicz B: Effect of antiarrhythmic drugs on the cycle length-dependent action potential duration in dog Purkinje and ventricular muscle fibers. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986; 8: 178-185
16. Varró A, Surawicz B: Effect of antiarrhythmic drugs on channels in cardiac muscle. in: *Cardiac Electrophysiology and Arrhythmias* eds. Fisch C and Surawicz B. Elsevier Science Publishing Co Inc 1991.
17. Lee KS, Hume JR, Giles W, Brown AM: Sodium current depression by lidocaine and quinidine in isolated ventricular cells. *Nature* 1981; 291: 325-332
18. Snyders DJ, Hondeghem LM: Effects of quinidine on the sodium current of guinea pig ventricular myocytes. Evidence for a drug-associated rested state with altered kinetics. *Circ Res* 1990; 66: 565-579
19. Follmer CH, Aomine M, Yeh JZ, Singer DH: Amiodarone-induced block of sodium current in isolated cardiac cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 243: 187-194
20. Bean BP, Cohen JC, Tsien RW: Lidocaine block of cardiac sodium channels. *J Gen Physiol* 1983; 81: 613-642
21. Colatsky TJ: Mechanisms of action of lidocaine and quinidine on action potential duration in rabbit cardiac Purkinje fibers. An effect on steady-state sodium currents? *Circ Res* 1982; 50: 17-27
22. Nawrath H: Action potential, membrane currents and force of contraction in mammalian heart muscle fibers treated with quinidine. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 216: 176-182
23. Hiraoka M, Sawada K, Kawano S: Effects of quinidine on plateau currents of guinea-pig ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1986; 18: 1097-1106
24. Scamps F, Undrovinas A, Vassort G: Inhibition of I_{Ca} in single frog cardiac cells by quinidine, flecainide, ethmozin and ethacizin. *Am J Physiol* 1989; 256: C549-C559
25. Nishimura M, Follmer CH, Singer DH: Amiodarone blocks calcium current in single guinea pig ventricular myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1989 251: 650-659
26. Imaizumi Y, Giles W: Quinidine-induced inhibition of transient outward current in cardiac muscle. *Am J Physiol* 1987; 253: H704-H708
27. Roden DM, Bennett PB, Snyders DJ, Balsor J, Hondeghem LM: Quinidine delays Ik

- activation in guinea pig ventricular myocytes. *Circ Res* 1988; 62: 1055-1058
28. Follmer CH, Colatsky TJ: Block of delayed rectifier potassium current I_K by flecainide and E-4031 in cat ventricular myocytes. *Circulation* 1990; 82: 2892-93 .
 29. Balsler JR, Bennett PB, Hondeghem LM, Roden DM: Suppression of time-dependent outward current in guinea pig ventricular myocyte. Actions of quinidine and amiodarone, *Circ Res* 1991; 69: 519-529
 30. Carmeliet E, Saikawa T: Shortening of the action potential and reduction of pacemaker activity by lidocaine, quinidine and procainamide in sheep cardiac Purkinje fibers. An effect on Na or K currents? *Circ Res* 1982; 50: 257-272
 31. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ: Improved patch-clamp technique for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflügers Arch* 1981; 391: 85-100
 32. Papp JGy, Németh M, Krassói I, Mester L, Hála O, Varró A: Differential electrophysiologic effects of chronically administered amiodarone on canine Purkinje fibers versus ventricular muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996; 1: 287-296
 33. Baczkó I, El-Reyani NE, Farkas A, Virág L, Iost N, Leprán I, Mátyus P, Varró A, Papp JGy: Antiarrhythmic and electrophysiological effects of GYKI-16638, a novel N-(phenoxyalkyl)-N-phenylalkylamine, in rabbits. *Eur J Pharmacol* 2000; 404: 181-190
 34. Varró A, Baláti B, Iost N, Takács J, Virág L, Lathrop DA, Lengyel Cs, Tálosi L, Papp JGy: The role of the delayed rectifier component I_{Ks} in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization. *J Physiol* 2000; 523: 67-81
 35. Lengyel Cs, Iost N, Virág L, Varró A, Lathrop DA, Papp JGy: Pharmacological block of the slow component of the outward delayed rectifier current (I_{Ks}) fails to lengthen rabbit ventricular muscle QT_c and action potential duration. *Br J Pharmacol* 2001; 132: 101-110

(B) ENDOGÉN PROTEKTIV HATÁSÚ ANYAGOK SZEREPE A SZÍV KÜLÖNBÖZŐ PATOLÓGIÁS ÁLLAPOTAIBAN

Témavezető: Dr. Végh Ágnes, az orvostudomány doktora, egyetemi tanár

A kutatási téma előzményei

Az elmúlt tizenöt év kísérletes kardiológiai kutatásainak az egyik legjelentősebb eredménye annak a felismerése volt, hogy a szív adaptálódik az ischaemiás stresszhez. Az adaptáció egyik formáját, amely szerint *rövid ideig tartó koszorúér okklúziók és reperfúziók sorozata védelmet nyújthat az ismételt bekövetkező, de immáron hosszabb ideig fennálló ischaemia káros következményeivel szemben*, ischaemiás prekondicionálásnak nevezzük (1). A prekondicionálás következtében csökken az ischaemiás károsodás (nekrozis) mértéke (1), javul a szívmuszkulatura kontraktilitásának reperfúziót követő helyreállása (2) és, ami talán a védőhatás legfontosabb aspektusa, a prekondicionálás véd az ischaemia és reperfúzió során fellépő súlyos, gyakran fatális kimenetelű kamrai arhythmiaikkal szemben (3, 4, 5). Az eltelt évek során kiderült, hogy a védőhatás két, viszonylag jól elkülöníthető fázisban jelentkezik; a prekondicionáló inger követően 1-2 órán belül tapasztalható az ún. "korai" hatás, amely ezen idő eltelte után megszűnik. Van azonban védelemnek egy "késői" fázisa is, amely a prekondicionáló inger után kb. 24 óra múlva jelentkezik és hosszabb ideig (napokig) megmarad (6, 7, 8). A prekondicionálás általunk vizsgált, az ischaemia és reperfúzió során megjelenő kamrai arhythmiaikkal szemben mutatott védőhatása nemcsak rövid koszorúér okklúziókkal, de a szív elektromos ingerlésével (9, 10), sőt a „késői” antiarrhythmias hatás az ischaemiát megelőzően 24 órával végzett szubmaximális fizikai terheléssel is előidézhető (11).

Bár a prekondicionálás pontos mechanizmusa jelenleg sem ismert részleteiben, feltételezhető, hogy az kardioprotektív hatás kialakításában olyan "endogén eredetű protektív hatású anyagok" keletkezése és felszabadulása áll, mint például az adozin (12), a

bradykinin (13, 14, 15, 16), a prosztaciklin (4) vagy a nitrogén oxid (17, 18, 19, 20, 21), amelyek a szívizomsejtek receptoraihoz kapcsolódva, különböző intracelluláris jelátviteli folyamatok aktiválásán keresztül a szívet hosszabb-rövidebb ideig védetté teszik az ischaemia káros következményeivel szemben (21, 22, 23, 24, 25, 26, 27).

Kutatás koncepciója és vizsgálható problémák

A prekondicionálás kardioprotektív hatásában szerepet játszó mechanizmusok kutatásában viszonylag kisebb hangsúlyt kapott a vegetatív idegrendszer szerepének tisztázása. Jól ismert, hogy a szívizom ischaemiás megbetegedése során gyakran lépnek fel arrhythmiai. Azt is régóta tudjuk, hogy az ischaemia korai fázisában a szívizomban lokálisan felszabaduló noradrenalin jelentős mértékben hozzájárul az arrhythmiai kialakulásához. Mivel a prekondicionálás igen kifejezett védőhatást nyújt az okklúziós-reperfúziós antiarrhythmiaiak szemben, így kézenfekvő hogy a továbbiakban vizsgálatokra kerüljön sor a vegetatív idegrendszer ezen védőhatásban játszott szerepének tisztázására. Ezt a következő megfontolások is indokolják:

A prekondicionálás védőhatása nemcsak a szívben alakítható ki, de más szervek is (pl. az agy, vese, vázizom, bélrendszer) is prekondicionálhatók. Mindezen szervekben két olyan tényező található ami közös; az egyik a vérellátás, az érrendszer, a másik a beidegzés, a (vegetatív) idegrendszer.

Korábbi vizsgálatainkban igazoltuk, hogy az erek endotheliumából felszabaduló endogén mediátorok (pl. bradikinin és nitrogén oxid) szerepet játszanak a prekondicionálás antiarrhythmiai hatásában. Abból a tényből indultunk ki, hogy az ischaemiás szívbetegség kiindulópontja a koszorúér károsodás. A koszorúérbetegség kialakulása során megváltozik ezen „védő” hatású anyagok képződése, s amelyek hiányában a szív metabolikus, elektrofiziológiai folyamatainak finomabb szabályozása károsodást szenved (28). *Prekondicionálással* (talán ezen endothél eredetű mediátorok képződésének fokozásával?) *vagy olyan gyógyszeres terápiával amely ezen endogén anyagok hiányát pótolja* (pl. nitrogén oxid donorok, ACE gátlók) *az ischaemiás károsodás illetve ennek következményei kedvezően befolyásolhatók* (29, 30). Hipotézisünk szerint szoros együttműködés létezik az ér és a célszövet, jelen esetben a szívizom között, amely a reguláció ezen szintjén endogén mediátorok közvetítésével jön létre (28).

A szív autonóm beidegzése jelentős szerepet játszik a szív normális és kóros működésében. Valószínűtlen, hogy a prekondicionálás, amely az eredeti definíció szerint egy rövid ideig fennálló ischaemia, ne befolyásolná a szív vegetatív kontrollját és ez a kontroll ne venne részt a prekondicionálás antiarrhythmiai hatásában. Ez különösen annak a fényében tűnik fontosnak, hogy a szimpatikus idegingerlés fokozza, míg a vegetatív hatások gátlása csökkenti az arrhythmogenezist (29).

Az idegrendszer (vegetatív idegrendszer) prekondicionálásban játszott szerepére utalhat az ún. „távoli” prekondicionálás jelensége is; azaz az egyik szerv átmeneti ischaemiája védelmet alakíthat ki egy másik szerv hosszabb ideig fennálló ischaemiás károsodásának következményeivel szemben. Az „információ átvitel” ezen módja feltételezheti az idegrendszer közvetítő szerepét a védőhatás kialakításában.

Ezen megfontolásoknak megfelelően a jövőben vizsgálni kívánjuk *vajon a vegetatív idegrendszernek szerepe van-e a prekondicionálás antiarrhythmiai hatásában*. Ezekben a vizsgálatainkban mérjük a baroreflex szenzitivitást (BRS), mint a vagus reflex tevékenységére utaló egyik markert, amely szoros korrelációt mutat az arrhythmiai alakulásával (29).

A szív adaptáció kialakításának egyik, a jövőben nagy érdeklődésre számot tartható módja, a **fizikai terheléssel (tréning) kialakítható kardioprotektív hatás**. Ezen a téren végzett előzetes vizsgálataink eredményei arra utalnak, hogy az ischaemia kísérletes

kialakítása előtt 24 órával végzett egyszeri terhelés drámai módon csökkenti az okklúzió illetve a reperfúzió során megjelenő arrhythmákat (11). A rendszeres fizikai tréning, mint módszer, mind a primer mind a szekunder prevencióban nagy szerepet játszhat. Ennek a kísérletes adatokkal történő alátámasztása azonban a jövő feladata. Mind humán, mind állatkísérletes adatok arra utalnak, hogy az érendothelben expresszálódó és a szívben felszabaduló nitrogén oxidnak szerepe van a fizikai aktivitással kialakítható kardioprotekcióban.

A fentieket figyelembe véve, doktoranduszok az alábbi tudományos probléma-körök vizsgálatába kapcsolódhatnak be:

- 1) Vaszkuláris eredetű endogén anyagok és ezek képződését serkentő vagy gátló gyógyszerek lehetséges szerepe az ischaemiás prekoncionálás kialakulásában.
- 2) A vegetatív idegrendszer ill. a neurotranszmitterek szerepe a prekoncionálás antiarrhythmias hatásában.
- 3) A fizikai terheléssel kialakítható kardioprotektív hatás mechanizmusa.

A vizsgálatokra in vivo ill. in situ **állatkísérletes modelleken** kerül sor. A témavezető az SZTE Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetének Hemodinamikai Laboratóriumát irányítja, ahol mindazon módszerek ill. műszerek rendelkezésre állnak, amelyek lehetőséget adnak súlyos kardiovaszkuláris állapotok (pl. akut és krónikus szívelégtelenség, akut szívinfarktus, szív-ritmus- és szív-kontraktilitás-zavarok) modellezésére.

A Hemodinamikai Laboratórium kompetenciája a koszorúér elzáródás és reperfúzió során fellépő súlyos, gyakran fatális kimenetű arrhythmák kutatása és ezek prekoncionálással történő gátlása terén nemzetközileg is elismert (8,18-28).

Idézett irodalom

1. Murry C.E., Jennings R.B. & Reimer K.A.: Preconditioning with ischaemia: a delay of lethal cell injury in the ischaemic myocardium. *Circulation*, 74: 1124-1136, 1986.
2. Cave A.C. & Hearse D.J.: Ischaemic preconditioning and contractile function: studies with normothermic and hypothermic global ischaemia. *J Mol Cell Cardiol.*, 24: 1113-1123, 1992.
3. Shiki K. & Hearse D.J.: Preconditioning of ischaemic myocardium: reperfusion induced arrhythmias. *Am J Physiol.*, 253: H1470-1476, 1987.
4. Végh Á., Szekeres L. & Parratt J.R.: Protective effects of preconditioning of the ischaemic myocardium involve cyclooxygenase products. *Cardiovasc Res.*, 24: 1020-1023, 1990.
5. Végh Á., Komori S., Szekeres L. & Parratt J.R.: Antiarrhythmic effects of preconditioning in anaesthetized dogs and rats. *Cardiovasc Res.*, 26: 487-495, 1992a.
6. Kuzuya T., Hoshida S., Yamashita N., Fuji H., Oe H., Hori M., Kamada T. & Tada M.: Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance of ischemia. *Circ Res.*, 72: 1293-1299, 1993.
7. Marber M.S., Latchman D.S., Walker J.M. & Yellon D.M. □ Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation*, 88: 1264-1272, 1993.
8. Végh Á., Papp J.Gy., Szekeres L., Kaszala K. & Parratt J.R.: Antiarrhythmic effects of ischaemic preconditioning during the "second window of protection". *J Mol Cell Cardiol.*, 26: 346, 1994.
9. Végh Á., Szekeres L. & Parratt J.R.: Transient ischaemia induced by rapid cardiac pacing results in myocardial preconditioning. *Cardiovasc Res.*, 25: 1051-1053, 1991.
10. Kaszala K., Végh Á., Papp J.Gy. & Parratt J.R.: Time course of the protection against ischaemia and reperfusion induced ventricular arrhythmias resulting from brief periods of cardiac pacing. *J Mol Cell Cardiol.*, 28: 2085-2095, 1996.

11. Végh Á., Babai L., Kovács K., Papp J.Gy., Parratt J.R.: Exercise 24h prior to coronary artery occlusion reduces arrhythmia severity in dogs: role of nitric oxide. (The Physiological Society, Abst. Imperial College, London 12-14 April 2000). *J Physiol (London)* **525P**: 15P, 2000.
12. Downey J.M. , Liu G.S. & Thornton D.J.: Adenosine and the anti-infarct effects of preconditioning. *Cardiovasc Res.*, *27*: 3-8, 1993.
13. Végh Á., Szekeres L., Parratt J.R.: Local intracoronary infusions of bradykinin profoundly reduce the severity of ischaemia induced arrhythmias in anaesthetized dogs. *Br J Pharmacol*, *104*: 294-295, 1991.
14. Végh Á., Papp J.Gy., Parratt J.R. Attenuation of the antiarrhythmic effects of ischaemic preconditioning by blockade of bradykinin B2 receptors. *Br J Pharmacol*, **113**: 1167-1172, 1994.
15. Kaszala K., Végh Á., Papp J.Gy., Parratt J.R.: Modification by bradykinin B2 receptor blockade of the protection by pacing against ischaemia-induced arrhythmias. *Eur J Pharmacol*, **328**: 51-60, 1997.
16. Parratt J.R., Végh Á. & Papp J.Gy.: Bradykinin as an endogenous myocardial protective substance with particular reference to ischaemic preconditioning. A brief review of evidence. *Can J Physiol Pharmacol.*, *73*: 837-842, 1996.
17. Végh Á., Szekeres L. & Parratt J.R.: Preconditioning of the ischaemic myocardium: involvement of the L-arginine nitric oxide pathway. *Br J Pharmacol.*, *107*: 648-652, 1992b.
18. Végh Á., Papp J.Gy., Szekeres L. & Parratt J.R.: The local intracoronary administration of methylene blue prevents the pronounced antiarrhythmic effect of ischaemic preconditioning. *Br J Pharmacol.*, *107*: 910-911, 1992.
19. Végh Á., Papp J.Gy., Parratt J.R.: Prevention by dexamethasone of the marked antiarrhythmic effects of preconditioning induced 20 h after rapid cardiac pacing. *Br J Pharmacol.*, *113*: 1081-1082, 1994.
20. Kis A., Végh Á., Papp J.Gy., Parratt J.R.: Repeated cardiac pacing extends the time during which canine hearts are protected against ischaemia-induced arrhythmias. Role of nitric oxide. *J Mol Cell Cardiol*, **31**: 1229-1241, 1999.
21. Kis A., Végh Á., Papp J.Gy., Parratt J.R.: Pacing-induced delayed protection against arrhythmias is attenuated by aminoguanidine, an inhibitor of nitric oxide synthase. *Br J Pharmacol*, **127**: 1545-1550, 1999.
22. Végh Á. & Parratt J.R.: Ischaemic preconditioning markedly reduces the severity of ischaemia and reperfusion-induced arrhythmias; role of endogenous myocardial protective substances. In : *Myocardial Preconditioning*. Eds: C.L. Wainwright and J.R. Parratt, Chapter 3, pp 35-60, Springer, Berlin, 1996.
23. Parratt J.R., Végh Á., Kaszala K. & Papp J.Gy.: Suppression of life-threatening ventricular arrhythmias by brief periods of ischaemia and by cardiac pacing with particular reference to delayed myocardial protection. In. *Ischaemia, preconditioning and adaptation*. Eds: M. Marber and D.M. Yellon, Chapter: 5, pp. 85-113, BIOS Scientific Publishers, Oxford, 1996.
24. Parratt J.R. & Végh Á.: Coronary Vascular Endothelium, Preconditioning and Arrhythmogenesis. In: *Endothelial modulation of cardiac contraction*. Eds: M. Lewis & A. J. Shah, Harwood Academic Publisher, Reading, UK. Chapter 2, pp. 237-254, 1996.
25. Parratt J.R., Végh Á. & Papp J.Gy.: Pronounced antiarrhythmic effects of ischaemic preconditioning - are there possibilities for pharmacological exploitation? *Pharmacol Res.*, *31*: 225-234, 1995.
26. Parratt J.R. & Végh Á.: Endothelial cells, nitric oxide and ischaemic preconditioning. *Basic Res Cardiol.*, *91*: 27-30, 1996.
27. Parratt J.R., Végh Á., Kaszala K. & Papp J.Gy.: Protection by Preconditioning and Cardiac Pacing Against Ventricular Arrhythmias Resulting from Ischaemia and

- Reperfusion. In: Myocardial Preservation, Preconditioning, and Adaptation. Ann New York Acad Sci., 793: 98-108, 1996.
28. Parratt J.R., Végh Á., Zeitlin I.J., Ahmad M., Oldroyd K., Kaszala K., Papp J.Gy.: Bradykinin and endothelial-cardiac myocyte interactions in ischaemic preconditioning. *Am J Cardiol*, **80**: (3A), 124A-131A, 1997.
29. Rastegar M.A., Marchini F., Morazzoni G., Végh Á., Papp J.Gy., Parratt J.R.: The effects of Z13752A, a combined ACE/NEP inhibitor, on responses to coronary artery occlusion; a primary protective role for bradykinin. *Br J Pharmacol*, **129**: 671-680, 2000.
30. György K., Végh Á., Rastegar M.A., Papp J.Gy., Parratt J.R.: Isosorbide-2-mononitrate reduces the consequences of myocardial ischaemia, including arrhythmia severity: implications for preconditioning. *Cardiovasc Drugs Ther*, **14**: 481-488, 2000.
31. Billman G.E., Schwartz, P.J. & Stone, H.L. Baroreceptor reflex control of heart rate: a predictor of sudden cardiac death. *Circulation* **66**, 874-880, 1982.
38. Sessa, W.C., Pritchard K., Seyedi N., Wang J. & Hintze T.H.: Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res.*, 74: 349-353, 1994.
39. Mombouli J-V., Nakashima M., Hamra M. & Vanhoutte P.M.: Endothelium-dependent relaxation and hyperpolarisation evoked by bradykinin in canine coronary arteries: enhancement by exercise-training. *Br J Pharmacol.*, 117: 413-418, 1996.

(C) A HIRTELEN SZÍVHALÁL GYÓGYSZERES ÉS DIÉTÁS MEGELŐZÉSE

Témavezető: Dr. Leprán István, MTA doktora, egyetemi tanár

Célkitűzés

A szívizom infarctust követő, életet veszélyeztető kamrai arrhythmia keletkezési mechanizmusának tanulmányozása, gyógyszeres és diétás előkezelésekkel történő megelőzésének kutatása, állatkísérletes modellek alkalmazásával. Vizsgálni kívánjuk a különböző antiarrhythmiaszerek, illetve a renin-angiotenzin rendszerre ható gyógyszerek kölcsönhatását telítetlen zsírsavakban gazdag diétával. Célkitűzésünk annak tanulmányozása, hogy a kölcsönhatás révén miként módosul a szerek hatása a kísérletes szívizom infarctust követő arrhythmia megjelenésére, az infarctusos károsodás nagyságának kialakulására, valamint az antiarrhythmiaszerek proarrhythmias aktivitására. A kutatási téma művelése során **doktoranduszok számára is lehetőség nyílik az alább ismertetésre kerülő mechanizmusok tanulmányozására és módszerek elsajátítására.**

Vizsgálandó mechanizmusok

- 1/ vegetatív idegrendszer aktivációja;
- 2/ renin-angiotenzin rendszer aktivációja;
- 3/ stressz-adaptáció, természetes védőmechanizmusok vizsgálata, az ATP-függő kálium-csatorna szerepének tanulmányozása;
- 4/ telítetlen zsírsav-dús diéta hatásnak és hatásmódjának vizsgálata.

Alkalmazásra kerülő módszerek:

1/ Szívizom infarctus éber patkányban (1,2,3)

Kísérleteinkhez hím, Sprague-Dawley CFY törzshöz tartozó, 260-300 g-os testsúlyú patkányokat használunk. Előzetes műtéti beavatkozás során éter narkózist alkalmazva a

mellkast a 4. bordaközben megnyitjuk és atraumatikus sebészeti tű segítségével (Ethicon) laza fonal hurkot helyezünk el a bal coronaria arteria leszálló ága köré, annak eredésétől kb. 2 mm-re. A fonal végeit egy cilindrszerűen kiképzett műanyag tubuson (Portex) keresztül vezetjük a mellkason kívülre, majd a mellkast egyetlen öltéssel, a bordák összehúzásával zárjuk. Kellően begyakorlott műtéti technikával az állat mellkasa kb. 40 másodpercig van nyitva, s ez elég rövid idő ahhoz, hogy mesterséges lélegeztetésre ne legyen szükség. A mellkas zárása után az állatok spontán légzése azonnal helyreáll.

Az előzetes műtét után 7-8 nappal - az állatok teljes felépülése után - a laza fonal ligatúra meghúzásával hozzuk létre a coronaria arteria akut elzárását - éber, szabadon mozgó patkányban. A lekötés után folyamatosan regisztráljuk az EKG-t (PowerLab 8SP, ADInstruments). Meghatározzuk a túlélési arányt a szívizom infarktus akut fázisában (első 20 perc) és az azt követő 16 órában. Az akut fázisban megjelenő aritmiákat a nemzetközileg elfogadott standard szerint értékeljük (Lambeth Conventions: Cardiovasc. Res. 22: 447-455, 1988) a következő csoportosításban: kamrafibrilláció (VF), kamrai tachycardia (VT), egyéb típusú aritmiák, ideértve kamrai extraszisztolákat (VEB), bigeminiát és salvo-t. Az aritmiák megjelenésének gyakorisága mellett mérjük azok megjelenési idejét és az aritmiás rohamok hosszát is.

Infarktusos terület meghatározása: A coronaria arteria lekötetést követő 16. óráig túlélő állatokban az infarktusos területet Nachlas és Schnitka (Am. J. Pathol. 42: 379-405, 1963) módszerével, nitro-tetrazoliumkék festés után határozzuk meg. A nem festődő infarktusos területet nagyságát a/ kimetszés és tömegmérés után, vagy b/ számítógépes értékelés után a kamrák össztömegének százalékában fejezzük ki.

Statisztikai értékelés: A túlélési arány és az aritmiák előfordulásának összehasonlítására a Chi-négyzet próbát alkalmazzuk. Az egyéb paraméterek átlagát és az átlag szórását (S.E.) számítjuk, a csoportok összehasonlítását - a variancia-analízis elvégzése után - módosított 't'-próba segítségével végezzük (Wallenstein és mtsai.: Circulation Res. 47: 1-9, 1980). Az aritmia index statisztikai értékelése az általánosított Wilcoxon-teszt alapján történik (Knapp és Wise; Circulatory Shock 16: 375-381, 1985).

2/ Szívizom ischaemia és reperfüzió altatott patkányban (4,5)

A patkányokat pentobarbitallal elaltatjuk (50 mg/kg i.p.), majd a trachea kanülálása után a negyedik bordaközben mellkast nyitunk. Ezzel egyidejűleg gondoskodunk az állatok mesterséges lélegeztetéséről (Harvard kisállatlélegeztető, 60 belégzés/perc). A bordák terpesztése után a szívet mellkason kívülre pattintjuk és atraumatikus fonal segítségével laza ligatúrát helyezünk el a bal coronaria arteria leszálló ága köré, kb. 2 mm-re annak eredésétől. A fonal mindkét végét egy kb. 10 cm-es műanyag csövön keresztül vezetjük a mellkason kívülre.

Az állatok vérnyomását (szisztolés, diasztolés, átlag) a bal carotis arteriába helyezett kanülön keresztül elektromanométer (Gould-Statham P23ID) segítségével mérjük (PowerLab 8SP, ADInstruments, Anglia). A kísérlet során bőr alá szűrt tüelektródok segítségével bipoláris mellkasi elektrogramot készítünk.

A vérnyomás és a szívfrekvencia stabilizálódása (kb. 5-10 perc) után a laza fonal ligatúra mindkét végét megfeszítjük és ezáltal akut szívizom ischaemiát hozunk létre. Hat, vagy 12 percig tartó ischaemia után a ligatúrát felengedjük és ezzel az ischaemiás szívizom reperfüzióját hozzuk létre. Az ischaemia és a reperfüzió során megjelenő aritmiákat az éber patkány módszernél leírtakhoz hasonlóan értékeljük.

3/ Krónikus szívizom infarctus patkányban

Az előzőekhez hasonlóan coronaria arteria lekötést hozunk létre patkányban éter narkózis alatt. A szívizom infarctus akut fázisát túlélő állatokat 1-3 hónapon keresztül megfigyeljük, regisztráljuk az állatok elhullását. A vizsgálat végén pentobarbital altatásban mérjük az állatok szisztémás vérnyomását, a bal kamrai nyomásváltozásokat, bal kamrai végdiasztolés nyomást, $\pm dP/dt$ értékeket, a perctérfogatot és regisztráljuk az EKG-t (PowerLab 8SP, ADInstruments, Anglia). Vizsgáljuk az infarctusos állatok haemodinamikai paramétereinek változását volumen-terhelést (10 ml i.v. izotóniás NaCl) követően. A kísérlet végén az előbbiekhöz hasonlóan meghatározzuk a szívizom infarctus kiterjedését, a bal kamra üreg nagyságát, a nem infarctusos szívizom hipertrofiáját.

4/ Antiarrhythmias és proarrhythmias hatás összehasonlító vizsgálata (6)

A proarrhythmias hatás az akciós potenciál időtartamát nyújtó szerek jellegzetes mellékhatása. Ezt az elektrofiziológiai szempontok alapján emberi szívhez jobban hasonlító nyúl szívben vizsgáljuk.

Az antiarrhythmias hatás tanulmányozásához pentobarbitallal altatott (30 mg/kg iv.) nyúlban mellkas nyitás és mesterséges lélegeztetés mellett a bal circumflex coronaria artéria első oldalágának 10 percig tartó lekötése révén regionális ischaemiát hozunk létre, majd a lekötés felengedésével reperfüziós károsodást idézünk elő. Az arrhythmiasokat az 1/ pont szerint értékeljük.

Az antiarrhythmias szerek pro-arrhythmias hatásának vizsgálatára Carlsson és mtsai. (1990) α -adrenerg receptor izgatóval érzékenyített nyúl modelljét alkalmazzuk. Altatott nyulaknak (5 mg/kg i.v. pentobarbital + 100 mg/kg i.v. α -kloralóz) fenilefrint infundálunk (15 μ g/kg/perc) és emellett a vizsgált antiarrhythmias szer (pl. almokalant, d-sotalol, amiodaron, kinidin) emelkedő dózisait adjuk. Vizsgáljuk az arrhythmias időbeni megjelenését, különös tekintettel a polimorf kamrai tachycardia ('torsade de pointes') előfordulásának gyakoriságára.

Idézett irodalom

- 1) Leprán I., Koltai M., Siegmund W., Szekeres L.: Coronary artery ligation, early arrhythmias and determination of the ischaemic area in conscious rats. *J. Pharmacol. Meth.* 1983, 9:219-230.
- 2) Leprán I., Nemezc Gy., Koltai M., Szekeres L.: Effect of linoleic acid-rich diet on the acute phase of coronary occlusion in conscious rats: Influence of indomethacin and aspirin. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1981, 3:847-853.
- 3) Leprán I., Baczkó I., Varró A., Papp J.Gy.: ATP-sensitive potassium channel modulators: both pinacidil and glibenclamide produce antiarrhythmic activity during acute myocardial infarction in conscious rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996, 277:1215-1220.
- 4) Leprán I., Szekeres L.: Effect of dietary sunflower seed oil on the severity of reperfusion-induced arrhythmias in anaesthetized rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1992, 19:40-44.
- 5) Baczkó I., Leprán I., Papp J.Gy.: Influence of anaesthetics on sudden death and the incidence and duration of reperfusion-induced arrhythmias in rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1997, 29:196-201.
- 6) Farkas A., Leprán I., Papp J.Gy.: Comparison of the antiarrhythmic and proarrhythmic effect of almokalant in anaesthetised rabbits. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 346:245-253.

(D) A KÜLÖNBÖZŐ TRANZMEMBRÁN ÁRAMOK PATCH-CLAMP VIZSGÁLATA IZOLÁLT SZÍVIZOMSEJTEKEN ÉS EXPRESSZIÓS

RENDSZEREKBE

Témavezető: Dr. Jost Norbert tudományos főmunkatárs, PhD (62-546-885) E-mail: jost@med.u-szeged.hu

A doktori téma a szív-érrendszeri kutatásokon belül a celluláris szívelektrofiziológia területéhez tartozik. A kutatások során in vitro elektrofiziológiai módszerekkel (patch-clamp és standard mikroelektrod technika) megvizsgáljuk az egyes transzmembrán ionáramoknak az akciós potenciál repolarizációjában és az aritmiamechanizmusban betöltött szerepét, valamint különböző szimulált kórképeknek (pitvarfibrilláció és szívelégtelenség) megfelelően ezek gyógyszeres befolyásolásának lehetőségét izolált emlős szívizomsejteken és transzgenikus expressziós (klónozott csatornát tartalmazó sejtvonalak) rendszerekben.

Patch-clamp technika

A nyúl, tengerimalac és kutya kamrai miocitákat egy enzimatis disszociációs eljárással izoláljuk. A méréseket egy NIKON TMS inverziós mikroszkópra szerelt, átlátszó aljzatú szervfűrdőben, egy patch-clamp erősítő segítségével (Axopatch-1D vagy Axopatch 200B, AXON INSTRUMENTS, Foster City CA, USA) 36 °C-on végezzük. A mérés során alkalmazott 1-2 µm csúcsi átmérőjű, 1.5-2.5 Mohm ellenállású patch-pipetta elektródokat boroszilikát üvegekapiillárisokból húzzuk. Miután gyenge szívás segítségével létrehozuk a nagy ellenállású (1-10 GOhm) kapcsolatot (az un. "gigaseal") a pipetta és a sejtmembrán között, erős szívással vagy 1.5 V-os elektromos impulzusokkal a sejtmembránt, a pipetta hegyével érintkező részen, felszakítjuk. Így a sejt és a pipetta belseje közös teret alkot.

Az erősítő kimenetét egy 333 kHz-es analóg-digitális konverterhez (DIGIDATA 1200, AXON INSTRUMENTS, Foster City CA, USA) és számítógéphez csatlakoztatjuk. A számítógépben, PCLAMP (AXON INSTRUMENTS, Foster City CA, USA) szoftver segítségével, a kísérleti adatokat regisztráljuk és tároljuk. Az eredményeket "off line", szintén a PCLAMP programmal analizáljuk. A statisztikai elemzést Student páros t-próbával végezzük. A változásokat akkor tekintjük statisztikailag szignifikánsnak, ha a p értéke kisebb, mint 0.05. A méréseket 35 – 36 °C-on végezzük.

(E) A SZÍVKAMRA REPOLARIZÁCIÓS FOLYAMATAINAK MODULÁLÁSA

Témavezető: Dr. Virág László PhD, tudományos főmunkatárs

Az iszkémiás szívbetegségekkel együtt járó szívrimuszavarok súlyosan veszélyeztetik a betegek életét és a hazánkban is nagyon gyakori szív-érrendszeri halálozás hátterében is az esetek igen nagy részében ilyen működési zavarok állnak. Az ennek kezelésére hivatott antiaritmiás gyógyszerterápia valamint a gyógyszerfejlesztés stratégiája is jelentősen megváltozott a 90-es években. Ennek oka elsősorban az, hogy nagy multicentrikus vizsgálatok, a CAST (Cardiac Arrhythmia Suppression Trial) és SWORD (Survival With Oral D-sotalol) tanulmányok, amelyekben néhány a Vaughan Williams féle klasszifikáció I osztályába sorolt antiaritmiás szernek (flecainide, encainide, moricizine) és a III. típusú d-sotalolnak a miokardiális infarktuson átesett betegek mortalitására gyakorolt hatását tanulmányozták, bebizonyították, hogy ezek a gyógyszerek nem csökkentik, hanem növelik az infarktus utáni halálozást a placebóval kezelt betegcsoporthoz képest (1,2). Ennek okai többfélék lehetnek. A CAST tanulmányban vizsgált szerek esetében tapasztalt mortalitás növekedés összefüggésben lehet azzal, hogy e szerek normális szívfrekvencia esetén is gátolják a gyors Na⁺ áramot (a vizsgált szerek mind az I/C alcsoportba tartoznak), azaz az ingerületvezetést, valamint erősen negatív inotrop hatásúak, ami ezeknek a szereknek a proaritmiás tulajdonságát erősíti.

A d-sotalol által okozott, a SWORD tanulmányban megfigyelt, mortalitás fokozódás háttérében pedig valószínűleg az áll, hogy a szer súlyos, gyakran életveszélyes ún. torsade de pointes típusú kamrai aritmiát válthat ki. A torsade de pointes típusú kamrai tachykardiák keletkezésében fontos szerepet játszhat az, hogy a delayed rectifier kálium áram gyors komponensét (I_{Kr}) gátló d-sotalol, és általában az I_{Kr} blokkoló szerek többsége, fordított frekvenciafüggő módon nyújtja az akciós potenciál időtartamát (APD). Ez azt jelenti, hogy a szer repolarizációt nyújtó hatása erőteljesebb lassú szívfrekvencia esetén, mint gyors frekvenciánál, ami korai utópotenciálhoz (EAD) vezethet és ez közvetlen oka lehet a torsade de pointes típusú életveszélyes kamrai tachykardiák kialakulásának.

Koncepció és célkitűzések

A jelen kutatási program célja annak tanulmányozása, hogy farmakológiai módszerekkel milyen elemi mechanizmusok befolyásolása révén illetve ezek milyen kombinációjával lehetne megnyújtani a kamrai repolarizációt oly módon, hogy az ne fordított frekvenciafüggő módon következzen be, ami valószínűleg jelentősen csökkentené az ilyen hatásmechanizmussal rendelkező antiaritmiás szerek proaritmiás kockázatát.

A legfontosabb ionáramsztintű mechanizmusok, amelyek megnyújthatják az akciós potenciál repolarizációját illetve az effektív refrakter periódust a következők lehetnek:

1) A gyors nátrium áram inaktivációjának lassítása, illetve az ún. "window nátrium áram" fokozása (DPI 201-106, veratrin).

2) A befelé irányuló L-típusú kalcium áram (I_{Ca}) fokozása, illetve inaktivációjának lassítása (Bay K 8644). Ezen szerek azonban szűkítik a koszorúereket, így terápiás használatuk nagymértékben korlátozott.

3) Az ún. 4-aminopyridin érzékeny "transient outward" áram (I_{to}) gátlása (tedisamil, kinidin). Az I_{to} repolarizációban betöltött szerepe még kevésbé tisztázott. Az I_{to} egy gyorsan aktiválódó repolarizáló áram, melynek inaktivációja szintén gyors. Kamrai munkaizmon az I_{to} elsősorban az 1. fázisú repolarizációt befolyásolja, ezért ennek az áramnak a blokkolása modulálhatja a plató fázis potenciálját, amely más fontos transzmembrán ionáramokat befolyásolva hatást gyakorolhat az akciós potenciál repolarizációjára. Számos antiaritmiás szer, többek között az általunk is vizsgált disopyramid (3) is gátolja az I_{to} -t, azonban egyik ismert szer sem tekinthető specifikus gátló szernek. Az áramnak a kamrai repolarizációs folyamatban betöltött szerepét specifikus I_{to} gátló hiánya miatt azonban nehéz vizsgálni. Legfrissebb információk és saját legújabb kísérleteink is azt tanúsítják, hogy a specifikus I_{Ks} gátlónak tartott chromanol 293B az I_K lassú komponensén kívül blokkolja az I_{to} -t is (4). Ez lehetőséget adna annak tanulmányozására, hogy az I_{to} gátlása miképpen befolyásolja a kamrai repolarizációt. A specifikus I_{Ks} gátló L-735,821 jelenlétében az akciós potenciálban chromanol 293B hatására bekövetkező változások ugyanis az I_{to} blokk hatását tükröznék. Különösen érdekes lenne annak a vizsgálata, hogy amennyiben az I_{to} gátlás hatására megnyúlik a repolarizációs fázis, ez a megnyúlás fordított frekvenciafüggő vagy nem.

4) Az ún. "inward rectifier" kálium áram (I_{K1}), amely a plató fázis alatt inaktív de a -40 mV és a nyugalmi potenciál közötti feszültségtartományban repolarizáló áramot szállít, amelynek gátlása így hozzájárulhat a repolarizáció késői szakaszának megnyúlásához. Tudjuk, hogy magasabb extracelluláris kálium koncentráció esetén az I_{K1} amplitúdója nagyobb, mint alacsonyabb kálium szint esetén. Emiatt tachikardia alatt, amikor a kálium ion koncentrációja a sejtek közötti szűk térben megnő, az I_{K1} amplitúdója is nagyobb lesz, mint lassú szívfrekvenciánál. Ennek következtében az I_{K1} gátlása pozitív frekvenciafüggő repolarizáció megnyújtással járhat. E hipotézis ellenőrzésére lehetőséget ad, hogy a Ba^{2+} ion viszonylag kis koncentrációban "majdnem" specifikusan gátolja az I_{K1} áramot, valamint a

terikalant és az RP 58866 I_{K1} blokkoló szerek (bár az I_{Kr} áramot is gátolják) is alkalmasak a kérdés vizsgálatára, mert specifikus I_{Kr} gátló (pl. E-4031) jelenlétében az akciós potenciálban terikalant vagy RP 58866 hatására bekövetkező változások az I_{K1} blokk hatását tükröznék.

5) Az ún. "delayed rectifier" kálium áram gyors és lassú komponenseinek (I_{Kr} , I_{Ks}) gátlása. Sajnos az I_{Kr} -t blokkoló szerek fordított frekvenciafüggő módon nyújtják meg a kamrai repolarizációt, ami korai utópotenciálhoz (EAD) illetve torsade de pointes típusú kamrai tachykardiák kialakulásához vezethet. Az akciós potenciál repolarizáció fordított frekvenciafüggő megnyújtásának mechanizmusa azonban még kevésbé tisztázott (5,6). Az I_{Ks} esetében pedig legújabb vizsgálatok arra utalnak, hogy az I_{Ks} -nek csekély szerepe van az akciós potenciál repolarizációjának szabályozásában (7,8).

6) Az ATP függő kálium áram (I_{KATP}) gátlása. Ennek az áramnak a létező ionáramok között emlősszívben speciális szerepe van (9). Ezek a csatornák fiziológias körülmények között inaktívak, míg iszkémia/hipoxia esetén az intracelluláris ATP csökkenése illetve az ADP szint növekedése miatt, valamint egyéb még kevésbé tisztázott folyamatok következtében aktiválódnak. Az I_{KATP} gátlása így kivédheti az iszkémia/hipoxia által kiváltott drámai és aritmogénnek tartott API és ERP megrövidülést.

Vizsgálandó kérdések

Az előzőeket is figyelembe véve a program során az alábbi kérdésekre szeretnénk választ kapni, amelyek során végzendő **kutatómunkában doktoranduszok is résztvehetnek.**

- (1) Az I_{to} ionáram gátlása megnyújtja-e a kamrai szívizom repolarizációját, és ha igen, ez fordított frekvenciafüggő módon következik-e be?
- (2) Milyen hatást gyakorol az I_{K1} ionáram gátlása a kamrai szívizom repolarizációjára?
- (3) Milyen szerepe van az I_{Kr} és I_{Ks} transzmembrán ionáramoknak a kutya, tengerimalac, nyúl kamrai szívizom repolarizációs fázisának szabályozásában? Van-e különbség az egyes specíesek között az I_{Kr} és I_{Ks} szerepét illetően?

Alkalmazni kívánt módszerek

Intracelluláris mikroelektrod technika

Nyúl, tengerimalac és kutya szívekből a jobb kamrai papilláris izmokat kipreparáljuk, s ezeket 37°C-os oxigenizált tápoldatba helyezük. A készítményeket 0.1 - 4 Hz frekvenciatartományban, 2 ms széles, a földtől izolált impulzusokkal ingereljük bipoláris platina elektródok segítségével. A kísérletek kezdetét legalább egy órás "beállási" (inkubációs) periódus előzi meg 37°C-on. Akciós potenciálokot standard intracelluláris mikroelektrod technikával vezetünk el a preparátumokból. Az üvegkapilláris mikroelektrodokat 3 M-os KCl oldattal töltjük meg, amelyek ellenállása így 5-20 MΩ. A jeleket nagy bemeneti ellenállású, megfelelően földelt, mikroelektroda erősítőbe vezetjük. A transzmembrán akciós potenciál felszálló szárának első deriváltját (V_{max}) analóg deriválóval nyerjük. Az íly módon felerősített jeleket oszcilloszkópon jelenítjük meg.

A nyugalmi potenciál (RP) az akciós potenciál amplitúdó (APA) valamint az akciós potenciál repolarizációjának 50, és 90 %-os értékét (APD_{50-90}) - Intézetünkben kifejlesztett (HSE-APES) program segítségével - IBM 386-os számítógéppel mérjük.

A preparátumokat a kontroll mérések elvégzése után 20-40 percig szuperperfundáljuk a kísérleti anyagokkal. Az erőteljes kontrakciók miatt a mikroelektrodokat nem mindig sikerül ugyanazon sejtbén tartanunk a kísérlet teljes időtartama alatt. Így a szerek tápoldathoz történt hozzáadása előtt és után nyert mérési adatok azonos készítményből, de más sejtekből is

származnak. Ezért az eredmények statisztikai kiértékelésénél a Student féle **t** teszt páros és páratlan variánsait egyaránt alkalmazzuk. Az eredményeket akkor tekintjük szignifikánsnak, ha a **p** értéke kisebb, mint 0.05.

Idézett irodalom

1. The CAST II Investigators: Effect of the antiarrhythmic agent moricizine on survival after myocardial infarction. *N Engl J Med* 327:227-233, 1992.
2. The SWORD Investigators: Effect of D-sotalol on mortality in patients with left ventricular dysfunction after recent and remote myocardial infarction. *Lancet* 348: 7-12, 1996.
- 3) L. Virág, A. Varró, J. Gy. Papp: Effect of disopyramide on potassium currents in rabbit ventricular myocytes. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 357:268-275, 1998
- 4) Bosch R.F., Gaspo R., Busch A.E., Lang H.J., Li G.R., Nattel S. Effects of the chromanol 293B, a selective blocker of the slow, component of the delayed rectifier K⁺ current, on repolarization in human and guinea pig ventricular myocytes. *Cardiovasc. Res* 38(2):441-50, 1998.
- 5) Jurkiewicz N.K., Sanguinetti M.C. Rate-dependent prolongation of cardiac action potentials by a methanesulfonanilide Class III antiarrhythmic agent. *Circ Res* 72:75-83, 1993.
- 6) Ito S., Surawicz B. Effect of tetraethylammonium chloride on action potential in cardiac Purkinje fibers. *Am J Physiol* 241(2):H139-44, 1981.
- 7) Varró A., Baláti B., Iost N., Takács J., Virág L., Lathrop D.A., Tálosi L., Papp J.Gy. The role of the delayed rectifier component I_{Ks} in dog ventricular muscle and Purkinje fibre repolarization. *J Physiol (London)*, 523.1:67-81, 2000.
- 8) Lengyel Cs., Iost N., Virág L., Varró A., Lathrop D.A., Papp J.Gy.: Pharmacological block of the slow component of the outward delayed rectifier (I_{Ks}) fails to lengthen rabbit ventricular muscle QTc and action potential duration. *Br J Pharmacol* 132(1):101-110, 2001.
- 9) Noma A: ATP regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 5:147-148, 1985.

(F) ELEKTROFIZIOLÓGIAI ELVÁLTOZÁSOK VIZSGÁLATA PITVAR-FIBRILLÁCIÓBAN ÉS SZÍVELÉGTELENSÉGBEN

Témavezető: Dr. Baczkó István egyetemi adjunktus (62-546-109), E-mail: baczk@med.u-szeged.hu

A pangásos szívelégtelenség a kardiovaszkuláris morbiditás és mortalitás, valamint a 65 év feletti betegek hospitalizációjának fő oka Európában. Bár a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszert gátló és béta-blokkoló szerekkel történő kezelés javította a betegség prognózisát és a betegek életminőségét, ennek ellenére ezek még mindig kifejezetten rosszak.

A kurzus a szívelégtelenség kialakulásának patomechanizmusait tárgyalja:

- (1) a molekuláris jelátvitel (signaling) változásait,
- (2) valamint a szív fenotípusának megváltozásához vezető strukturális, és különös tekintettel a szívelégtelenségben hirtelen szívhalálhoz vezető szívritmuszavarokért felelős elektromos átépülés (remodeling) kialakulásának mechanizmusait.

(G) A SZÍV CELLULÁRIS ELEKTROFIZIOLÓGIÁJÁNAK ÉS CA HOMEOSZTÁZISÁNAK VIZSGÁLATA. A NA/CA EXCHANGE INHIBÍTOROK ALKALMAZÁSÁNAK KÖVETKEZMÉNYEI A SZÍVIZOMSEJTEK CA HOMEOSZTÁZISÁBAN

Témavezető: Dr. Acsai Károly tudományos munkatárs PhD (62-545-682, E-mail: acsai.karoly@med.u-szeged.hu)

A Ca mikrodomének szerepének vizsgálata a Na/Ca-exchanger gátlás mint potenciális pozitív inotróp és antiaritmiás farmakológiai beavatkozás celluláris elektrofiziológiájában

1. Háttér

A Na/Ca-exchanger (NCX) ígéretes támadáspont a szívelégtelenség kezelésében

A szívelégtelenség gyakori, súlyos és progresszív betegség, melynek előfordulása folyamatosan növekszik az USA-ban és Európában is (*Redfield 2002*). Az USA-ban évente több mint 280 ezer ember haláláért a szívelégtelenség felelős, és évente több mint 500 ezer új esetet diagnosztizálnak. Mivel a betegség progresszív természetű, a tünetmentes vagy csak enyhe balkamrai diszfunkciós pácienseket is veszélyezteti a további romlás és az 5 éven belüli halál lehetősége (*Wang et al. 2003*).

A Na/Ca-exchanger (NCX) kulcsszerepet játszik a szívműködés normális Ca-háztartásának fenntartásában (*Bers 2000*). Az excitáció-kontrakció kezdetén a sejtekbe beáramló Ca eltávolításának fő útvonalát az NCX forward irányú működése biztosítja, az NCX reverz irányú működése pedig hozzájárul a Ca-indukálta Ca-release hatékonyságához.

Az utóbbi évek kutatásai arra utalnak, hogy az NCX farmakológiai modulációja ígéretes megközelítés lehet különböző szívbetegségek kezelésében, beleértve a szívelégtelenséget is. (*Kamimura et al. 2012, Sipido et al. 2006, Lee et al. 2005*). Számos közlemény szerint szívelégtelenségben a szarkoplazmatikus retikulum Ca-mal való feltöltődése károsodik, ugyanakkor a sejtből való Ca eltávolítás fokozódik az NCX fokozott expressziója miatt (*O'Rourke 2008*). Ez vezetett annak az elméleti lehetőségnek a megfogalmazásához, hogy az NCX-re irányuló támadásponttal a károsodott Ca háztartás javítható lenne (*Hobai et al. 2004*). Ezt az elméleti lehetőséget azóta kísérleti eredmények is alátámasztották, melyek szerint a forward NCX gátlása valóban pozitív inotróp hatást eredményez (*Acsai et al. 2007, Ozdemir et al. 2008*). Más közlemények azonban nem tudták igazolni ezeket az eredményeket, tehát az NCX gátlók lehetséges pozitív inotróp hatása tekintetében a szakirodalom nem egységes (*Birinyi et al. 2008, Takahashi 2004*).

A funkcionális Ca-mikrodomének szerepe a celluláris Ca-homeosztázisban

A szívműködés kiterjedt transzverzális tubulus rendszerrel rendelkezik, ami a hatékony és szinkronizált Ca indukálta Ca release alapvető anatómiai alapját képezi (*Eisner et al. 2000*). A t-tubulus membránok és a szarkoplazmatikus retikulum szemközti, funkcionális régiója közötti szűk teret diadikus térnek vagy szubsarkolemmális régióknak nevezzük (*Bers 2000*). A szív ciklus kezdetén a Ca release következtében ebben a régióban egy funkcionális Ca mikrodomén jön létre a Ca ionok lassú diffúziója, disszipációja miatt. Egyre több kísérleti eredmény utal arra, hogy az ezen régióban expresszált NCX speciális szerepet játszik a Ca indukált Ca release folyamatban, melynek következtében a globális Ca-háztartásban is fontos regulációs szerepe van (*Despa et al. 2012*). Az NCX, a Na/K-pumpa és a Na- és Ca-áramok egymásra hatása ebben a régióban, tehát a t-tubulus membránok környezetében speciális ionális környezetet hoz létre, amely a Ca indukálta Ca release szabályozása révén felerősített módon szabályozza a teljes celluláris Ca tartalmat és a szívműködés inotróp állapotát (*Swift et al. 2010*). Ennek értelmében az ezen régióban expresszált NCX modulációja nem várt következményekkel járhat a globális celluláris Ca-háztartásban, tehát ez a jelenség részben felelős lehet az NCX-gátlásra adott inotróp válasz különböző kísérleti modellekben észlelt

eltéréseiben. Ezt a kérdéskört ilyen szempontból azonban még nem vizsgálták a szakirodalomban.

2. A PROJEKT SPECIFIKUS CÉLKITŰZÉSEI

Kutatási projektünk a szívizomsejtek t-tubulus membránjában expresszált regulációs funkciójú NCX farmakológia modulálásának jelentőségét igyekszik tisztázni, elsősorban az NCX-gátlás inotróp hatásainak problémakörében. Intézetünk különlegesen előnyös helyzetben van az NCX-gátlás tanulmányozásában, mivel a régebbi, általánosan használt NCX-gátlók (KB-R7943, SEA0400) mellett a legújabb inhibitorokkal is rendelkezünk (ORM10103, ORM10962), melyeket az Orion gyógyszercég (Orion Pharma, Finland) bocsátott rendelkezésünkre.

Mivel a t-tubulus membránokban expresszált NCX intakt sejtekben nem vizsgálható izoláltan, ezért a projekt keretében részproblémákat fogalmazunk meg, melyek az NCX gátlók tulajdonságainak illetve az NCX gátlás komplex elektrofiziológiájának egy-egy aspektusára vonatkoznak. Célul tűzzük ki néhány, a szakirodalomban vitatott kérdés tisztázását, amelyek a jelenleg leggyakrabban alkalmazott (KB-R7943, SEA0400) és néhány új NCX gátló (ORM vegyületek) hatékonyságára vonatkoznak. Vizsgálni fogjuk az intracelluláris ionösszetétel hatását az inhibitorok hatékonyságára, az inhibitorok irány szelektivitását és a szubsarkolemmális Ca mikrodomének speciális ionális összetételének szerepét az NCX gátlás következményeiben. Továbbá vizsgálni kívánjuk a Ca mikrodomének dezorganizációjának moduláló hatását az NCX inhibitorok által kifejtett inotróp hatásokra.

2/ I. Az NCX-gátlók hatékonyságának függése az intracelluláris ionkoncentrációktól

A SEA0400-zal végzett kísérletek arra utalnak, hogy az NCX-gátlás hatékonysága erősen függ az intracelluláris Na-szinttől (*Lee et al. 2004*). Ezeket a kísérleteket nem emlős szívizomsejteken, hanem *Xenopus* oocitákkal végezték, extrém magas intracelluláris Na szint mellett (100mM), ennek ellenére a Na-függő gátlás és az NCX Na függő inaktivációjának fokozása mint az NCX gátlás mechanizmusa, széleskörűen elfogadottá vált az NCX-kutatók körében. Az NCX Na függő inaktivációjának jelensége intakt szívizomsejtekben azonban erősen megkérdőjelezhető, hiszen szívizomsejtekben a patológiás esetekben mérhető legmagasabb Na koncentráció is messze elmarad az 50-100 mM-os nagyságrendtől (*Despa et al. 2002*). Ezért az NCX Na-függő gátlásának lehetősége intakt szívizomsejtekben valójában még igazolásra vár.

Egy KB-R7943-mal végzett tanulmány szerint az intracelluláris Ca befolyásolja a KB-R7943 NCX-gátló hatását (*Watano and Kimura, 1998*). A SEA0400 esetében kutatócsoportunk kimutatta, hogy NCX-gátló hatása inverz Ca-függést mutat (*Birinyi et al. 2008*). Intakt Ca-háztartás esetén azonban ezt a jelenséget még nem igazoltuk.

Ezen témakörnek az a jelentősége, hogy az NCX-gátlás bárminemű függése az intracelluláris Na- és Ca szintektől meghatározhatja, hogy milyen mértékű aktuális NCX-gátlás alakul ki a szívizomsejtek egyes szubcelluláris régióiban. Ennek értelmében a t-tubulusok mentén, ahol a szív ciklus kezdetén magasabb a Ca- és Na-szint, az NCX gátlás mértéke eltérő lehet a sejt felületi membránban expresszált NCX gátlásához képest. Mivel a t-tubulus membránban expresszált NCX-nek különleges szerepe van a Ca-indukálta Ca-release folyamatában, az itt levő NCX eltérő farmakológiai modulációja felerősített módon növelheti, vagy csökkentheti a globális Ca-háztartás NCX-gátlásra adott válaszát. Ezért ebben a szakaszban olyan kísérleteket fogunk végrehajani, amelyekkel tisztázni kívánjuk a Na- és Ca-

ionok lehetséges moduláló hatását az NCX farmakológiai (KB-R7943, SEA0400 és ORM-vegyületek) gátlásában.

2/ II. Az NCX-gátlók transzportmód-szelektivitásának tisztázása

A KB-R7943 által mutatott szelektív reverz NCX gátlás előnyös tulajdonság a különböző patológiás folyamatokban kialakuló Ca-tútelítődés kivédésére (*Amran et al. 2003, Birinyi et al. 2005*). A többi NCX gátló esetén azonban ez a kérdés még nem kellően felderített. Teljes sejtes patch clamp konfigurációban ramp feszültséggel kiváltott NCX-áramon a SEA0400 azonos hatékonysággal gátolja a reverz és a forward NCX-et (*Tanaka et al. 2002, Birinyi et al. 2005*).

Ezzel szemben inside-out giant patch konfigurációban, ionkoncentráció-lépésekkel aktivált NCX esetén a SEA0400 forward irány gátlására mutatott IC₅₀ értéke sokkal nagyobbak bizonyult a reverz mód IC₅₀értékéhez képest, ami az alacsonyabb koncentrációk esetén viszonylag szelektív reverz mód gátlást eredményez.

Ezen kérdéskör kulcsfontosságú, hiszen a transzportmód-szelektivitás meghatározhatja az egyes NCX gátlók használhatóságát a különböző szívbetegségek (és más betegségek) esetén. Egy NCX-gátló eredő hatása nemcsak a reverz és forward mód Ca-háztartásban betöltött relatív szerepétől függ, hanem az inhibitor által kifejtett irány szelektív gátlástól is. A reverz mód gátlása előnyös a Ca-tútelítéssel járó esetekben (pl iszkémia-reperfúzió), míg a forward mód gátlása hasznos lehet gyengült Ca-ciklus esetén (szívelégtelenség). Ebben a szakaszban tehát az NCX-gátlók esetleges transzportmód-szelektivitását fogjuk szisztematikus módon vizsgálni és összehasonlítani.

2/ III. A t-tubulusokkal kapcsolatos szubsarkolemmális Ca-mikrodomének szerepe az NCX gátlás következményeiben

A t-tubulus rendszer strukturális alapot szolgáltat a szinkronizált Ca-felszabaduláshoz, ami elengedhetetlen a hatékony sejtkontrakciók létrejöttéhez. A t-tubulusok szerepének vizsgálatához egyszerű de hatékony módszer a detubulációs technika alkalmazása (*Orchard et al. 2008*), amely fizikailag lecsatolja a t-tubulus membránokat a sejtfelszíni membránokról. Ezen technika alkalmazásával a t-tubulusokban expresszált, regulációs funkcióval rendelkező NCX működése és a szubsarkolemmális térben a magas Ca-szint kialakulása meggátolható. Másrészt ezekkel a kísérletekkel modellezhető a szívelégtelenség progressziója során kialakuló t-tubulus dezorganizáció is (*Ibrahim and Terracciano 2013*). Fontos megjegyezni, hogy ezen kísérletek interpretációja nagymértékben támaszkodik a 2/ I és 2/ II pontok kísérleteinek eredményeire.

2/ IV. Az NCX gátlás hatása intakt szívizomsejtekben a globális és lokális Ca- és Na-szintek modulálása után

Ebben a szakaszban fizikai t-tubulus lecsatolás helyett különböző farmakológia ágensekkel fogjuk modulálni a szubsarkolemmális ionkoncentrációkat, melyek növelik vagy csökkentik a szubsarkolemmális Ca- és Na-szinteket. Alacsony koncentrációban a oubain szelektív módon gátolja a Na/K-pumpa t-tubulusokban expresszáldó izoformáját, s így lokálisan képes növelni a Na- és Ca szinteket (*Despa et al. 2012, Swift et al. 2010*). Az Anemona toxin-II és veratrin (Na-áram aktivátorok) eltérő módon növelik a lokális Na and Ca szinteket (*Nagy et al. publication in preparation*). Ezzel szemben a ranolazin és a tetrodotoxin alacsony koncentrációja (késői Na-áram gátlói) a lokális Na-szinteket csökkenteni fogják, s

ezáltal a reverz NCX aktiválódását gátolják. Ezen farmakológiai beavatkozások megfelelő kombinációival különböző ionális konstitúciókat tudunk létrehozni intakt szívműködésben, s így az NCX gátlás hatását különböző körülmények között tudjuk vizsgálni. Ezen kísérletek interpretációja szintén nagymértékben támaszkodik a 2/ I és 2/ II pontok kísérleteinek eredményeire.

Összefoglalva, kutatási tervünk tovább kívánja vizsgálni és karakterizálni az NCX-gátlás mint farmakológiai eszköz lehetséges hasznosíthatóságát, különös tekintettel a pozitív inotróp hatások lehetőségére, amely az NCX-gátlás egyéb kedvező hatásai (antiaritmiás hatás) mellett hasznos lehet a szívelégtelenség kezelésében. Kutatási tervünk újszerűségét az adja, hogy az NCX-et nemcsak mint eszenciális transzportert tekintjük a globális celluláris Ca-háztartásban, hanem az eredmények interpretációjába a t-tubulusokkal és a szubsarkomémális Ca-mikrodoménnal kapcsolatos, regulációs funkcióval rendelkező NCX modulálását is be kívánjuk vonni.

REFERENCES

- Acsai K, Antoons G, Livshitz L, Rudy Y, Sipido KR. Microdomain $[Ca^{2+}]$ near ryanodine receptors as reported by L-type Ca^{2+} and Na^+/Ca^{2+} exchange currents. *J Physiol* 589:(10) pp. 2569-2583. 2011
- Acsai K, Kun A, Farkas AS, Fülöp F, Nagy N, Balázs M, Szentandrassy N, Nánási PP, Papp JGy, Varró A, Tóth A. Effect of partial blockade of the Na^+/Ca^{2+} -exchanger on Ca^{2+} handling in isolated rat ventricular myocytes. *Eur J Pharm* 576:(1-3) pp. 1-6. 2007
- Ago Y, Kawasaki T, Nashida T, Ota Y, Cong Y, Kitamoto M, Takahashi T, Takuma K, Matsuda T. SEA0400, a specific Na^+/Ca^{2+} exchange inhibitor, prevents dopaminergic neurotoxicity in an MPTP mouse model of Parkinson's disease. *Neuropharmacology* 61(8):1441-51. 2011
- Amran MS, Homma N, Hashimoto K. Pharmacology of KB-R7943: a Na^+-Ca^{2+} exchange inhibitor. *Cardiovasc Drug Rev.* 21(4):255-76. Review. 2003
- Bei F, Smith KJ. Axonal protection achieved by blockade of sodium/calcium exchange in a new model of ischemia in vivo. *Neuropharmacology.* 63(3):405-14. 2012
- Bers DM. Calcium fluxes involved in control of cardiac myocyte contraction. *Circ Res,* 87, 275-281, 2000.
- Birinyi P, Acsai K, Bányász T, Tóth A, Horváth B, Virág L, Szentandrassy N, Magyar J, Varró A, Fülöp F, Nánási PP. Effects of SEA0400 and KB-R7943 on Na^+/Ca^{2+} exchange current and L-type Ca^{2+} current in canine ventricular cardiomyocytes. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol,* 372, 63-70, 2005.
- Birinyi P, Toth A, Jona I, Acsai K, Almassy J, Nagy N, Prorok J, Gherasim I, Papp Z, Hertelendi Z, Szentandrassy N, Banyasz T, Fulop F, Papp JGy, Varro A, Nanasi PP, Magyar J. The Na^+/Ca^{2+} exchange blocker SEA0400 fails to enhance cytosolic Ca^{2+} transient and contractility in canine ventricular cardiomyocytes *Cardiovasc Res* 78:(3) pp. 476-484. 2008
- Despa S, Islam MA, Weber CR, Pogwizd SM, Bers DM. Intracellular Na concentration is elevated in heart failure but Na/K pump function is unchanged. *Circulation,* 105, 2543-2548, 2002.

Despa S, Lingrel JB, Bers DM. Na⁺/K⁺-ATPase alpha 2-isoform preferentially modulates Ca²⁺ transients and sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ release in cardiac myocytes
Cardiovasc Res 95: (4) 480-486 2012

Eisner DA, Choi HS, Diaz ME, O'Neill SC, Trafford AW. Integrative analysis of calcium cycling in cardiac muscle. *Circ Res*, 87, 1087-1094, 2000.

Farkas AS, Acsai K, Nagy N, Tóth A, Fülöp F, Seprényi G, Birinyi P, Nánási PP, Forster T, Csanády M, Papp JGy, Varró A, Farkas A Na⁽⁺⁾/Ca⁽²⁺⁾ exchanger inhibition exerts a positive inotropic effect in the rat heart, but fails to influence the contractility of the rabbit heart.
Br J Pharm 154:(1) pp. 93-104. 2008

Hobai IA, O'Rourke B. The potential of Na⁺/Ca²⁺ exchange blockers in the treatment of cardiac disease. *Expert Opin Investig Drugs*, 13, 653-664, 2004.

Ibrahim M, Terracciano CM. Reversibility of t-tubule remodeling in heart failure - mechanical load as a dynamic regulator of the t-tubules.
Cardiovasc Res. 2013 Jan 23. [Epub ahead of print]

Kamimura D, Ohtani T, Sakata Y, Mano T, Takeda Y, Tamaki S, Omori Y, Tsukamoto Y, Furutani K, Komiyama Y, Yoshika M, Takahashi H, Matsuda T, Baba A, Umemura S, Miwa T, Komuro I, Yamamoto K. Ca²⁺ entry mode of Na⁺/Ca²⁺ exchanger as a new therapeutic target for heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J*. 33(11):1408-16. 2012

Lee C, Visen NS, Dhalla NS, Le HD, Isaac M, Choptiany P, Gross G, Omelchenko A, Matsuda T, Baba A, Takahashi K, Hnatowich M, Hryshko LV. Inhibitory profile of SEA0400 [2-[4-[(2,5-difluorophenyl)methoxy]phenoxy]-5-ethoxyaniline] assessed on the cardiac Na⁺-Ca²⁺ exchanger, NCX1.1. *J Pharmacol Exp Ther*, 311, 748-57, 2004.

Lee C, Dhalla NS, Hryshko LV. Therapeutic potential of novel Na⁺-Ca²⁺ exchange inhibitors in attenuating ischemia-reperfusion injury. *Can J Cardiol*, 21, 509-516, Review, 2005.

Livshitz L, Acsai K, Antoons G, Sipido K, Rudy Y Data - Based Theoretical Identification of Subcellular Calcium Compartments and Estimation of Calcium Dynamics in Cardiac Myocytes.
J Physiol 590:(18) pp. 4423-4446. 2012

Nagy ZA, Virág L, Tóth A, Biliczki P, Acsai K, Bányász T, Nánási PP, Papp JGY, Varró A. Selective inhibition of sodium-calcium exchanger by SEA0400-0400 decreases early and delayed afterdepolarization in canine heart. *Br J Pharmacol*, 143, 827-831, 2004.

Niggli E. Measuring calcium in 'fuzzy' spaces.
J Physiol. 589 (Pt 11): 2663. 2011.

Orchard C, Brette F. T-tubules and sarcoplasmic reticulum function in cardiac ventricular myocytes.
Cardiovasc Res. 15;77(2):237-44. 2008

Ozdemir S, Bito V, Holemans P, Vinet L, Mercadier JJ, Varro A, Sipido KR Pharmacological inhibition of na/ca exchange results in increased cellular Ca²⁺ load attributable to the predominance of forward mode block.
Circ Res. 102(11):1398-405. 2008

Redfield MM. Heart failure – an epidemic of uncertain proportions. *N Engl J Med*; 347:1442–1444. 2002.

Saito R, Kaneko E, Tanaka Y, Honda K, Matsuda T, Baba A, Komuro I, Kita S, Iwamoto T, Takano Y. Involvement of Na⁺/Ca²⁺ exchanger in pentylene-tetrazol-induced convulsion by use of Na⁺/Ca²⁺ exchanger knockout mice. *Biol Pharm Bull*. Nov;32(11):1928-30. 2009

Seki S, Taniguchi M, Takeda H, Nagai M, Taniguchi I, Mochizuki S. Inhibition by KB-r7943 of the reverse mode of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger reduces Ca^{2+} overload in ischemic-reperfused rat hearts. *Circ J*, 66, 390-396, 2002.

Sipido KR, Varro A, Eisner D. Sodium calcium exchange as a target for antiarrhythmic therapy.

Handb Exp Pharmacol, 171, 159-199, Review, 2006.

Swift F, Tovsrud N, Sjaastad I, Sejersted OM, Niggli E, Egger M. Functional coupling of alpha(2)-isoform $\text{Na}(+)/\text{K}(+)\text{-ATPase}$ and $\text{Ca}(2+)\text{ extrusion}$ through the $\text{Na}(+)/\text{Ca}(2+)\text{-exchanger}$ in cardiomyocytes.

Cell Calcium. Jul;48(1):54-60. 2010

Takahashi T, Takahashi K, Onishi M, Suzuki T, Tanaka Y, Ota T, Yoshida S, Nakaike S, Matsuda T, Baba A. Effects of SEA0400, a novel inhibitor of the $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger, on myocardial stunning in anesthetized dogs. *Eur J Pharmacol*, 505, 163-168, 2004.

Tanaka H, Nishimaru K, Aikawa T, Hirayama W, Tanaka Y, Shigenobu K. Effect of SEA0400, a novel inhibitor of sodium-calcium exchanger, on myocardial ionic currents. *Br J Pharmacol*, 135, 1096-1100, 2002.

Wang TJ, Evans JC, Benjamin EJ, Levy D, LeRoy EC, Vasan RS. Natural history of asymptomatic left ventricular systolic dysfunction in the community.

Circulation;108:977-982. 2003.

Watano T, Kimura J. Calcium-dependent inhibition of the sodium-calcium exchange current by KB-R7943. *Can J Cardiol*, 14, 259-262, 1998.

(H) A SZÍV ÉS KERINGÉSI RENDSZER ÉLET- ÉS KÓRTANA, FARMAKOLÓGIÁJA. RITMUSZAVAROK KELETKEZÉSÉNEK EXPERIMENTÁLIS ÉS KLINIKAI VIZSGÁLATA. GYÓGYSZEREK PROARITMIÁS HATÁSÁNAK TANULMÁNYOZÁSA

Témavezető: Dr. Farkas András egyetemi adjunktus, PhD (62-545-220, E-mail: farkas.andras@med.u-szeged.hu)

Dr. Farkas András fő kutatási területe a ritmuszavarok klinikai és experimentális vizsgálata. Kutatást végez kardiovaszkuláris farmakológia terén, azon belül is a gyógyszerek proaritmiás hatásának vizsgálata tartozik elsődleges érdeklődési körébe.

Ismert, hogy egyes gyógyszerek képesek meglévő ritmuszavarok gyakoriságát fokozni, vagy akár teljesen új típusú aritmiákat előidézni, ezt proaritmiás hatásnak nevezzük. A leggyakrabban vizsgált gyógyszer okozta ritmuszavar az ún. torsades de pointes típusú kamrai tachycardia (TdP), mely azért veszélyes, mert az esetek kb. 15-20 százalékában halálos kamrafibrillációba mehet át. Emiatt ma minden fejlesztés alatt álló gyógyszer proaritmiás hatását vizsgálni kell. A probléma az, hogy jelenleg erre nem áll rendelkezésre megbízható kísérleti (pre-klinikai) modell. Szintén probléma, hogy nem is ismerünk minden tényezőt, mely egyes gyógyszerek proaritmiás hatását fokozza.

Dr. Farkas András kutatásainak két fő témája a gyógyszer okozta ritmuszavarok mechanizmusának vizsgálata valamint a gyógyszerek proaritmiás hatásának szűrésére használható kísérleti modellek fejlesztése. Vizsgálatainak egyik fő célja, hogy minél pontosabban megismerjük a gyógyszerek okozta ritmuszavarok mechanizmusát, ezen belül is az endogén tényezők szerepét. Proaritmiás hatások vizsgálata során tanulmányozta az $\alpha 1$ adrenoreceptor izgatás és a kamrai falfeszülés 1, ioncsatornák és pumpa mechanizmusok 2-4, a vegetatív idegrendszer 5, prosztaglandin E2 6, a repolarizációs paraméterek, és a kamrai

elektromos instabilitás szerepét 7. Vizsgálata továbbá az altatószerek hatását a gyógyszerek proaritmiás hatására 8.

Dr. Farkas András gyógyszerek proaritmiás hatásainak vizsgálatára szánt több kísérleti modell fejlesztésében, karakterizálásában és validálásában vett részt. Az egyik, proaritmiás hatások vizsgálatára gyakran használt kísérleti modellben altatott, α_1 -adrenoceptor stimulált nyulakat használnak. Egyik munkájában a modell validációjaként ismert proaritmiás hatású szereket tesztelt 3. A munka meglepő eredménye volt, hogy a klinikumban leggyakrabban proaritmiát okozó egyik szer, a kinidin nem okozott TdP-t. Ez jelentős információt szolgáltatott a vizsgált modell limitációjáról. Dr. Farkas András részt vett egy proaritmiás hatások vizsgálatára szánt *in vitro*, izolált, Langendorff perfundált, AV-blokkos nyúl szív modell fejlesztésében is 4. Jelenleg szintén egy izolált, Langendorff perfundált szív modellt fejleszt proaritmia szűrésre. Nyúl vagy tengerimalac szívekben az un. delayed rectifier kálium áram gyors komponensét (IKs) farmakológiailag gátolva beszűkül a repolarizációs rezerv, mely jelentősen megnöveli a szívek érzékenységét a gyógyszerek proaritmiás hatása iránt. Amennyiben ezen vizsgálatok sikeresek, akkor a modellt széles körben használhatja majd a gyógyszeripar 'safety pharmacology' vizsgálatokban.

(I) SZÍVRITMUSZAVAROK ÉS SZÍVIZOM-KONTRAKTILITÁS FARMAKOLÓGIAI VIZSGÁLATA

Témavezető: Dr. Farkas Attila klinikai orvos, PhD (62-545-220, E-mail: farkasamed@gmail.com)

Dr. Farkas Attila fő kutatási területe a ritmuszavarok klinikai- és experimentális-, valamint a szívizom kontraktilitás vizsgálata. Kutatást végez kardiovaszkuláris farmakológia és élettan terén, amelyeken belül is a gyógyszerek proaritmiás hatásának vizsgálata, aritmiák kialakulásának kialakulása és a szívizom kontraktilitás szabályozásának megértése tartozik elsődlegesen érdeklődési körébe.

Ismert, hogy egyes gyógyszerek képesek meglévő ritmuszavarok gyakoriságát fokozni, vagy akár teljesen új típusú aritmiákat előidézni, ezt proaritmiás hatásnak nevezzük. A leggyakrabban vizsgált gyógyszer okozta ritmuszavar az un. Torsades de Pointes típusú kamrai tachycardia (TdP), mely azért veszélyes, mert az esetek kb. 15-20 százalékában kamrafiibrillációba mehet át hirtelen halált okozva. Ezért ma minden fejlesztés alatt álló gyógyszer proaritmiás hatását vizsgálni kell. Nem ismert azonban sok tényező, mely hozzájárul a gyógyszerek proaritmiás hatásához. Továbbá, számos gyakorlatban használt modell ellenére sem áll rendelkezésre igazán megbízható kísérleti (preklinikai) modell.

Dr. Farkas Attila kutatásainak fő témája a gyógyszer okozta ritmuszavarok mechanizmusának vizsgálata, a szívizom Ca^{2+} szabályozás szerepének kutatása az aritmiák kialakulásában, valamint a gyógyszerek proaritmiás hatásának szűrésére használható kísérleti modellek vizsgálata és fejlesztése. Kutatásai során tanulmányozta a proaritmiás hatását α_1 -adrenoceptor izgatásnak, a kamrai falfeszülésnek¹, és a vegetatív idegrendszernek (közlés alatt), valamint a jelentőségét a repolarizációs paramétereknek, és a kamrai elektromos instabilitásnak a proaritmiák kialakulásában². Továbbá, tanulmányozta a Ca^{2+} háztartás működését a szívizom kontraktilitásban^{3,4}, és a proaritmiák kialakulásában⁵.

Dr. Farkas Attila gyógyszerek proaritmiás hatásainak vizsgálatára szánt több kísérleti modell fejlesztésében, biomarkerek validálásában, kifejlesztésében vett részt. Elsőként quantifikálta az EKG szakaszok variabilitását aritmia alatt, valamint karakterizálta a TdP kialakulását egy gyakran használt *in vivo* altatott proaritmia állatmodellben². Vizsgálta a szívizom kontraktilitását több fajban, megállapítva a Na^+/Ca^{2+} cseremechanizmus fajok közötti eltérő működését^{3,4}. Megállapításait, és az irodalom eddigi releváns repolarizációt érintő proaritmia eredményeit egy összefoglaló közleményben is publikálta⁶. Jelenleg, a

repolarizációs reserve szűkítésének jelentőségét vizsgálja *in vitro*, izolált nyúl szív proaritmia modellben, ami nagy jelentőségű lehet a gyógyszeripar u.n. 'safety pharmacology' vizsgálataiban. Továbbá, a sportszív proaritmiaiban betöltött szerepét kívánja vizsgálni a közeljövőben, ami a sportolói hirtelen halál események megértését szolgálja.

Referenciák:

1. Farkas AS, Acsai K, Toth A, Dezsi L, Orosz S, Forster T, Csanady M, Papp JG, Varro A, Farkas A. Importance of extracardiac alpha1-adrenoceptor stimulation in assisting dofetilide to induce torsade de pointes in rabbit hearts. *Eur J Pharmacol.* 2006;537:118-125
2. Farkas AS, Rudas L, Makra P, Csik N, Lepran I, Forster T, Csanady M, Papp JG, Varro A, Farkas A. Biomarkers and endogenous determinants of dofetilide-induced torsades de pointes in alpha(1) -adrenoceptor-stimulated, anaesthetized rabbits. *Br J Pharmacol.* 2010;161:1477-1495
3. Szentandrassy N, Birinyi P, Szigeti G, Farkas A, Magyar J, Toth A, Csernoch L, Varró A, Nánási PP. Sea0400 fails to alter the magnitude of intracellular ca(2+) transients and contractions in langendorff-perfused guinea pig heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2008;378:65-71
4. Farkas AS, Acsai K, Nagy N, Toth A, Fulop F, Seprenyi G, Birinyi P, Nanasi PP, Forster T, Csanady M, Papp JG, Varro A, Farkas A. Na(+)/ca(2+) exchanger inhibition exerts a positive inotropic effect in the rat heart, but fails to influence the contractility of the rabbit heart. *Br J Pharmacol.* 2008;154:93-104
5. Farkas AS, Makra P, Csik N, Orosz S, Shattock MJ, Fulop F, Forster T, Csanady M, Papp JG, Varro A, Farkas A. The role of the na+/ca2+ exchanger, i(na) and i(cal) in the genesis of dofetilide-induced torsades de pointes in isolated, av-blocked rabbit hearts. *Br J Pharmacol.* 2009;156:920-932
6. Farkas AS, Nattel S. Minimizing repolarization-related proarrhythmic risk in drug development and clinical practice. *Drugs.* 2010;70:573-603

I/2 témacsoport

Klinikai jelentőségű kardiorespiratorikus pathomechanizmusok kísérletes vizsgálata

Vezető: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, az MTA doktora

Kutatási koncepció

A koncepció lényege a kardiorespiratorikus rendszer működésének jobb megértésére irányuló törekvés. A program főképp a keringési és légzési zavarok kutatására irányul, de a vizsgálandó kérdések skálája a fiziológiai alapmechanizmusok tanulmányozásáig terjed – a kórtani és terápiás (klinikai, alkalmazott farmakológiai) adatok helyes interpretálásához ugyanis szükség van a normális funkció megismerésére is. Hangsúlyozni kell, hogy a program egységként kezeli a keringési- és a légzőrendszert, különös figyelmet fordítva a sebészi kórképekre és e problémák megoldására. E tárgykör részét képezi az invazív beavatkozások helyi és általános következményeinek, a műtét és az emberi szervezet egyes funkciói közötti kapcsolatoknak és összefüggéseknek a feltárása és értelmezése. E jellegzetességek a program előnyét is jelentik: a kutatói pályára készülő, és a klinikusi hivatást választó hallgatók is találhatnak számukra megfelelő, hasznosan tanulmányozható témát, elméleti és klinikai problémákat egyaránt.

Választható kutatási témák

1. A szepszis és a keringési shock makro- és mikrokeringési következményei, befolyásolási lehetőségek

Témavezetők: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, Dr. Kaszaki József egyetemi docens

A témakör a humán szepszis és szeptikus shock kifejlődésében és végzetes kimenetelében rendkívül fontos szerepet játszó speciális keringési reakciók kutatására nyújt lehetőséget. Ez a terület az SZTE Sebészeti Műtéttani Intézetében jelentős, évtizedes hagyományokra építkezik.

A szepszis definíció szerint fertőzéssel összefüggésben létrejött szisztémás gyulladós válaszreakció („SIRS”). A „súlyos szepszis” pedig több-szervi funkciózavar, amely ha megfelelő terápia hatására sem mérséklődik „szeptikus sokk”-ba mehet át. A szepszis tehát nem egy definitív állapot, hanem a gyulladós folyamatok egy rendkívül komplex kaszkádszerű láncolata. Szepszis során ugyanakkor a helyes diagnózis felállítása és a súlyosság megítélése nehézségbe ütközik a tünetek aspecifikus volta miatt. Még napjainkban is magas a kór állapot a mortalitása, amely jelzi további diagnosztikai módszerek és a patomechanizmus mélyebb feltérképezésének szükségességét.

Szepszisben az oxigén szállítás és oxigén felhasználás közötti egyensúly felborulása az egyik alapvető mechanizmus, mely részben a mikrokeringés elégtelen voltára, részben pedig a mitokondriumok oxigént hasznosító zavarára (anaerob metabolizmusra) vezethető vissza. Mivel a két folyamat együttesen, vagy egymást követően eredményezheti a sejtek energetikai zavarán alapuló több-szervi elégtelenséget és a sejtek pusztulását, ezért az eredeti patogén reakcióval kapcsolt immunológiai válasz által meghatározott mikrokeringési és mitokondriális elégtelenséget, kombinált mikrokeringési és mitokondriális funkciózavarként, distresszindrómaként definiálhatjuk. A fennálló mikrokeringési zavar mintegy motorja lehet a folyamatoknak, mely a sokkszerű elégtelenség irányában mozdítja el a folyamatokat. Adekvát terápiás beavatkozás hiányában a romló mikrokeringés következtében szöveti hypoxia alakul ki és a felszabaduló mediátorok miatt sodródik a beteg a sokkszerű elégtelenség állapotába. Feltételezzük, hogy az oki tényezők tisztázásához az oxigénhiány jeleit és okait párhuzamosan kell vizsgálnunk és monitoroznunk: globális, celluláris (endothel sejtek) és szubcelluláris szinten.

A szeptikus folyamatot jellemző gyulladós kaszkád számtalan mediátor és target molekula aktiválódását foglalja magába, amely biomarkereknek fontos szerepük lehet a diagnosztikus és terápiás oldalról egyaránt. Bizonyos biomarkerek jelenléte, plazma szintjük változása meghatározhatja a folyamat súlyosságát, a bakteriális infekció meglétét vagy hiányát, árnyalhatják a képet a lokális fertőzéstől a szisztémás folyamatig, sőt ezek változása által, a terápia hatékonysága is megbecsülhető.

A/ A kutatási program egyik célja egy olyan mikrokeringési és mitokondriális újralesztési stratégia feltérképezése, mely mérsékelheti oxigén deficethez vezető folyamatok diszfunkcióját és a sejt-szintű energetikai zavarokat szepszisben.

B/ A kutatás másik célja az egyes biomarkerek célzott monitorozása a szöveti oxigenizáció ellenőrzésével együtt, amely javulást eredményezhet a diagnosztikában és javíthatja a folyamat prognózisát is. Új farmakoterápiás alternatívák kidolgozásával pedig befolyásolni lehetne egyes biomarkerek aktivációját, a mikrokeringési zavarát és végső soron a betegség végkimenetelét.

C/ A vizsgálatok további területe az új farmakoterápiás útirányok kidolgozása. Az endothelin rendszer, a komplement C5a és a szepszis késői fázisát reprezentáló HMGB1 gátlása révén csökkenthetőek lehetnek mind a gyulladós reakciók, mind a mikrokeringési zavar a betegség mellett.

Vizsgálatainkat a munkacsoportunk által kidolgozott autofaeces infekcióval kiváltott peritonitis sertés és patkány modelleken végezzük. Mivel az abdominális szepszis nem minden esetben jár peritoneális mikrobiális pozitivitással, egy olyan nagyállat modellt is tervezünk létrehozni, melyben a szepszis eredete a tüdő bakteriális infekciójára vezethető vissza. Ezekkel a modellekkel az intenzív osztályok beteganyagának széles tünet-együttese lefedhető és a terápiás hatások hatékonyan vizsgálhatók.

A körülmények a kérdéskör tanulmányozására kedvet érő Ph.D. hallgatók számára igen kedvezők, munkájukat megfelelő tapasztalattal és kutatási teljesítménnyel rendelkező kutatók segítik. Rendelkezésre állanak a keringés csaknem valamennyi paraméterének monitorozását lehetővé tevő több csatornás adatgyűjtő és analizáló hemodinamikai mérőrendszerek is.

2. A gasztrointesztinális rendszer sebészi jelentőségű keringési kórképeinek kísérletes vizsgálata

Témavezetők: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, Dr. Kaszaki József egyetemi docens, Dr. Hartmann Petra egyetemi tanársegéd

A program közvetlen célja az ischaemiás-hypoxiás szövetkárosodásban döntő szerepet játszó mikrocirkulációs zavarok alaposabb megismerése és befolyásolása, valamint a lehetséges terápiás útirányok kijelölése. A Sebészeti Műtéttani Intézet (SMI) mikrokeringési laboratóriuma lehetőséget biztosít a szöveti véráramlás *in vivo* vizsgálatára a legtöbb szervben: intravitális videomikroszkópiával (IVM) a sejtes reakciók, a mikrovaszkuláris érátmérő, az áramlási sebesség változásai, és az érfal permeabilitási viszonyai vizualizálhatók és számszerűsíthetők. A módszert alkalmassá tettük többek között a vékonybél, a nyelőcső, a gyomor vagy a vastagbél és a máj anatómiai rétegeinek mikrokeringésének *in vivo*, közvetlen megfigyelésére. A fluoreszcens képalkotás mellett lehetőség nyílik az IVM technika továbbfejlesztését jelentő OPS (Orthogonális Polarizációs Spektrális) képalkotás kísérletes körülmények közötti használatára is. A szövetkárosodás mértékének *in vivo* megítélésére és a kapott eredmények konvencionális fénymikroszkópos analízisével való összevetésre ad lehetőséget a laser scanning confocalis endomicroscop (LSCM) használata. A szöveti hypoxia subcelluláris következménye a mitokondriális funkciók megváltozása, melynek vizsgálatára az OROBOROS (nagy felbontású Oxygraph 2K) módszert használjuk, amellyel lehetővé válik a mitokondriális elektrontranszport, oxidatív foszforiláció (oxfosz) és ATP szintézis hatékonyságának megítélése.

A/ A vékonybél keringési zavarai, az ischaemia-reperfúziós károsodás és terápiás lehetőségei, különös tekintettel a mikrokeringési és motilitási szövődmények vizsgálatára.

Funkcionális (motilitás) és strukturális károsodások, a terápia lehetőségei, különös tekintettel a megváltozott endothelialis vazokonstriktor/vazodilatátor mediátor arányra, illetve a reperfundált vékonybél károsodásában meghatározó jelentőségű endothelsejt-leukocytá interakcióra.

Célunk az alacsony perctérfogat állapotokban (pl. vérzésemes shock, szepszis alatt) bekövetkező splanchnikus hipoperfúzió következményeinek, valamint az átültetett vékonybél nyálkahártyájának károsodásában is döntő fontosságú mucosa mikrocirkulációs zavarok alaposabb megismerése és befolyásolása. Standardizált kísérletes modelljeinkben a vékonybél transzplantációt követő kritikus mikrokeringési változások objektíven megítélhető paramétereinek vizsgálatát végezzük OPS és IVM képalkotás segítségével. Endothelialis mediátorok és receptorok szerepét is vizsgáljuk az átültetett vékonybél reperfúziós károsodását meghatározó mikrovaszkuláris vazokonstriktív és no-reflow jelenség fenntartásában, ide tartozik a splanchnikus területről származó mediátor felszabadulás és a

vékonybél transzplantációt követően a tüdőben bekövetkező mikrokeringési reakció jellemzése, a Peyer-féle plakkok mikrokeringésének vizsgálata ép és kóros keringési viszonyok között, és folyamat befolyásolásának lehetőségei (pl. endothelin receptor antagonisták, gyulladáscsökkentő terápiák alkalmazásával).

E témacsoportba tartozik a vékony és vastagbél motilitás és mikrokeringés változása is, ileusban és gyulladással járó kórképekben, a pathomechanizmus és terápiás lehetőségek tanulmányozása. A bélmotilitás változása az ileus és a gyulladással járó tényezője, a gyulladással járó mediátorok és metabolitok produkciója modulálja a neuronális aktivitást. A motilitást determináló paraméterek – a mioelektromos aktivitás, motilitási index, kontrakciók amplitúdója és frekvenciája, tranzit time – monitorozása prediktív és diagnosztikai jelentőségű lehet. A neuroprotekciónak lehetőségét a glutamát receptor antagonisták kinurén-sav és véragy-gát permeábilis, szintetikus analógjainak segítségével, akut és krónikus gyulladással járó gasztrointesztinális kórképek állatkísérletes modelljeiben vizsgáljuk.

B/ Gyulladáscsökkentő kezelések hatásai gasztrointesztinális sebészeti kórképekben. Az oxido-reduktív stressz befolyásolása foszfolipidekkel. Az oxido-reduktív stressz által kiváltott metánképződés kórtani és diagnosztikus jelentősége.

Vizsgáljuk a különböző foszfolipidek, elsősorban a foszfatidilkolin és deacilált származékának az L- α -glicerilfoszforilkolinnak (GPC) az endogén-exogén terápiás gyulladáscsökkentő hatásait, a foszfatidilkolinnal dúsított ill. kolin hiányos étrenddel előidézhető változások strukturális, funkcionális és mikrokeringési következményeit. A PC gyulladáscsökkentő hatása kapcsolatba hozható a metil-donor komponenseket tartalmazó poláros feji, vagy apoláros oldalláncok aktivitásával egyaránt, ezért feltételezzük, hogy a poláros feji vég a hatékony komponens, mely önállóan is alkalmazható a gyulladással járó folyamatok csökkentésére. Mivel *in vitro* kísérletekben kimutattuk, hogy a GPC gátolja az ATP depleciót és oxigén gyök-képződést, ezáltal a GPC több támadásponttal is rendelkezhet, multi-target szerűnek tekinthető. Ugyanitt nyílik lehetőség az oxido-reduktív stressz által kiváltott metánképződés kórtani és diagnosztikus jelentőségének vizsgálatára is.

In vivo altatott patkányokban, akut mesenterialis ischaemia-reperfúziós modellben, autofaeces indukcióval kiváltott szepszist modellben vizsgáljuk az exogén GPC hatását a makrokeringési, mikrokeringési és gyulladással járó szövődményekre. Nyomon követjük az oxido-reduktív stressz hatásainak következményeit (ATP szintézis vizsgálata, lipid-peroxidáció, oxygraph kísérletek) és *in vivo* (fluoreszcens LSEM) szövettani felvételeket készítünk a bélben kialakuló strukturális változások jellemzésére. Az eljárással a hagyományos szövettani vizsgálatok elvégzése nélkül is pontos képet kaphatunk a bél mikrokeringési rendszerének és az epithel sejtek károsodásának dinamikájáról és mértékéről.

In vitro kísérleteink során célunk egy átfogó kísérletsorozat elvégzése, amelyben a mitokondriális funkciók direkt vizsgálatával igazoljuk a GPC protektív hatásaihoz köthető mechanizmusok egyes elemeit patkány máj preparátumon. Tanulmányozni kívánjuk az oxido-reduktív stresszt követő membránkárosodást és mérséklődését, a mitokondriális elektrontranszport-lánc egyes komponenseinek specifikus gátlására bekövetkező változásokat.

C/ Nem-szteroid gyulladásgátlók kovalensen konjugált származékainak vizsgálata a tápcsatorna gyulladással járó megbetegedéseinek kezelésében

A tápcsatorna gyulladással járó megbetegedéseinek kezelésében jelenleg meghatározó szerephez jutnak a nem-szteroid gyulladásgátlók (NSAID) – ám ezek számos, súlyos mellékhatással bírnak. Korábbi vizsgálatok szerint foszfatidilkolin illetve egyes származékai (köztük az L- α -glicerilfoszforilkolin, vagy GPC) protektív hatásúak lehetnek, így olyan kovalensen konjugált származékokat (NSAID + GPC; NSAID + metionin) kívánunk tervezni és

előállítani, amelyek alkalmazása várhatóan csökkenő kockázatokkal és mellékhatásokkal járhat.

D/ A máj ischemia – reperfúzió mikrokeringésre gyakorolt hatása.

Élődonoros májtranszplantációk és tumorrezekciók során a máj I-R károsodása jelentős kockázatot jelent, aminek csökkentése napjaink korszerű kutatási céljai közé tartozik. Tervezett tanulmányaink során a részleges máj I-R károsodásának következményeit vizsgáljuk, különös tekintettel a szabadgyök károsodásra, köztük a NADPH oxidázok (NOX) és mitokondriális enzim komplexek szerepére, valamint a mikrokeringés zavarára.

A témakör részei:

- A reaktív oxigéngyököket termelő enzimek közül a NOX család egy nemrégiben felfedezett, jellemzően az erekben kimutatható homológja a NOX4, melynek fontos szerepe lehet redox folyamatok szignalizációjában. Kísérleteinkben a NOX2 és a NOX4 szerepét kívánjuk tisztázni a parciális hepatektómia utáni regenerációban és ezek indukcióját foszfolipid származékokkal kívánjuk modulálni.

- Korábbi kísérletekben szöveti hypoxia-reoxigenizáció során, valamint a mitokondriális elektrontranszport lánc diszfunkciója esetén endogén metán felszabadulást mutattunk ki. Ezen kívül exogén metán inhaláció gyulladáscsökkentőnek bizonyult mesenterialis I-R modellben. Tervezett kísérleteinkben részleges máj I-R károsodást követően máj homogenizátumokon vizsgáljuk kolin donor adásának és exogén metán inhalációjának hatását a mitokondriális elektrontranszport lánc elemeire, reaktív oxigén szabadgyök képzésre és az ATP szintézisre.

Módszerek

A gasztrointesztinális monitorozási spektrumból kiemelhetők az alábbi lehetőségek:

- Teljes makrohemodinamikai monitorozás (nyomás, áramlás, kontraktilitás, ellenállás, adatrögzítés SPEL Advanced Hemosys-Cardiosys 1.4 computerrel);
- Közvetlen mikrokeringés monitorozás fluoreszcens intravitális videomikroszkóp és orthogonális polarizációs spektrális (OPS) képalkotó videomikroszkóp technikák alkalmazásával (ld. alább);
- Bélmotilitás regisztrálás strain gauge (nyúlásmérő bélyeg) szenzorok és adatgyűjtő és analizáló komputerhez kapcsolt SGM DC bridge amplifier modul (Experimetria Ltd, Budapest) alkalmazásával. Lehetőség van a GI simaizom mioelektromos aktivitás monitorozására is (Experimetria Ltd).
- Lumat LB kemiluminométer segítségével különböző típusú szabadgyök reakciók monitorozása; komplex vérgáz analízis Cobas B121 (Roche) készülékkel.
- A szövetkárosodás *in vivo* és *ex vivo* vizsgálatára különböző fluoroforok alkalmazásával laser scanning confocalis endomicroscopia (LSCE, Optiscan).
- Májhomogenátum és izolált mitokondrium respirációs médiumban való inkubálása és a mitokondriális légzés nagy felbontású respirométerrel való vizsgálata (Oxygraph 2K, OROBOROS).

3. A vázrendszer és a vázizomzat mikrokeringése. Traumatológiai kórképek keringési és mikrokeringési következményei, a végtag ischemia-reperfúzió befolyásolása

Témavezetők: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, Dr. Szabó Andrea egyetemi docens, Dr. Hartmann Petra egyetemi tanársegéd

Traumatológiai, ortopédiai kóresetek, törések és lágyrész sérülések általános jellemzője a végtagok átmeneti ischaemiája. Hasonló, átmeneti ischaemia, vagyis ischaemia-reperfúzió (I-R) valósul meg a rekonstrukciós sebészetben gyakran használt eljárások alatt, pl.

maxillo-facialis tumor resectio vagy trauma által okozott szövethiányok pótlására alkalmazott vascularizált csont autograftok és osteomyocutan lebenyek átültetéskor. A transzplantált graftok túlélése nagymértékben függ a vérellátás sebészi helyreállítástól és a mikrokeringés életképességétől.

Kísérletes vizsgálatainkban fluoreszcens IVM és OPS videomikroszkópiát alkalmazunk a csontthártya mikrokeringési változások *in vivo* megjelenítésére, melyek révén számszerűsíteni tudjuk az I-R károsodás alatt a csontthártyában kialakuló gyulladással leukocytá-endothelsejt interakciók minőségi és időbeli változását, és a perfúzió zavarát egyaránt. Kísérleteink elsődleges célja az I-R mikrokeringési szintű következményeinek vizsgálata és befolyásolása. Ennek részeként a kórfolyamat olyan tényezőit kívánjuk megismerni, melyek befolyásolása révén csökkenhet a strukturális és funkcionális károsodás a helyi mikrokeringés szintjén.

A témakör részei:

- Végtag I-R által kiváltott mikrokeringési változások vizsgálata. Ez magában foglalja a szöveti perfúzió minőségi változásainak, az elsődleges és másodlagos leukocytá-endothelsejt interakcióknak, a leukocyták szöveti inváziójának valamint a folyamatok háttérben fennálló gyulladással citokin felszabadulásnak vizsgálatát.
- Az ischemiás prekondicionálás (IPC) által létrehozott lokális mikrokeringési védelem mértékének megismerése kísérletes végtag I-R modellben. További célunk az endogén ösztrogén hatások szerepének tisztázása a végtag IPC potenciális hatásmechanizmusában.
- Az osteoporosis állatkísérletes modelljében szintén vizsgáljuk az osteoporosis terápiájában alkalmazott biszfoszfonát kezelés mikrokeringési komplikációit a végtag I-R által kiváltott antigén-független gyulladás során.
- Az arc- és állcsont sebészetben alkalmazott szabad lebenyek mikrokeringésének vizsgálata laser-Doppler áramlásméréssel.
- A biszfoszfonát által kiváltott osteonecrosis mikrokeringési vonatkozásainak vizsgálata (az Arc, Állcsont és Szájsebészeti Klinikával kooperációban)
- A különböző osteosynthesis technikák csontkeringést károsító hatásának vizsgálata patkány tibia velőürének felfúrása és különböző stabilitású implantátumok beültetése révén. Humán mérések reoperációk során intravitális mikroszkóppal (OPS) és laser-Doppler áramlásmérő segítségével a különböző osteosynthesis technikák és endoprotetikai beavatkozások velőüri és periostealis érstruktúrára gyakorolt hatásáról.

4. Az ízületi gyulladás pathomechanizmusának feltárása és terápiás lehetőségei

Témavezetők: Dr. Hartmann Petra egyetemi tanársegéd

A synovium gyulladása az arthritisek általános kísérő jelensége és egyben a terápia célpontja is, és a synovium mikrokeringésében bekövetkező változások jó indikátorai az ízületi gyulladás súlyosságának és az alkalmazott kezelés hatékonyságának. A nervus vagus fő neurotranszmittere, az acetilkolin a „kolinerg gyulladáscsökkentő útvonalon” a nikotinerg alfa7 alegység ($\alpha 7$ -nAChR) közvetítésével képes a gyulladással reakciók szabályozására. Az ízületeknek nincs vagalis beidegzésük, de az $\alpha 7$ -nAChR alegység jelen van az egészséges synoviumon is, rheumatoid arthritiben pedig nemcsak ennek fokozott expresszióját, de a vagus csökkent tónusát is kimutatták. Ezen kívül az $\alpha 7$ -nAChR nem csak bizonyos sejtfelszínen, de számos szövet mitokondrium membránján is expresszálódik. A mitokondriális funkciókra való hatására, és az arthritiben betöltött szerepére vonatkozóan azonban még nincsenek adataink. Az endogén kolinerg gyulladáscsökkentő útvonal alacsony aktivitása és a synovium sejteinek emelkedett acetilkolin receptor expressziójában

megnyilvánuló fokozott válaszkészsége felveti a kolin donorok potenciális terápiás szerepét arthritisben. Kísérleteink elsődleges célja az ízületi gyulladás pathomechanizmusának feltárása és kolinerg agonisták alkalmazásával történő befolyásolása.

A témakör részei:

Kísérleteink során az ízületi gyulladás pathomechanizmusának feltárására irányuló *ex vivo* és *in vivo* vizsgálatokat végzünk.

- *Ex vivo* vizsgálataink során humán synoviumok molekuláris képpalkotó vizsgálatát végezzük laser scanning konfokális endomikroszkóppal (LSCM) az alfa7-nACh receptor expresszió vonatkozásában osteoarthritisben és rheumatoid arthritisben szenvedő betegektől térd protézis beültetés folyamán és nem arthritises kontroll személyektől térd arthroscopiás beavatkozások során vett mintákból.

-Ezen kívül humán synoviumokból a mitokondriális funkciók respirometriás vizsgálatát Oxygraph 2K respirométerrel végezzük Ach, L- α -glicerilfoszforilkolin (GPC), szelektív alfa7-nAChR agonista és antagonistá adása mellett.

-*In vivo* állatkísérletekben carrageenin/kaolin (C/K)-indukálta térd arthritisben synoviumból alfa7-nAChR receptor meghatározását végezzük és vizsgáljuk a choline donor alpha-glycerylphosphorylcholine hatását a receptor expresszióra, a térd morfológiára, a szekunder hiperalgéziára, a mikrokeringési és biokémiai paraméterekre. A synovium mikrokeringési változások *in vivo* megjelenítése fluoreszcens intravitális mikroszkópiával (IVM) történik, mely révén számszerűsíteni tudjuk a gyulladás alatt a synoviumban kialakuló leukocytá-endothelsejt interakciók minőségi és időbeli változását, és a perfúzió zavarát egyaránt.

5. Az urogenitális rendszer keringési kórképeinek kísérletes vizsgálata

Témavezetők: Dr. Boros Mihály egyetemi tanár, Dr. Szabó Andrea egyetemi docens

Az SMI munkacsoportjai az OPS képpalkotást a mikrokeringés nem-invazív monitorozására rutinszerűen használják az urogenitális traktus esetében is. A téma keretén belül lehetőség van az urológiai sebészet keringési vonatkozásai iránt érdeklődő hallgatóknak, egyéni választás alapján, kísérletes kutatást végezni számos területen.

A kutatás modelljei

Mikrocirkulációs véráramlás, neutrophil-endotheliális interakciók és mikrovaszkuláris permeabilitás változások vizsgálata intravitális mikroszkópiával és OPS technikával az alábbi modellekben:

- A húgyhólyag I-R mikrokeringési következményeinek összehasonlítása az haemorrhágiás és intersticiális cystitis állatkísérletesen modelljeiben megfigyelt reakciókkal (melyet urothelium károsodását közvetlenül kiváltó anyagok pl. ciklofoszfamid ill. protamin-szulfát intravesicális instillációja révén váltunk ki).

- Capsaicin és BCG hatásának vizsgálata intravitális video mikroszkópiával az intakt hólyag mikrokeringésére patkányon capsaicin és BCG hólyagba történő instillációját követően.

- A neurogén gyulladás mikrokeringési vonatkozásainak vizsgálata topikálisan alkalmazott capsaicin segítségével.

- A here torzió mikrocirkulációs és biokémiai következményeinek vizsgálata patkányon. A sildenafil mikrocirkulációs hatásainak vizsgálata.

Módszerek

- A szövetek felszíni rétegeiben bekövetkező véráramlás és véráramlás-mintázat változások analizésére alkalmas a laser-Doppler véráramlás mérő eszközünk. A készülék a Doppler-elv révén a mozgó vörösvértestekről visszaverődő laserfény frekvenciája-változásának mértéke révén (mely arányos a vizsgált szövetben mozgó vörösvértestek számával és áramlási sebességével) ad információt a szövet véráramlási viszonyairól ill. annak változásiról. A laser nyaláb 1-1,5 mm mélyre hatol, ebben a mélységben a bőrben a nutritív kapillárisok ill. a termoregulátor shuntok áramlása vizsgálható. A birtokunkban levő készülék (Periflux 5000) rendelkezik a szöveti oxigén- és széndioxid tenzió mérésére alkalmas szenzorokkal is ill. fűthető áramlásmérő fejjel is.
- A mikrokeringés vizsgálata intravitális mikroszkópiával (IVM): az intakt, ér és idegi összeköttetéseit megtartott szerv keringését egy speciális állványra való kihelyezés után, a mikrokeringés egy komponensének fluoreszcens markerrel való jelzése révén tesszük vizsgálhatóvá. Fluoreszcens markerként fluorescein izotiocianáttal (FITC) jelzett vörösvértesteket használunk, a leukocyták jelzésére Rhodamin 6G-t kapnak az állatok. Mikrovaszkuláris permeabilitás változásainak jellemzésére FITC-jelzett albumin extravazációját használjuk. A mikrocirkulációs változásokat egy video kamera segítségével rögzítjük, a kiértékelést off line, egy számítógépes program segítségével végezzük. A mikrokeringés állapotát következő, szakirodalomban elfogadott paraméterek révén írjuk le: kapilláris áramlási sebesség, funkcionális kapilláris denzitás, mikroér kaliberváltozások, mikrovaszkuláris permeabilitás változások. A neutrophil leukocyták és az endothelium közötti interakciókat a posztkapilláris venulákban, a neutrophil kitapadás különböző stádiumainak analizise után számszerűen jellemezzük.
- A mikrokeringés vizsgálata OPS technikával: A vizsgált szervet az intravitális mikroszkópiához hasonló módon készítjük elő, ám a mikrokeringés vizualizálásához jelzőanyag nem szükséges. A képanalizis a fentiek szerint off-line, az intravitális mikroszkópokkal kompatibilis rendszerrel történik.
- Mikrovaszkuláris permeabilitás változások mérése: Méréseinket részben fotometriásan, részben szemikvantitatíven, intravitális mikroszkópiával végezzük. Az intravitális mikroszkópiánál egy FITC-jelzett albumin származék extravazációja tehető oly módon láthatóvá, a fotometriás módszerrel az Evans Blue intersticiális akkumulációját, mint az albumin extravazációjának indikátorát mérjük, melyből szintén a mikrovaszkuláris permeabilitás változásaira következtethetünk.
- Szövettani beágyazás nélkül teszi lehetővé a szövetek felszínének morfológiai analizisét a birtokunkban levő fluoreszcens laser scanning confokális endomikroszkópia (LSCM).
- A keringő leukocyták felszínén található adhézios molekulák expressziójában bekövetkező változások analizisét áramlási cytológiával végezzük (a Biokémia Intézettel kooperációban), a szöveti adhézios molekula expresszió változásokat pedig immunhisztokémiai módszerrel vizsgáljuk (a Patológia Intézettel kooperációban).

A rendelkezésre álló infrastrukturális háttér

- Periflux 5000 típusú laser-Doppler véráramlás mérő szöveti oxigén és széndioxid tenziót mérő szenzorral
- Zeiss AxioTech Vario 100HD típusú intravitális mikroszkóp
- Cytoscan típusú OPS videomikroszkóp digitális adatrögzítést lehetővé tevő PC háttérrel
- Sony típusú videómonitorok, CCD kamera, Panasonic S-VHS rendszerű videorekorderek, képanalizáló szoftver (Pictron, Budapest)
- Five1 Optiscan típusú LSCM készülék (Optiscan Pty. Ltd., Melbourne, Australia)
- Makrocirkulációs paraméterek monitorozása (lokális és szisztémás vérnyomás, véráramlás és perctérfogat) mérésére alkalmas eszközök (Experimetria által gyártott 4 csatornás vérnyomásmérő készülék)

- Egyéb: gázanalizátor (a szisztémás vér és lokális szöveti oxigenizáció meghatározására), spektrofluoriméter (Hitachi, permeabilitás vizsgálatok), fotométer (Shimadzu), biokémiai technikák: myeloperoxidase meghatározás, szabadgyök reakciók, permeabilitás vizsgálatok), luminométerrel szabadgyök reakciók, ATP meghatározás.

6. A légzőrendszer mechanikája: a légutak és a tüdőszövet szeparált vizsgálata

Témavezető: Dr. Hantos Zoltán emeritus professzor

A témakör kutatásának célja: korszerű kísérletes, mérés- és értékeléstechnikai módszerek alkalmazásával feltárni mindazokat a biomechanikai tulajdonságokat, amelyek

- elkülönítetten jellemzik a légzőrendszer légúti és szöveti kompartmentjeit,
- meghatározzák e kompartmentek kölcsönös mechanikai függőségét,
- rámutatnak az akut légúti és szöveti konstriktió és dilatáció mechanizmusaira,
- változnak a krónikus légzőszervi betegségek és azok terápiás befolyásolása során
- meghatározzák a légutak záródásának és újranyílásának folyamatait és
- lehetővé teszik neminvaszív mechanikai és volumetriai módszerek kifejlesztését.

A témakör fontossága alapvetően a légzőrendszeri megbetegedések növekvő elterjedéséből következik, de aktualitását két, az elméleti és klinikai kutatások homlokterében álló kérdéscsoport különösen alátámasztja. Az egyik a légzőrendszeri szövetek mechanikájának komplex, nem-newtoni jellegéből következik: a szöveti mechanikai ellenállás jelentős hozzájárulása a spontán légzés energetikájához; a szövetek részvétele a bronchokonstriktióban (a „pulmokonstriktió” jelensége) - illetőleg a bronchodilatációban - a parenchyma és a légutak mechanikai interdependenciája és ennek eltorzulása az asztma, emphysema és fibrosis kialakulása során. A másik az inhomogenitás jelensége, általában a struktúra-funkció összefüggés kontextusában, speciálisan a bronchokonstriktió során: a perifériás légutak inhomogén konstriktiójának mechanizmusai és hatása a gázcsere és a globális mechanikára a mesterséges lélegeztetés körülményei között; az inhomogenitás dinamikája, különös figyelemmel a légutak elzáródásának-újranyílásának folyamataira és ezek befolyásolására az optimális ventilációs stratégiák kialakításával.

A kutatás módszerei a standard légzés- és keringésvizsgálati metodikák mellett kiemelt helyen tartalmazzák a kutatócsoportunk által kifejlesztett módszereket, elsősorban az alacsonyfrekvenciás kényszerített oszcilláció állatkísérletes és humán vizsgálati verzióit, melyekkel a légzőrendszer szöveti és légúti mechanikája szeparáltan és neminvaszív módon vizsgálható, valamint a légzési hangok intratracheális rögzítésének és feldolgozásának módszerét, mellyel az atelektatikus tüdő kinyílási folyamatait kísérő „crackle” hangseményei figyelhetők.

7. Kardiorespiratórikus kölcsönhatások szerepe a tüdőbetegségek pathomechanizmusában

Témavezető: Dr. Peták Ferenc egyetemi docens

A kutatási téma célja a pulmonális hemodinamikában bekövetkező változások tüdőmechanikára gyakorolt hatásának pontos mérése, valamint a változások mögött álló háttérmechanizmusok tanulmányozása. A kardiorespiratórikus kölcsönhatások feltárása fontos szerepet játszhat a légzőrendszer alapvető életjelenségeinek megértésében, és a kardiopulmonális betegségek patofiziológiás hátterének megértésében. A légutakban és a tüdőszövetben bekövetkező változások szeparált becslésével a téma kutatási eredményei hozzájárulhatnak a kardiopulmonális rendszer komplex működésének alaposabb megértéséhez, és a klinikai gyakorlatban gyakorta előforduló keringési eredetű pulmonális konstriktió okainak feltárásához.

Mérési protokolljaink magyarázattal szolgálhatnak azokra, a klinikai gyakorlatban gyakran felmerülő problémára, hogy

1. miként változnak a légúti és tüdőszöveti mechanika alapértékei és külső ingerekre adott konstriktor válaszai
 - a) a pulmonális hemodinamikában bekövetkező akut változások hatására, és
 - b) krónikus pulmonális hipertenzió hatására létrejött átstrukturálódását követően?
2. milyen mechanizmusok felelősek a „*kardiális asztma*” kialakulásáért, és mely terápiás eszközök alkalmasak a tünetek megelőzésére/kezelésére?
3. igazolható-e a fiziológiás pulmonális kapilláris nyomás jótékony szerepe a perifériás elzáródások megelőzésében és megszüntetésében?
4. milyen mértékű a tüdő posztoperatív iszkémia-reperfúziós károsodása kardiopulmonális bypassot követően, és vajon a surfactant diszfunkció állhat-e e jelenség hátterében?
5. miként nyilvánul meg a keringési és légzési betegségek interakciója szívesbészeti műtétek peri- és posztoperatív szakában?

8. A keringési- és a légzőrendszer vizsgálata szív-és érműtétek perioperatív időszakában ***Témavezető: Babik Barna egyetemi docens***

A kutatási téma ismertetése

A szív- és érrendszeri betegségek a szoros és dinamikus kardiorespiratorikus kölcsönhatáson keresztül meghatározzák a légzőrendszer strukturális és funkcionális állapotát. A témakör kutatásának célja vizsgálni azokat a direkt és indirekt hatásokat, melyeket maguk a szív és érrendszeri betegségek, illetve ezek műtéti korrekciója a légzőrendszer működésére kifejt. A direkt hatásokat spirometriával, kényszerített oszcillációs technikával, kapnometriával, közel-infravörös spektroszkópiával, a szisztémás és a pulmonális hemodinamika invazív monitorozásával, szív ultrahanggal követjük. A program lehetőséget kínál a különféle vizsgálati és műtőasztal/beteg ágy melletti monitorozási módszer összevetésére, klinikai értékük tisztázására. A szívműtétek indirekt következményeit az egészséget befolyásoló biológiai tényezők felmérésével kívánjuk elemezni.

9. Kardiorespiratorikus változások monitorozása és modulációja szeptikus állapotokban, valamint a perioperatív időszakban

Témavezető: Dr.Molnár Zsolt egyetemi tanár

Téma ismertetése:

Az iskola célja kettős: egyrészt kritikus állapotú, szeptikus, valamint magas rizikóval járó műtéten áteső betegeken végeznénk klinikai tanulmányokat, másrészt állatkísérletes modellen vizsgálnánk a szeptiszis kardiorespiratorikus hatásait.

A konkrét kutatási témák:

1. Állatkísérletes vizsgálatok

1.1. Az arterio-venózus "pCO₂-rés" alapján végzett folyadékreszuszcitáció klinikai relevanciájának vizsgálata

A folyadékterápia indikációja és végpontjainak meghatározására nincs egységes álláspont, nincs „egyetlen” univerzálisan használható paraméter. Egy soktényezős helyzettel állunk szemben, melyet legrészletesebben invazív hemodinamikai módszerekkel, valamint az oxigén adósságra utaló laboratóriumi mérésekkel lehet monitorozni. Ezek alkalmazása minden beteg esetében azonban nem kivitelezhető, sem idő, sem anyagi háttér erre nem áll rendelkezésre. Korábbi vizsgálataink alapján két egyszerűen mérhető vérgázparaméter, a centrális vénás

szaturáció (ScvO₂), valamint az arterio-venózus CO₂-rés (dCO₂), jó érzékenységgel mutatják a hypovolémiát, illetve a hypovolémia okozta oxigén adósságot. Jelen állatkísérletünk célja, egy vérzés-reszuszcitációs modellben annak vizsgálata, hogy használható-e az ScvO₂ és/vagy a dCO₂, mint reszuszcitációs végpont(ok).

1.2. A glycocalix funkcionális változásai különböző oldatokkal végzett folyadékreszuszcitáció során

A közelmúltban került előtérbe a glycocalix jelentősége a kapillárisok integritásának megőrzésében. Nincs egyértelmű adatunk arra vonatkozóan, hogy különböző krisztalloidok és kolloidok hogyan hatnak a kapilláris endotél működésére és strukturális átalakulására. Ezért célunk egy iszkémia-reperfúziós, majd egy szeptikus patkány-modell kidolgozása, ahol intravitális mikroszkóppal, valamint hemodinamikai mérésekkel elemeznénk a folyadékterápia hatásait a makro-, és mikro-hemodinamikára, valamint az endotélt bélelő glycocalix mátrixra. Eredményeink fontos adalékul szolgálhatnak a folyadékterápia eddig megmagyarázhatatlan klinikai hatásainak magyarázatában.

2. Klinikai vizsgálatok

2.1 A szérum prokalcitonin (PCT) szint 24 órán belüli kinetikájának vizsgálata

Mindezidáig nem született közlemény a PCT korai (0-24 óra) kinetikájának leírásáról infekció kezelése során, aminek viszont fontos jelentősége lehet. Elméletileg, mivel a PCT felezési ideje 24 óra, sikeres, illetve sikertelen kezelés hatására eltérő lehet a PCT korai kinetikája, ami elsősorban az effektív, illetve inefektív empirikus antibiotikus kezelést kapott betegnél segíthetné a klinikust, jóval a mikrobiológiai eredmények kézhezvétele előtt, hogy változtasson a kezelési stratégián. Ennek céljából egy prospektív leíró tanulmányt tervezünk, legalább 200 betegen.

2.2. Szeptikus sokk adjuváns kezelése citokin-adszorberrel

A citokin-vihar korai modulálása régi célja az intenzív terápiának szeptikus sokkos betegeknek. Az eddigi próbálkozások, bizonyos monoterápiás beavatkozások kivétel nélkül kudarcba fulladtak. Egy új adszorber (Cytosorbent) azonban nagy hatékonysággal köti meg a legfontosabb citokineket. Bár a kezdeti esetismertetések pozitív eredményekről számolnak be, klinikai vizsgálatok még nem láttak napvilágot. Prospektív randomizált vizsgálatunk célja, az antibiotikus terápiával egyidőben megkezdett cytosorbens kezelés hatásának vizsgálata a citokin-válaszra és a szervdiszfunkcióra a kezelést követő első 48 órában.

2.3. Az agyi oxigenizáció monitorozásának alternatív lehetőségei súlyos koponyatraumában

Az adekvát agyi oxigenizáció alapfeltétele a megfelelő oxigénszállító kapacitás és perfúzió mellett az adekvát agyi oxigén felvétel. Ennek monitorozása csak komplex módszerekkel kivitelezhető, melynek része az invazív hemodinamika, agyi szöveti oxigenizáció, és bulbus juguli oximetria. Célunk, egy prospektív leíró vizsgálat arról, hogy invazív hemodinamikai monitorozás mellett végzett keringéstámogatás alatt, a bulbus juguli és a ScvO₂ hogyan korrelál egymással. Ennek jelentősége, hogy lélegeztetett, szedált betegekben az ScvO₂ változásaiért döntően az agyi oxigénfogyasztás a felelős. Nem készült azonban vizsgálat arra vonatkozóan, hogy ennek értékei hogyan korrelálnak a bulbus juguliba helyezett katéterrel mért értékekkel. Pozitív eredmény esetén az ScvO₂ kiválthatná a sokkal nehezebben behelyezhető bulbus juguliba vezetett katéter használatát, és fontos eszköze lehetne az ágymelletti agyi oxigénfelvétel monitorozásának.

2.4. Célvezérelt hemodinamikai monitorozás mellett végzett folyadékterápia tudoműtétek alatt

Több klinikai vizsgálat (köztük saját eredményeink) alapján az intraoperatív hemodinamikai monitorozással végzett keringéstámogatás javítja a betegek kimenetelét, csökkenti a posztoperatív szövődmények számát. Tudoműtéteknél még nem végeztek hasonló vizsgálatot, ezért célunk egy prospektív randomizált tanulmány végzése VATS-lobectomián áteső betegeknek. Pozitív eredmény alapvetően befolyásolhatja a további klinikai rutint.

2.5. ScvO₂-asszisztált intaroperatív monitorozással végzett keringéstámogatás nagy hasi sebészeti műtéteknél

Az oxigén kínálat/kereslet megítélése rendkívül fontos nem csak a kritikus állapotú betegeknél, de a magas perioperatív rizikót jelentő sebészeti beavatkozásoknál is. Erre elméletileg alkalmas lehet az ScvO₂ folyamatos mérése. Ezért célunk, egy prospektív randomizált klinikai vizsgálat végzése, melynek során a konvencionális kezelést hasonlítjuk össze egy ScvO₂-asszisztált kezeléssel, és vizsgáljuk, a posztoperatív szövődmények előfordulására kifejtett hatását.

Állatkísérletes és klinikai környezetben alkalmazott mérési módszereink elsősorban a légúti és légzőrendszeri szöveti mechanikai paraméterek alacsonyfrekvenciás kényszerített oszcillációs szeparálása alapulnak. A pulmonális hemodinamikai monitorozásán túl, a háttérmechanizmusok vizsgálatára szövettani vizsgálatokat alkalmazunk. A mérési célkitűzéseknek megfelelően kutatási protokolljainkat altatott, mesterségesen lélegeztetett patkányokon, izolált perfundált patkánytüdőkön, és szívűtött betegeken hajtjuk végre.

10. Az autológ intesztinális rekonstruktív sebészet új koncepciói rövidbél szindróma kezelésében

Témavezető: Dr. habil. Cserni Tamás PhD email: tcserni@yahoo.com Tel: 06-70-9407841

A *strukturált bél expanzió (SBE)* és az *autológ intesztinális rekonstruktív sebészet (AIRS)* együttes alkalmazása a bél transzplantáció ígért alternatívája. A kezelés azon alapul, hogy a bél felszívó felszíne (az enterocita tömeg) spontán is növekszik, adaptálódik és ez a folyamat mechanikus erő alkalmazásával fokozható. Az adaptáció és szövet expanzió során kitágult bél elveszti ugyan a motilitását, de ez a *hosszabbító és szűkítő* eljárással helyreállítható.

Jelenleg a Bianchi és a serial transverse enteroplasty (STEP) műtét a leggyakrabban használt eljárás, de mindkettőnek van hátránya. A Bianchi műtét során a mesenteriumot meg kell hosszában felezni, ez kifejezetten nehéz és a bél vérrellátásának jelentős kockázatával jár. A STEP műtét sokkal könnyebb, de teljességgel dezorientálja a bél izomzatát, a circularis rostokat hosszantivá, a hosszantiakat körkörösé alakítja. Ennek hatása a bél motilitására jelenleg ismeretlen.

Az általunk kifejlesztett új módszer a Spiral Intestinal Lengthening and Tailoring (SILT) egy a Bianchi műtétnél könnyebben kivitelezhető műtét, kisebb rizikóval jár, mert nem kell a mesenteriumot megfeleztetni, nem dezorientálja az izomrétegeket olyan mértékben, mint a STEP műtét. Az eljárás kezdeti klinikai alkalmazását is sikerek övezték.

A kutatásunk az AIRS következő pontjaira összpontosít:

- 1, A hosszabbított bél motilitása STEP és SILT műtétek után.
- 2, Művi ileocecalis sphincter kifejlesztése, mely segítségével kontrolált bél obstrukció / expanzió azaz a felszívó felszín növelése hatékonyan kivitelezhető.
- 3, Az ileocecalis billentyű hiánya csökkenti a rövidbél szindróma túlélésének esélyét. A billentyű az elképzelésünk szerint végzett autológ sebészi rekonstrukciója javíthatja a túlélést.

I/3 témacsoport

A hypertonia pathomechanizmusának és az antihypertensív szerek hatásmódjának klinikai és kísérletes vizsgálata

(Vezető: Dr.Ábrahám György, az orvostudomány doktora, egyetemi tanár)

Kutatási koncepció, a témacsoport általános leírása

A hypertonia a felnőtt lakosság körében 15-25 %-ban fordul elő, szövődményeivel együtt a leggyakoribb halálok. Az orvostudományon belül alig van olyan diszciplína, amelyet a betegség valamilyen módon ne érintene.

Az általános belgyógyászat mellett nagy szerepük van a hypertonia diagnosztikájában, kezelésében és a kutatásában többek között a nephrologiának, a kardiologinak, az endokrinológiának, a nőgyógyászatnak, a sebészetnek, a farmakológiának, a szemészetnek, az angiologinak, a radiológiának és a népegészségügynek.

A hypertonia pathogenesise nem tisztázott. Bár a kezelési módszerek kidolgozása kapcsán rendkívül jelentős előrehaladás történt, az ideálist megközelítő gyógyszerek és módszerek kutatása továbbra is igen nagy jelentőségű.

A doktoranduszok a hypertonia-kutatás legfontosabb területeiről választhatnak feladatokat, amelyek a következők.

A) A hypertonia epidemiológiai vonatkozásai

A hypertoniával kapcsolatos epidemiológiai kutatások egyre fontosabbak és időszerűbbek. Többek között erre utal az alábbi két szempont:

1. Nemzetközi kritériumok alapján végzett és angol nyelven publikált hazai hypertonia szűrővizsgálatra mindmáig csak egy esetben került sor, amelyet éppen a Szegedi Nephrologia-Hypertonia Centrum végzett Csongrád városban több mint 13000 lakoson. (J. Human Hypertension, 3, 105-110, 1989.). Számos indok alapján, de nem kis mértékben finanszírozási okokból is, szükség lenne újabb, aktuálisabb szűrővizsgálatok kivitelezésére.

2. Az utóbbi idők kutatásai nyomán derült fény arra, hogy a hypertonia kezelési módszereinek javulása ellenére nagyon sok a fel nem ismert hypertonia. A hypertoniások 50-70 %-át kezelik, de ami a legmegdöbbentőbb, hogy az igazán megfelelően kezelték aránya a fejlett egészségüggyel rendelkező országokban is csak 15-30 % körül van. Bármennyire hihetetlennek tűnik, ez az arány Nagy Britanniában 10 % alatt van. Ezek után valószínűleg nyilvánvaló a hypertonia epidemiológiai kutatásának kiemelkedő jelentősége.

B. Hypertoniás érelváltozások és célszervkárosodások pathomechanizmusa

A hypertoniás célszervkárosodásokban az egyik közös és valószínűleg a legfontosabb tényező az érelváltozás. Ezen érelváltozások pathomechanizmusának, megelőzésének és terápiás befolyásolhatóságának vizsgálata számos megoldandó kérdést vet fel. További fontos kutatási feladatot jelent olyan tényezők kutatása, amelyek a károsodott szervekben (szív, agy, vese, perifériás erek) közösek, vagy egy adott szervvel kapcsolatosan jellemzőek. Külön fontos kutatási terület lehet a vérnyomáscsökkentő vagy egyéb gyógyszerek szervprotektív hatásának és hatásmódjának a vizsgálata.

C. Gyulladásos megbetegedések szerepe a hypertoniás érelváltozások és az atherosclerosis pathogenesisében

Az utóbbi évek megfigyelései alapján egyre szaporodnak azok az adatok, amelyek az atherosclerotikus érelváltozások gyulladásos eredetét vetik fel. Összefoglaló közlemények és kézikönyvek a szóban forgó összefüggést az atherosclerosis pathogenesisének tárgyalása kapcsán többnyire mint ritka, lehetséges kiváltó tényezőt megemlítik. A közelmúlt kutatásai egyre több olyan kórokozó szerepét vetik fel az összefüggéssel kapcsolatban, amelyek a szervezetben hosszabb ideig élőködnek és közben, többek között az érrendszerben lassan zajló gyulladást tartanak fenn. Az ilyen kis aktivitású, de hosszan tartó gyulladásos folyamat

következményeként atherosclerotikus érelváltozások jöhetnek létre. Ez a téma ennek a klinikailag nagy fontosságú kérdésnek a vizsgálatához nyújt lehetőséget.

D. Pathológiás elváltozások funkcionális genomikai vizsgálata

A program elsősorban a DNS-chip és fehérje-chip technológiák optimalizálásával, fejlesztésével és alkalmazásával foglalkozik. Mind a DNS-chip, mind a fehérje-chip technológia a globális szűrőrendszerekhez tartozik, amelyek átfogó képet adnak egy adott biológiai minta genomi, génaktivitási és fehérjekifejeződési mintázatáról.

A program során különböző pathológiás minták (állatmodellek és klinikai minták) elemzését végezzük, amely során új alapismeretekhez jutunk a pathológiás elváltozások megismeréséhez és amelyek közelebb vihetnek új diagnosztikai és terápiás módszerek kidolgozásához.

A program során a legmodernebb technológiák alkalmazása mellett bioinformatikai elemzéseket végzünk rendszerbiológiai megközelítéssel több szintű, átfogó és interdiszciplináris kutatást végzünk elsősorban humán klinikai minták bevonásával.

A választható kutatási témák részletei

(A) A MAGAS VÉRNYOMÁS EPIDEMIOLÓGIAI VONATKOZÁSAI

(Témavezető: Dr.Gyárfás Iván, az orvostudomány kandidátusa/PhD, tudományos tanácsadó; Közreműködő oktatók/kutatók: Dr.Sonkodi Sándor, Dr.Farsang Csaba, Dr.Jánosi András)

Előzmények

A magas vérnyomás és a magasvérnyomás betegség jelentősége

A szív- és érbetegségek, köztük a hipertónia világszerte népegészségügyi problémát jelent. A szív- és érbetegség a leggyakoribb, megelőzhető betegség, mely felelős a korai halálozás jelentős részéért. A fejlett ipari országokban a vezető halálokat képezi. A fejlődő országokban is a felnőtt lakosság leggyakoribb halál oka. A betegség teher több mint felét Magyarországon a krónikus nem fertőző szív- és érbetegségek okozzák.

A magyarországi halálozás többségét is a szív- és érbetegségek okozzák. Ez a halálozás egyike a legmagasabbaknak ma Európában. Felelős a korai halálozásból és rokkantságból származó társadalmi veszteségért, az élet minőségének romlásáért, mind a betegek, mind a hozzátartozóik körében.

A szív- és érbetegségek az elmúlt évtizedekben a legtömegesebb, az egész lakosság állapotát meghatározó súlyú népbetegséggé váltak. A keringési betegcsoporton belül az ischaemiás szívbetegség, cerebrovascularis betegségek és a magas-vérnyomás egyéb következményeinek halálozása nőtt a legjelentősebben. Hazánkban a szív- és érbetegségek az elmúlt évtizedekben a halálozás több mint feléért váltak felelőssé. Az elmúlt 3 évben az emelkedő trend változni látszik a keringési rendszer betegségeinek mortalitása, mindkét nemből csökkent különösen az agyérbetegségek halálozásának csökkenése miatt.

Az epidemiológia fogalma

Az epidemiológia populációs tudomány. Tárgya a népesség vagy bizonyos populációk egészségi állapotával kapcsolatos jelenségek, folyamatok kutatása. Célja, hogy eredményei felhasználásával beavatkozzon az egészségi állapottal kapcsolatos jelenségek, folyamatok

alakulásába, hatékonyan befolyásolja azokat a népesség egészségi állapotának javítása érdekében. Az epidemiológia tárgya nem szűkül le a fertőző betegségekre. A modern epidemiológia tárgyai mindazok a jelenségek, melyek a betegség előfordulásával, az előfordulást befolyásoló tényezőkkel, az egészség védelmében történő beavatkozások hatásosságának és hatékonyságának mérésével foglalkoznak.

Az epidémia fogalma is kiszélesedett, magába foglalja mindazokat a betegségeket, egészségi állapottal kapcsolatos folyamatokat, amely egy populációt a normális viszonyok között várhatóán nagyobb mértékben veszélyeztetnek, tekintet nélkül arra, hogy fertőző-, vagy nem fertőző betegségekről van szó. Az epidemiológiai vizsgálódások tehát nem szűkülhetnek le a megbetegedéseket kiváltó tényezők szerepére és előfordulási gyakoriságának felmérésére a népességben, hanem figyelembe kell vennie a tényezők igen széles skáláját a betegség kialakulásától a gyógyítási- gyógyulási lehetőségeken át a halálozási veszélyig.

A magas vérnyomás epidemiológiája

A vérnyomás a korrall növekszik. Az iparilag fejlett országokban a diasztolés vérnyomás 50-60 éves korban éri el tetőpontját, ezt követően platót képez, majd 65 év után csökkenést mutat. Ez mind a keresztmetszeti, mind a kohort adatokra érvényes. A szisztolés vérnyomás folytatja a növekedést a kohortban, de platót képez 70 éves korban a keresztmetszeti vizsgálatban, feltehetően magas vérnyomásra fogékonyak elfogyása következtében. A nők szisztolés magas vérnyomása ezt a jelenséget nem mutatja a kohort és keresztmetszeti adatok között, de a diasztolés vérnyomásban plató alakul ki 55 és 65 év között, majd ezt követően csökken a diasztolés nyomás. A nők szisztolés vérnyomása 75 éves korig emelkedik.

A vérnyomás szintje és a cardiovascularis betegségek kialakulásának rizikója folyamatos, ezért a magas vérnyomás definíciója arbitrális. Több magas vérnyomással kapcsolatos betegség következik be azokban a személyekben is, akiket a használatos definíciók szerint normotenzívnek minősítenénk. A magas vérnyomás prevalenciája attól függ, hogy melyik arbitrális határt használják. A 160 Hgmm-es systolés és vagy 95 Hgmm diastolés vérnyomás határok esetén ez a prevalencia 15-20 % körül van a népességben, és a korrall növekszik 140 Hgmm-es szisztolés és vagy 90 Hgmm-es diasztolés határ mellett természetesen ennél magasabb. Direkt összefüggés van a vérnyomás egyszeri mérésének nagysága és a szövődmények kialakulása között. A népességekben elvégzett felmérések azonban hasznos indikátorai a probléma nagyságának. A felmérések alkalmával azokat, akik vérnyomáscsökkenőt szednek, függetlenül a mért vérnyomás értékétől a magas vérnyomású csoportba kell sorolni. A magas-vérnyomás kockázati tényezői közé soroljuk a túlsúlyt, a centrális kövérséget (metabolikus szindrómát), a táplálkozási tényezőket (só, nátrium, kálium), az alkoholt, a fizikai inaktivitást, szívfrekvenciát, bizonyos pszicho-szociális és környezeti tényezőket, családi öröklődés és genetikai faktorok mellett. A vérnyomást befolyásolja a kor, a nem, iskolázottság, etnikai és a társadalmi-gazdasági csoporthoz tartozás. Annak a meghatározása azonban, hogy ki hipertóniás csak többszöri méréssel történhet.

A 70-es évek elejére bizonyítottá vált, hogy a hipertóniások hatékony kezelése jelentős mértékben csökkentette a betegség szövődményeit, különösen az agyvérzéseket. Az akkor végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a hipertóniások fele tud csak magas vérnyomásáról, ezeknek csak afele kezelt, és ezek felének normalizált a vérnyomása, azaz az összes magas vérnyomásban szenvedőnek 12,5%-a. Az amerikai magas vérnyomás nevelési program 20 éves eredményei jelentősen javították a fenti felezési arányokat, azonban ennek ellenére is csak a hipertóniások felének a vérnyomása volt normális, azaz 160/95 Hgmm-nél alacsonyabb. Figyelembe véve, hogy a vérnyomás és a cardiovascularis megbetegedések

kapcsolata folyamatos és progresszív, a szövődmények a klinikailag normálisnak tartott tartományban is jelentős mértékben bekövetkeznek.

A magas vérnyomás megelőzésének és kezelésének vezérelveit számos intézmény rendszeresen kiadja. Magyarországon a Hipertónia Társaság útmutatója érvényes. A WHO/ISH vezérfonal az enyhe fokú hipertóniára koncentrál, mivel ennek kezelése okozza a legtöbb bizonytalanságot. A vezérfonalakat rendszeresen átdolgozzák. Az irányelvek egyúttal a minőségbiztosítást is szolgálják. Epidemiológiai kutatásunk legfőbb célja, hogy átvigyük az egészségügyi ellátás mindennapi gyakorlatába a kutatási eredményeket.

Kutatási feladatok

A **doktoranduszok** kutatómunkát az alábbi két témában végezhetnek:

1) A magas vérnyomás előfordulása hazai népességben

Megfigyelési vizsgálatok a magas vérnyomás prevalenciájának meghatározására (keresztmetszeti vizsgálatok), különös tekintettel a fiatalkorúakra és a hátrányos helyzetűekre. Longitudinális vizsgálatok a magas vérnyomás incidenciájának meghatározására, különös tekintettel a rizikó tényezők jelentőségére. A vizsgálatok a prevenció szempontjából jelentősek, elősegítik a megfelelő súlypontok kialakítását az intervenciós vizsgálatokban. A magas vérnyomás rizikó faktorai ugyan nagymértékben ismertek, de jelentőségük az egyes területeken, csoportokban különböző lehet, mely a megelőzés szempontjából a beavatkozások sorrendjét és módját befolyásolja.

2) A magas vérnyomás ellátása

A hipertónia kezelés és gondozás elveinek az alkalmazása a népesség szintjén minden intenzív törekvés ellenére sem bizonyult sikeresnek. A felezési elv (a hipertóniásoknak csak a fele tud betegségéről, ezeknek csak a fele áll kezelés alatt, és ezek fele tarozik az eredményesen kezelték közé) megállapítása óta, jelentős javulás még nem következett be. Ennek a kutatásnak a célja, hogy egyszerű módszerekkel felmérje a hipertónia ellátás szintjét a különböző populációkban. Az Egészségügyi Világszervezet Kardiológiai Programjának módszertana ajánlható, mely a populációs megközelítés mellett alkalmazza még a betegek vizsgálatát, az orvosi megkérdezést, a gyógyszer felhasználást és a fogyasztók vizsgálatát.

A populációs megközelítés: epidemiológiai felmérés a populáció egy véletlenszerűen kiválasztott mintáján annak megállapítására, hogy meghatározzuk, hogy a populáció milyenhányada tud arról, hogy magas vérnyomása van, milyen arányú a kezelték és jól kezelték aránya.

A hipertóniás betegek vizsgálata: retrospektív értékelés a rendelkezésre álló orvosi dokumentumok alapján a gondozás minőségéről.

A fogyasztók vizsgálata: a betegek – mivel ők az egészségügy fogyasztói – elégedettségének, hangulatának, a tanácsok betartásának és a gondozással kapcsolatos panaszok felmérése.

Orvosi felmérés: a hipertónia-gondozásban résztvevő orvosok ismeretét és magatartását vizsgálja kérdőíves módszerrel.

A gyógyszerfelhasználás vizsgálata: a vérnyomás csökkentő gyógyszerek felhasználása a hipertónia prevalencia tükrében. Vizsgálja a gyógyszer felhasználás mennyiségi mutatóin kívül a struktúráját is.

Ez az öt lépésből álló megközelítés számos indikátorát biztosítja a hipertónia ellátásnak és gondozásnak.

Irodalom

- Whelton PK: Epidemiology of hypertension. Lancet 344, 101-106, 1994.
- Burt S et al.: Prevention and treatment of hypertension in the adult US population: results from 1988-91. National Health and Nutrition Examination survey Hypertension 25, 305-313, 1995.
- Gorelick PB et al.: Prevention of a first stroke. A review of guidelines and a multidisciplinary consensus statement from the National Stroke Association. JAMA 281, 1112-1120, 1999.
- D'Agostino RB et al.: The Framingham study. Stroke risk profile adjustment for antihypertensive medicine. Stroke 25, 40-43, 1994.
- Collins R et al.: Blood pressure stroke and coronary heart disease part 2. Short term reduction in blood pressure, overview of randomised drug trials in their epidemiological context. Lancet 335, 827-838, 1990.
- Whelton PK et al.: Epidemiology and prevention of blood pressure-related renal disease J. Hypertension 10 (Suppl 7), S77-S84, 1992.
- Zdrojewski T et al.: Have, rapid socioeconomic changes influenced awareness of blood pressure in Poland?, J Hum Hypertension 15, 247-253, 2001.

(B) HYPERTONIÁS ÉRELVÁLTOZÁSOK ÉS CÉLSZERV KÁROSODÁSOK PATHOMECHANIZMUSA

Témavezető: Dr.Sonkodi Sándor, az orvostudomány doktora; egyetemi tanár
Közreműködő oktatók, kutatók: Dr.Ábrahám György, Dr.Gecse Árpád, Dr.Iványi Béla,
Dr.Kemény Éva, Dr.Morvay Zita, Dr.Nagy Endre, Dr.Túri Sándor

A doktori kutatási téma azzal a betegséggel foglalkozik, amely Magyarországon minden hatodik-hetedik felnőtt lakost érint és szövődményeivel együtt (ischaemias szívbetegség, cardialis decompensatio, cerebralis vascularis crisisek, nephrosclerosis) a leggyakoribb halálok.

A hypertonia elsődlegesen az érrendszert károsítja és ez a célszervkárosodások egyik legfontosabb kiváltó tényezője. A hypertoniás érelváltozások pathomechanizmusában sok kérdés tisztázatlan, amelyek a doktoranduszok számára is fontos kutatási feladatokat kínálnak az alábbiak szerint.

Kutatási feladatok

1) Renovascularis hypertensio diagnosztikus és prediktív tényezőinek vizsgálata a kezelhetőség szempontjából

A renovascularis hypertensio csak 1-2 %-a az összes hypertenziós esetnek. Ha figyelembe vesszük, hogy a másodlagos hypertensio összesen 5-7 %, akkor ez a renovascularis hypertensio arány jelentős. Az összegyűlt tapasztalatok szerint a gyógyszeres kezelés csak átmenetileg jelent megoldást a terápiában, hosszú távon a szűkült vesearteria tágítása vagy műtéti kezelése lényegesen kedvezőbb eredménnyel jár.

Nem tisztázott, hogy a különböző kiváltó okok mellett (fibromuscularis hyperplasia, arterioscleroticus szűkület, stb.) milyen fokú (enyhébbtől a teljes elzáródásig), milyen elhelyezkedésű arteria renalis szűkület (paraaortalis, a beszájadástól távolabbi, intrarenalis, egy-, ill. kétoldali) mellett milyen egyéb diagnosztikus lehetőségek (arteria renalis resistív index, separált renin vizsgálat, separált izotóp renalis clearance, stb.) alkalmasak a szűrésre, a diagnózis felállítására és a legkedvezőbb terápiás beavatkozás előrejelzésére.

Bizonyos kérdések megválaszolásához (például: arteria renalis elzáródás kezelési módja, ACE-gátlók használatának korlátai, stb.) állatkísérletes vizsgálatok eredményeit

tervezzük igénybe venni. Ezek a vizsgálatok azért is fontosak, mert a renovascularis hypertensio az egyik legjobban kezelhető másodlagos hypertensio-féleség.

2.) A splanchnicus keringés vizsgálata hypertensióban

A perifériás resistencia fontos haemodinamikai tényező a hypertensio kialakulásában. Régóta ismert, hogy a perifériás resistenciáért jelentős részben a mesenterialis keringés felelős.

Először észleltük patkányban (Sonkodi és mtsai, 1971), hogy a portalis véna szűkítésével létrehozott hypertensio csökkenti a systemás vérnyomást Goldblatt hypertensiók állatban. Később a portalis véna szűkítés vérnyomáscsökkentő hatását renopriv hypertensióban is kimutattuk. Ugyanebben a kísérletes modellben az is kimutatható volt, hogy csökkent a noradrenalin és angiotensin II-vel kiváltott vérnyomásválasz. Hasonló megfigyelésre jutottak más kísérletes modellekben, más laboratóriumokban. Vizsgálni szeretnénk továbbá, hogy milyen mechanizmusok vesznek részt az említett jelenségben.

3.) A cardiovascularis hypertrophia kialakulásában résztvevő tényezők vizsgálata

A Framingham vizsgálatban mutattak rá arra, hogy a szív bal kamra hypertrophia (BKH) önálló cardiovascularis rizikótényező. Az elmúlt évek vizsgálataiból kiderült, hogy a vérnyomáscsökkentők eltérően befolyásolják a BKH-t. Az ACE-gátlók a legkifejezettebben, más vérnyomáscsökkentők kisebb mértékben csökkentik a szív bal kamra tömegét. Mások mellett mi is kimutattuk humán vizsgálatok kapcsán, hogy a jó vérnyomáscsökkentő minoxidil nem csökkenti, hanem növeli a BKH-t. Először sikerült kimutatnunk, hogy ha a minoxidilt az ACE-gátló cilazaprillal kombináljuk, a minoxidil BKH-t növelő hatását ki lehet védeni.

Számos felmerülő kérdés mellett mind emberben, mind kísérleti állatban vizsgálataink annak tisztázására irányulnak, hogy a szívizom hypertrophia hogyan viszonyul az érfal hypertrophia kialakulásához, illetve hogy a vérnyomáscsökkentő szerek vascularis hypertrophiát befolyásoló hatása egyirányú-e a szívizom hypertrophiát befolyásoló hatással.

4.) Hypertensio és a proteinuria (microalbuminuria, enzyuria) összefüggése glomeruláris vesebetegségekben

Amellett, hogy a proteinuria valószínűleg a leggyakoribb biokémiai jele a vesebetegségeknek, prediktív illetve prognosztikai jelentőségére az utóbbi évek vizsgálatai kezdenek fényt deríteni. A proteinuria oka a glomeruláris capilláris érrendszer károsodása, permeabilitás fokozódása. A proteinuria és microalbuminuria cardiovascularis betegségekkel kapcsolatos prognosztikai szerepére a Framingham vizsgálat kapcsán hívták fel a figyelmet. További vizsgálatok mutatták ki, hogy a legtöbb vesebetegségben a proteinuria fontos prognosztikus marker mind a therápiás befolyásolhatóság, mind a betegség kimenetele szempontjából. A proteinuria olyan finomabb tényezőinek vizsgálata, mint a microalbuminuria és az enzyuria, valamint e tényezők összefüggése a vérnyomással tág teret nyújt mind essentialis-, mind másodlagos hypertensióban, elsősorban renalis hypertensiók esetekben a célszervkárosodások és azok esetleges predictív tényezőinek vizsgálatához.

A glomeruláris basalis membran epithel struktúra fontos szerepet játszik a proteinürítésben. Több növekedési tényező (angiotensin II, IGF, TGF β), amelyek a hypertensio pathogenetikai folyamataiban is részt vesznek, az epithel funkciót is

befolyásolják. Ezen összefüggések a hypertensio különböző formában nem, vagy alig ismertek, ezért tanulmányozásukat tervezzük.

A **doktoranduszok** elsősorban az alábbi altémák kidolgozásában vehetnek részt:

1. A mesenterialis érrendszer funkcionális és morfológiai változásai akut és krónikusan adagolt vasoactív szerek hatására kísérletes hypertóniás állapotokban.
2. Pressor válasz és mesenterialis vérátfolyás vizsgálatok vasoactív szerek (angiotensin II, noradrenalin) hatására kísérletes diabeteses állatmodellekben. Vérnyomáscsökkentő előkezelés hatása.
3. Cardiovascularis hypertrophiás érelváltozások genetikai tényezőinek vizsgálata DNS-chip módszer alkalmazásával (a "D" jelzésű témával kombinált feladat).

Irodalom

- Cardiovascular remodeling and its correction: a comprehensive strategy. Eds: Bühler FR, Lasagh J H, Holzgreve H, Proceedings of a symposium. Am. J. Med. 94, 51S-71S, 1993.
- Clozel J P et al: Decreases of vascular hypertrophy in four different types of arteries in spontaneously hypertensive rats. Am. J Med. 87, (Suppl 68), 92S-95S, 1989.
- Dahlof B et al: Reversal of cardiovascular structural changes when treating essential hypertension. The importance of the renin-angiotensin-aldosterone system. AJH 5, 900-911, 1992.
- Denveroux RB et al: Left ventricular mass as a measure of preclinical hypertensive disease AJH 5, 175S-1815S, 1992.
- Jung. K.: urinary enzymes and low molecular weight proteins as markers of tubular dysfunction. Kidney Int. 46, Suppl. 47, S-27-S-33, 1994.
- Kannel WB et al: The prognostic significance of proteinuria. The Framingham study Am Heart J 108, 1347-1352, 1984.
- Kannel WB: Some lessons in cardiovascular epidemiology from Framingham Am J Cardiol 37, 269-282, 1976.
- Lever A F: Slow pressor mechanisms in hypertension: a role for hypertrophy of resistance vessels? J of Hypertension 4, 515-524, 1986.
- Pedrinelli R: Microalbuminuria in essential hypertension. A marker of systemic vascular damage? Nephrol Dial Transplant 12, 379-381, 1997.
- Pogátsa Murray et al: Changes in left ventricular mass during treatment with minoxidil and cilazapril in hypertensive patients with left ventricular hypertrophy J of Hum Hypertension 1997. Nyomdában
- Rózsa Zs., Sonkodi S.: The effect of long-term oral captopril treatment on mesenteric blood flow in spontaneously hypertensive rats. Pharmacol Res 32, 21-25, 1995.
- Sonkodi S. et al: Effects of portal construction of portal vein on renal hypertension in the rat Angiologica 8, 77-82, 1971.
- Veglio F et al: Assessment of renal resistance index after captopril test by Doppler in essential and renovascular hypertension Kidney Int 48, 1611-1616, 1995.
- Wilcox CS and Weich WJ: Thromboxane mediation of the pressor response to infused angiotensin II. Am J Hypertension 3, 242-249, 1990.

(C) GYULLADÁSOS MEGBETEGEDÉSEK SZEREPE A HYPERTÓNIÁS ÉRELVÁLTOZÁSOK ÉS AZ ATHEROSCLEROSIS PATHOGENEZISÉBEN

Témavezető: Dr.Morvay Zita PhD, egyetemi docens;

Közreműködő oktatók/kutatók: Dr.Nagy Endre, Dr.Palkó András, Dr.Iványi Béla, Dr.Ábrahám György és Dr.Sonkodi Sándor)

A kutatás koncepciója, témakörei és célkitűzései

1) A gyulladásos megbetegedések szerepe az arteriosclerosis pathogenezisében

A krónikus vesebetegség miatt dialízis kezelésben részesülő betegek leggyakoribb halál oka a kardio-vaszkuláris megbetegedés. Az utóbbi időben egyre több adat utal arra, hogy az érlemezés kialakulásában gyulladásos megbetegedéseknek is fontos szerepe van.

A C-reaktív protein (CRP) a gyulladásos megbetegedés indikátora. A citokininek, (pl. interleukin (IL)-1 és IL-6 valamint a tumor necrosis factor (TNF) is előre jelezhetik a dializált populáció mortalitását. Megfigyelések arra is utalnak, hogy a kardio-vaszkuláris megbetegedés magas antitest titerrel jár együtt pl. Chlamidia pneumoniae, Helicobacter pylori vagy citomegalia vírus vonatkozásában.

Az arteriosclerosis mértékének meghatározására ma már elfogadott módszer az a. carotis communis ultrahang vizsgálata, melynek során a nagyfelbontású készülékekkel és vizsgálófejekkel meghatározható az intima-media távolság (IMT) és a plakkok száma és jellege.

Úgy gondoljuk, vizsgálatainkkal fontos adatokhoz juthatunk a hypertóniával és/vagy atherosclerosisos járó megbetegedések kórereditének tisztázásában.

A kutatási tervünkben azt tűztük ki célul, hogy a dializált betegek adatait elemezzük a gyulladásos jelek és az arteriosclerosis mértékének összehasonlításával.

2) A vesetranszplantáció szövődményeinek non-invazív felderítése

Ma a vesetranszplantáció a végstádiumú vesebetegségben szenvedők kezelésének olyan lehetősége, mely hosszútávú túlélést és az egészségesekkel csaknem azonos életminőséget biztosít. A tartós haemodialysis kezeléshez viszonyítva bizonyíthatóan olcsóbb is ez az eljárás.

A sikeres veseátültetés után az esetek egy részében különböző szövődmények fellépésével kell számolni. A graft körül megjelenő kóros folyadékgyülemek, az ér eredetű szövődmények, a vizeletelvezetés zavara, a fertőzés, a kilökődés, az alapbetegség kiújulása a beültetett vesében, rosszindulatú daganatok keletkezése, gyógyszer-túlérzékenység egyaránt előfordulhat. A klinikai kép az esetek jelentős részében nem jellegzetes, valamennyi kórképben hasonló lehet, a vese működése csökken és gyakran fordul elő hypertónia.

A kiváltó ok felderítésének egyik alapvető módszere a képalkotó eljárásokkal történő vizsgálat. Az egyik legkönnyebben hozzáférhető eljárás az ultrahangvizsgálat, mely - különösen, ha color Doppler áramlási vizsgálatokra is lehetőség van - számos esetben tisztázhatja a kórereditet és a megfelelő kezelés bevezethető. Az esetek egy jelentős hányadában azonban a pontos diagnózis csak szövettani vizsgálattal állapítható meg, melynek során speciális biopsziás tűvel vett szövethenger analízise történik. Ez a módszer nagyon pontos, de invazív eljárás, melynek következményei ismertek: vérömleny kialakulása, a graft megrepedésének veszélye, álaneurysma, arterio-venosus fistula kialakulása. A mintavétel az eddig alkalmazott protokollunk szerint két féle módon történhet, 16G-s tűvel 2 szúrásból, illetve vékonyabb, 18G-s tűvel 3 szúrásból.

Az újonnan rendelkezésünkre álló non-invazív képalkotó eljárás, a mágneses rezonanciás (MR) vizsgálat kitűnő módszernek látszik a transzplantált vese vizsgálatára. Az 1.0 tesla-s, korszerű szoftverekkel felszerelt készülék alkalmas a graft ábrázolására, de a vizeletelvezető rendszer és az érrendszer izolált megjelenítésére is. Ma még viszonylag kevés adat áll rendelkezésünkre arra vonatkozóan, hogy mennyiben válthatja ki ez a módszer az invazív vesebiopsziákat.

Kutatási tervünkben tehát célul tűzzük ki:

1. Megvizsgáljuk a csökkent vesefunkció miatt kivizsgálásra kerülő transzplantált betegeket és a kapott morfológiai képet minden esetben összevetjük a biopsziás anyag feldolgozása során kapott szövettani eredménnyel.
2. Megállapítjuk a biopszia okozta szövethárosodás mértékét a két különböző módon végzett mintavétel során.
3. Megállapítjuk a keletkező vérömleny nagyságát.
4. Vizsgáljuk a vizeletgyűjtő rendszerben létrejövő változásokat.
5. Elemezzük a graft érrendszerében bekövetkező változásokat.
6. *Ultrahangkontrasztanyag vizsgálatok renovascularis hypertonia miatt kezelt betegek nyomkövetésében*

A hypertonia Magyarországon népbetegség. Goldblatt experimentális kísérlete óta tudjuk, hogy az arteria renalis szignifikáns mértékű szűkülete hypertoniát idéz elő. A folyamat viszonylag hosszú ideig reverzibilis, a szűkület megszüntetése után a vérnyomás érték normalizálódik. Az összes magasvérnyomás 1-5%-a vezethető vissza az arteria renalisra kialakult jelentős mértékű szűkületre.

Ma már több képalkotó eljárás is rendelkezésünkre áll, hogy a renovascularis hypertoniát diagnosztizáljuk. A legegyszerűbb, szűrő jellegű képalkotó módszer a color Doppler ultrahangvizsgálat, melynek során a szűkület indirekt jeleit állapíthatjuk meg a szegmentális artériákból nyert áramlási görbék elemzésével. Az elhúzó szisztolés emelkedés, a korai szisztolés csúcs hiánya, a két oldal közötti rezisztencia index (RI) különbség a legfontosabb diagnosztikus jelek. Az a. renalis főtrözsét ultrahanggal csak ritkán tudjuk ábrázolni. Egyértelműen kóros indirekt ultrahangos jelek esetén angiográfiát kell végezni, mely nemcsak igazolja az a. renalis szűkületét, de lehetővé teszi annak megszüntetését is ballonkatéteres tágítással vagy stent beültetéssel. Kétes esetekben computertomográfias angiográfia (CTA) vagy mágneses rezonanciás angiográfia (MRA) döntheti el, hogy van-e szignifikáns mértékű szűkület.

A tágítás eredményeként létrejövő haemodinamikai változások és az esetleges visszaszűkülés időben történő felismerésére a betegek folyamatos nyomkövetése szükséges. Az ultrahang-kontrasztanyagok alkalmazása részben a vese vérátáramlásának vizsgálatában, részben magának az a. renalis főtrözsnek az ábrázolásában ígéretes módszernek látszó.

Ebben a kutatási tervben a renovascularis hypertonia miatt kezelt betegek nyomkövetése során az ultrahangkontrasztanyag vizsgálatokkal a vese vérátáramlására és az arteria renalis főtrözs ábrázolhatóságára vonatkozó adatokat kívánjuk elemezni.

4) Haemodinamikai változások a vese keringésének intervenciós radiológiai módszerrel történő helyreállítása után

Goldblatt klasszikus kísérlete óta tudjuk, hogy egyik, vagy mindkét arteria renalis szignifikáns szűkülete vagy elzáródása a renin-angiotensin rendszer aktiválásával a szisztémás vérnyomás emelkedéséhez vezet. A szervezet ezzel a mechanizmussal igyekszik kompenzálni az érszűkület következtében lecsökkent intrarenalis filtrációs nyomást. Ha ez a mechanizmus valamilyen oknál fogva nem indul be vagy mesterségesen, gyógyszeres kezeléssel kikapcsoljuk a vese működése fokozatosan beszűkül. Amikor a csökkent vesefunkció egy kritikus érték alá esik, a vese méregtelenítési funkciója elégtelenné válik, a beteg művesekezelésre szorul. Tekintettel arra, hogy a saját vese vérellátását nem csak az arteria renalisra (okon) keresztül kapja, hanem a vese tokot ellátó érágak is részt vesznek

vérellátásában, a vese parenchyma akkor sem „hal el”, ha az arteria renalis főtrzs teljesen elzáródik. Ilyenkor a vese fokozatosan zsugorodik és csak bizonyos idő elteltével károsodik irreverzibilisen. Így akár hetek-hónapok múlva is visszatérhet a veseműködés. Ezt az elméletet néhány beteg esetében már sikeres beavatkozásokkal is alátámasztották.

A beszűkült arteria renalis lumenének helyreállítására alapvetően a nagy invazívítású sebészi angioplasztika vagy a kevésbé invazív radiológiai intervenciós módszerek alkalmazhatók. Az arteria renalis főtrzset érintő szűkületek esetében a mai felfogás szerint először a kisebb invazívítású intervenciós radiológiai módszereket célszerű alkalmazni. Ha a szűkület több mint 5 mm-re van az aorta belső kontúrjától, azaz paraostialis helyzetű, többnyire elegendő a megfelelő ballonkatéterrel történő tágítás. Ha a szűkület az arteria renalis szájadékát is érinti, mindenképpen stenttel történő kezelése javasolt. Javasolt továbbá a stentbeültetés irreguláris belfelületű szűkület, felperdülő intima plakk, többszörös restenosis vagy reocclusió, illetve elasztikus recoil estén is. A beavatkozás eredményességét, a létrejövő haemodinamikai változásokat részben laboratóriumi vizsgálatokkal, részben ultrahangvizsgálattal, szükség esetén ultrahang kontrasztanyag vizsgálatokkal követhetjük nyomon.

Ebben a programban tehát azt tűztük ki célul, hogy:

1. Azoknál a fél évnél nem régebben haemodialysisre került betegeknél, akiknél bizonyítható a szignifikáns arteria renalis szűkület vagy elzáródás, és nem szenvednek a glomeruláris és tubuláris rendszer ismert irreverzibilis károsodásában, elvégezzük az ér stentelését.
2. A betegek vesefunkcióját részletes laboratóriumi vizsgálatokkal elemezzük.
3. Ultrahangvizsgálatokkal regisztráljuk a létrejövő haemodinamikai változásokat és ezeket az adatokat rendszeresen 6 hetenként nyomonkövetjük.

A **doktoranduszok** elsősorban az alábbi altémák kidolgozásában vehetnek részt.

- (a) Kimutatható-e összefüggés a haemodializált betegek arteriosclerozisa és a gyulladással megbetegedése között?
- (b) Transzplantált vese működészavara esetén milyen információk nyerhetők a nonivazív vizsgálati módszerekkel (ultrahang, Doppler, MR, MR urográfia) a szövettani vizsgálatokkal összevetve?
- (c) Milyen haemodinamikai változások regisztrálhatók a vese erek radiológiai intervencióval történő rekonstrukciója után?
- (d) Hogyan befolyásolják az ultrahangkontrasztanyagok a vese keringés vizsgálatának eredményeit?

Irodalom

- 1) Normann M. Kaplan: Clinical hypertension, Six edition
- 2) Williams and Wilkins, 1994
- 3) Donald W., Seldin and Gerhard Giebish
- 4) The Kidney, Physiology and Pathophysiology. Raven press, New York 1992
- 5) Daffner: Clinical Radiology
- 6) Williams and Wilkins, 1999
- 7) Wolf, K.J, Fobbe F.: Color Duplex Sonography
- 8) Georg Thieme, Stuttgart, 1995
- 9) Goldberg, B.B., Patterson, H.: Ultrasonography
- 10) Nicer Institute, Isis Medical Media, Oslo, 1996
- 11) Kívánatos továbbá a Radiology, CVIR, J. of Ultrasound in Biology and Medicine, J. of Hypertension, Kidney International folyóiratokban megjelent publikációk folyamatos követése.

(D) PATHOLÓGIÁS ELVÁLTOZÁSOK FUNKCIONÁLIS GENOMIKAI VIZSGÁLATA

Témavezető: Dr. Puskás László DSc, laboratóriumvezető, tudományos tanácsadó, MTA SZBK Funkcionális Genomika Laboratórium, Szeged, Tel: 62/599-782, 30-676-5384, e-mail: puskas.szbk@gmail.com, http://www.brc.hu/core_functional_genomics.php

Koncepció

A magas vérnyomás, atheroszklerózis, cukorbetegség és sok veserendellenesség kialakulása multifaktoriális megbetegedés, melyek kialakulását mind környezeti, mind genetikai paraméterek befolyásolják. A felnőtt lakosság több, mint 15%-át érinti a magas vérnyomás, mely az egyik legkiemeltebb kockázati tényezője a kardiovaszkuláris megbetegedéseknek és veseelégtelenségnek.

A felismert különbségek, amelyek az elváltozások kórszövettani elkülönítéséhez és az ismert entitások leírásához elvezettek, a sejtek génkészletének eltérő mértékű átírásában keresendők. A cDNS microarray hibridizáció lehetővé teszi azoknak a géntranszkripciós mintázatoknak az összehasonlító vizsgálatát, melyek a betegségek kialakulásában szerepet játszhatnak.

Az idiopátiás extraszkeletális kalcifikációk gyakori orvosi problémákat okoznak. A leggyakoribb (lakosság 7 %-ánál) epe- illetve vesekőképződés mellett életet veszélyeztető kalcifikációk is előfordulhatnak hemodialízis után, szklerodermában és szklerotikus plakkokban az aortában, az a. carotisban és egyéb erekben. A kalciumlerakódás oka tisztázatlan, de a kicsapódáshoz általában elengedhetetlen úgynevezett „oltókristályok” kialakulása. Ennek egyik feltételezhető kiindulási oka lehet a szérumban fellelhető nanobaktériumok megtelepedése és kalcifikálódása.

A kutatási téma a DNS-chipek alkalmazásaival foglalkozik. Ez az új módszer Magyarországon először a Szegedi Biológiai Központban vált elérhetővé, amely forradalmasítja a molekuláris biológiai kutatásokat és széleskörű génkifejeződés vizsgálatokhoz nyújt segítséget. A téma a DNS-chipeket elsősorban hipertóniás érrendszeri, szervi és egyéb szöveti pathológiás elváltozások és gyógyszer-hatásmechanizmusok feltárásában kívánjuk alkalmazni.

Kutatási feladatok:

A **doktoranduszok** kutatómunkát az alábbi témakörökben végezhetnek:

1) DNS-chip technológiai alkalmazása különböző patológiás elváltozások molekuláris biológiai hátterének jellemzésére

A DNS-chipen nagy sűrűségben szilárd hordozóhoz kötött génspecifikus próbák találhatók, melyek a DNS hibridizációs tulajdonságait kihasználva, adott állapotra jellemző mRNS-ek jelenlétét képesek kvantitatív módon meghatározni. Így a fiziológiailag eltérő állapotokért (pl. pathológiás elváltozás esetén) felelős gének kifejeződéseinek megváltozása követhető, új génfunkciók, szabályozó elemek fedezhetők fel.

A kutatás során egér és patkány géneket tartalmazó DNS-chipeket készítünk, melyeken ismert és ismeretlen szekvenciájú génpróbák találhatók.

Állatokból a pathológiás szövet eltávolítása után, annak génkifejeződés-térképét határozzuk meg, majd egészséges kontroll szövetekkel összevetjük.

Módszerek: nagysűrűségű DNS-minta nyomtatás robot segítségével, RNS-izolálás, fluoreszcens jelölés, hibridizált DNS-chip leolvasása konfokális lézerszkennel segítségével, software-es adatfeldolgozás, statisztikai elemzés.

2) DNS-chipek alkalmazása különböző gyógyszerek által kiváltott génexpressziós változások jellemzésére

A DNS-chipen történő egyetlen hibridizációval információt kaphatunk többek között mikroorganizmusok vagy szövetek adott állapotára jellemző több ezer gén kifejeződéseiről. A transzkripciós kép ismeretében lehetővé válik új biokémiai utak felderítése, gyógyszerek hatásmechanizmusainak nyomon követése. Különböző génamplifikációs technikákkal kombinálva a chip módszer alkalmas kórokozók azonosítására, fiziológiai jellegzetességeinek (pl. kemoterápiákkal szembeni rezisztencia) gyors és érzékeny osztályozására is.

A kórokozók, illetve a beteg szövetek transzkripciós térképe összevethető a különböző gyógyszerekkel kezeltével, akár a kezelés után különböző időpontokban is, így molekuláris farmakokinetikai vizsgálatokra is használható. A kezelt, illetve a kezeletlen sejtek, vagy szövetek génkifejezőkülönbségei információt nyújtanak a gyógyszerek által befolyásolt enzimatis utak szabályozásáról. A kutatás során egér, patkány és emberi géneket tartalmazó DNS-chipeket készítünk, ezekben ismert és ismeretlen szekvenciájú génpróbák találhatóak, melyek különböző szövetekben fejeződnek ki. (szív, vese, ér, agy, limfocita).

A humán chipet patogén baktériumokkal, gyógyszerekkel kezelt szövet-, illetve sejtenyészeten teszteljük, valamint különböző gyógyszeres kezelés alatt álló betegekből nyert mintákat vizsgálunk.

3) Nanobaktériumok pathogenetikai szerepe az érrendszeri elváltozásokban

A nanobaktériumok citotoxikus, Gram-negatív, atipikus, kis méretű (50-500 nm) mikroorganizmusok, melyeket néhány éve fedeztek fel finn kutatók állati és humán szérumban és demineralizált vesekövekben. Növekedésük nagyon lassú, sejtfalukon karbonát apatitot választanak ki maguk köré semleges pH-n és fiziológiai foszfát és kalcium koncentráció mellett. Vesekövekből, speciális technikával sikerült kitenyésztetniük ezeket a baktériumokat és feltételezhetően azok a veseképződés kiváltói. Ugyancsak kimutatták, hogy az emlős sejtekkel sejtkultúrában képesek kölcsönhatásba kerülni és azokra sejtlítikus hatásúak. Mivel méretük sokkal kisebb, mint a hagyományos baktériumoké (azok ötödtizede), ezért sterilizálás során átjutnak a szűrletbe. Képesek ellenállni a más sejteket már sterilizáló gamma-sugár dózisonak (1 Mrad), magas hőmérsékletnek (90 Celsius fok) és a legtöbb antibiotikumnak is. Ezen okokból a forgalomban és használatban lévő humán szérumok nagy része nanobaktérium pozitív lehet. Ezért rendkívül fontos feltárni ezeknek a baktériumoknak az esetleges fertőzési és betegségeket kialakító képességét és megállapítani azt, hogy a véradókat szükséges-e nanobaktériumszűrésre javasolni.

A kutatás célja a nanobaktériumok esetleges szerepének felderítése elsősorban az atheroszklerózis, az érlemezés kialakulásában hagyományos mikrobiológiai módszerekkel és a humán vaszkuláris szövetekre és endothelsejtekre gyakorolt hatásuk tisztázása DNS-chip technológia segítségével.

Irodalom

- 1) TAKAHASHI N *et al.*: Gene targeting approaches to analyzing hypertension J. Am. Soc. Nephrol 10, 1598-1605, 1999.

- 2) SMITHIES O, MAEDA N: Gene targeting approaches to complex genetic disease: Atherosclerosis and essential hypertension *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 5266-5272, 1995.
- 3) ITO M et al.: Regulation of blood pressure by the Type 1A angiotensin receptor gene *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 3521-3525, 1995.
- 4) ABRAMOWITZ, S. Towards inexpensive DNA diagnostic. *Trends Biotech.*, **14**, 397-401, 1996.
- 5) CRONIN, M. T. *et al.* Cystic fibrosis mutation detection by hybridization to light-generated DNA probe arrays. *Hum. Mut.* **7**, 244-255, 1996.
- 6) RAMASAY, G. *et al* DNA chips: State of the art. *Nature Biotech.*, **16**, 40-44, 1998.
- 7) HOHEISEL, J. D. Oligomer chip technology. *Trends Biotechnol.* **15**, 465-469, 1997.
- 8) MARSHALL, A. AND HODGSON J. DNA chips: an array of possibilities. *Nature Biotech.*, **16**, 27-31, 1998.
- 9) WODICKA L., *et al.* Genome-wide expression monitoring in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature Biotech.* **15**, 121-131, 1997.
- 10) SHIOI A, MORI K, JONO S, WAKIKAWA T, HIURA Y, KOYAMA H, OKUNO Y, NISHIZAWA Y, MORII H: Mechanism of atherosclerotic calcification. *Z Kardiol*, 89 Suppl 2:75-79, 2000
- 11) SHANAHAN CM, PROUDFOOT D, TYSON KL, CARY NR, EDMONDS M, WEISSBERG PL: Expression of mineralisation-regulating proteins in association with human vascular calcification. *Z Kardiol*, 89 Suppl 2:63-68, 2000
- 12) JEZIORSKA M, MCCOLLUM C, WOOLLEY DE: Calcification in atherosclerotic plaque of human carotid arteries: associations with mast cells and macrophages. *J Pathol* 185:10-17, 1998
- 13) HSU HH, TAWFIK O, SUN F: Effects of lectins on calcification by vesicles isolated from aortas of cholesterol-fed rabbits. *Biochem Biophys Acta* 1464:262-272, 2000
- 14) KAJANDER EO, CIFTCIOGLU N: Nanobacteria: an alternative mechanism for pathogenic intra- and extracellular calcification and stone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:8274-8279, 1998
- 15) KAJANDER EO, KURONEN I, AKERMAN K, PELTTARI A, CIFTCIOGLU N: Nanobacteria from blood, the smallest culturable autonomously replicating agent on Earth. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 3111:420-428, 1997
- 16) CIFTCIOGLU N, BJORKLUND M, KUORIKOSKI K, BERGSTROM K, KAJANDER EO: Nanobacteria: an infections cause for kidney stone formation. *Kidney Int* 56:1893-1898, 1999
- 17) CIFTCIOGLU N, CIFTCIOGLU V, VALI H, TURCOTT E, KAJANDER EO: Sedimentary rocks in our mouth: Dental pulp stones made by Nanobacteria. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 3441:130-136, 1998
- 18) HJELLE JT, MILLER-HJELLE MA, POXTON IR, KAJANDER EO, CIFTCIOGLU N, JONES ML, CAUGHEY RC, BROWN R, MILLIKIN PD, DARRAS FS: Endotoxin and nanobacteria in polycystic kidney. *Kidney Int* 57:2360-2374, 2000
- 19) KAJANDER EO, CIFTCIOGLU N, MILLER-HJELLE MA, HJELLE JT: Nanobacteria: controversial pathogens in nephrolithiasis and polycystic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 10:In press, 2001
- 20) PUSKÁS L. G., L. TISZLAVICZ, L.L. TORDAY AND J.GY. PAPP: Nanobacteria in atherosclerotic plaques. *Kidney Int* (submitted) 2001.

Külön ajánlott olvasmányok

Automation Genomic and Functional Analyses. Alister G. Craig and Jörg D. Hoheisel (szerk.)
Methods in Microbiology Academic Press, 1999
 Microarray Biochip Technology. Mark Schena. *BioTechniques Books Eaton Publishing, 2000*

(E) TUMOROK PROGNOSZTIKAI PATOLÓGIÁJA

Témavezető: Dr. Cserni Gábor osztályvezető főorvos, az MTA doktora, (Bács-Kiskun Megyei Önkormányzat Kórháza, Patológiai Osztály)

(F) IDEG- ÉS IZOMSÉRÜLÉSEK KORSZERŰ SEBÉSZI KEZELÉSE

Témavezető: Dr. Pintér Sándor egyetemi docens, SZTE AOK Traumatológiai Klinika, Tel.: 62/ 544-000/1489, email: pinter.sandor@med.u-szeged.hu

Időskori, kisenergiájú combnyaktörés funkcionális kezelése intracapsularis ún. lassuló folyadékkal

Az időskori combnyaktörés rendszerint banalis traumára létrejövő intracapsularis sérülés. Az osteoporosis hajlamosító tényező. Gyakorisága USA-ban: 350000/ év; 2050- ben várhatóan 650000/ év lesz. Önmagában a törés (sérülés) az életet nem veszélyezteti. Nem jár vérvesztéssel rendszerint monotrauma.

Tünetei: fájdalom, mozgáskorlátozottság. A csípőmozgások elvesztése valójában a fájdalom miatt van. A következmények: A megmaradt aktivitás, mobilitás elvesztése az egyéb betegségek vagy arra való hajlam felerősödése. Tüdőgyulladás, infekció, felfekvés, thrombosis. A műtét és az anesztezia szövődménye. A sérült kényszerű környezetváltozása. A sérülés következményei miatt a sérültek 15- 40 %-a a sérülést követő egy éven belül meghal.

Sebészi ellátás:(jelenlegi protokoll)

Fejmegtartó műtét (csavarozás), vagy protetizálás a postoperatív időszakban kooperációt igényel, rehabilitációs eljárás a sérült megfelelő aktivitását feltételezi.

Fejeltávolítás lemondásos műtét; a műtői körülmények közel azonosak a rekonstrukciós műtétekhez így a megterhelés is közel azonos.

Az új eljárás célkitűzése:

Minimal invazív eljárással intracapsularis térkitöltés a törvégek mozgása és a tok feszüléséből eredő fájdalom kiküszöbölésére.

A cél nem az anatómia és biomechanikai funkció helyreállítása hanem egy új funkcionális állapot létrehozása a mielőbbi fájdalommentes mobilizáció és terhelhetőség eléréséhez biodegradabilis, mozgásra lassuló folyadékkal.

Fizikai környezet a törés után:

A tok vastagsága a szalagborítással együtt kb. 1 cm

Normalisan a virtualis teret a synovia tölti ki

Töréskor kb. 3-6 cm³-es tér keletkezik a fej nem ficamodik Intraossealisan 30 – 60 Hgmm –es túlnyomás van a systoles értékhez képest.

Ebbe az intrartikularis térbe akár lokál anaeszteziában bevitt PLA + kerámia az új funkcionális állapotot megteremtheti.

A PLA/PLG és a kerámia széles körben alkalmazott anyag a human gyógyászatban. A különböző PLA/PLG méretezése és a különböző testtájékon történt alkalmazása alapján alkalmas rögzítésre, szövetegyesítésre. Intraartikularis alkalmazására is van példa. A cerámiát elsősorban a fogászatban, orthopédiában csonthiányok pótlására más esetben keménységétől függően ízületi felszínek pótlására alkalmazzák. Kísérleti munkákban kisizületi szilikon prothesisét kiváltó térkitöltő anyagként alkalmazható. A kalcium foszfát nanokristályos szerkezete új halmazállapotú anyagok alkalmazását is lehetővé teszi.

A kutatás célja a lassuló folyadék előállítása, fizikai parameterezése és a biológiai applikáció feltételeinek meghatározása.

References:

W.J.E.M. Habraken, J.G.C. Wolke, J.A. Jansen : Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007) 234 – 248

Daniel C. Southam , Trevor W. Lewis , Andrew J. McFarlane , T. Borrmann , Jim H. Johnston: Calcium–phosphorus interactions at a nano-structured silicate surface

Journal of Colloid and Interface Science 319 (2008) 489–497

Chih-Hung Tsaia, Ruey-Mo Linc, Chien-Ping Jua, Jiin-Huey Chern Lina,:

Bioresorption behavior of tetracalcium phosphate-derived calcium phosphate cement implanted in femur of rabbits , *Biomaterials* 29 (2008) 984–993
Eero Warisa,b,c,, Nureddin Ashammakhid,e, Mauri Lehtimäki, Riitta-Mari Törmälä, Minna Kellomäki, Pertti Tormala, Yrjö T. Konttinen, :
The use of biodegradable scaffold as an alternative to silicone implant arthroplasty for small joint reconstruction:
An experimental study in minipigs *Biomaterials* 29 (2008) 683–691
Sujata Singh , Pallavi Bhardwaj , V. Singh , S. Aggarwal , U.K. Mandal : Synthesis of nanocrystalline calcium phosphate in microemulsion—effect of nature of surfactants
Journal of Colloid and Interface Science 319 (2008) 322–329

A DOKTORI KÉPZÉSI PROGRAM TANULMÁNYI ÉS VIZSGARENDJE

A szervezett doktori képzésbe felvett hallgatók elméleti és gyakorlati képzése az I. sz. Képzési Program keretében a Szegedi Tudományegyetem Doktori Szabályzatának XI. fejezetében foglaltak szerint történik. Ennek megfelelően alakul a képzési program tanulmányi és vizsgarendje, amely a képzés három éve alatt, 14 hetes félévenként együttesen legalább heti 2 órának megfelelő elméleti kurzust és gyakorlati foglalkozás ír elő. Ennek anyagából összesen hat esetben kerül sor számonkérésre beszámoló, kollokvium vagy záróvizsga formájában a félévente általában 3 hetes vizsgaidőszakban. A további részleteket a Szegedi Tudományegyetem érvényes Doktori Szabályzata tartalmazza.

Mindhárom témacsoportban **kötelező** alaptárgyak a következők

1. **Könyvtári alapismeretek** (I. félévben)
Óraszám: 30
Vizsgaforma: beszámoló
2. **Számítógépes alapismeretek** (II. félév)
Óraszám: 30
Vizsgaforma: záróvizsga
3. **A tudományos kutatás etikai kérdései** (II. félév)
Óraszám: 10
Vizsgaforma: beszámoló
4. **Publikációs ismeretek, a tudományos közlés módszertana** (II. félév)
Óraszám: 6
Vizsgaforma: beszámoló
5. **Állatkísérletek az orvostudományban - elméleti rész** (I. és II. félév)
Óraszám: 2x9 óra
Vizsgaforma: beszámoló

Témacsoportonként eltérő, a 3.4.1 pontban már részletezett tematikájú **kötelező** kurzusok az alábbiak:

I/1 témacsoport

Szív-érrendszeri farmakológia (III. és IV. félév)
Óraszám: 2x30
Vizsgaforma: záróvizsga

I/2 témacsoport

Állatkísérletek az orvostudományban - elméleti rész (I. és II. félév)
Óraszám: 2x9 óra
Vizsgaforma: beszámoló

Heveny kardiorespiratórikus kórállapotok (shock, szepszis, iszkémia-reperfúzió kórtana (III. és IV. félév)

Óraszám: 6x2 óra elmélet, 6x2 óra gyakorlat
Vizsgaforma: záróvizsga

I/3 témacsoport

A kardiovaszkuláris rendszer betegségei különös tekintettel a hypertóniára (III. év IV. félév)

Óraszám: 2x30
Vizsgaforma: záróvizsga

A témacsoporton belül választott kutatási témához kapcsolódó **alternatív előadások és gyakorlatok** a következők:

I/1 témacsoport

Celluláris és szubcelluláris mechanizmusok a kardioaktív szerek szívhatásaiban
(V. és VI. félév)

Óraszám: 2x12 óra előadás és 2x16 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

Endogén protektív hatású anyagok szerepe a szív pathológiás állapotaiban
(V. és VI. félév)

Óraszám: 2x12 óra előadás és 2x16 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

A szívkamra repolarizációs folyamatainak modulálása (V. és VI. félévben)

Óraszám: 2x10 óra előadás és 2x18 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

Vazoaktív gyógyszerek és endogén anyagok hatása a szív-érrendszer fiziológiás és hipoxiás/iszkémiás állapotaiban (V. és VI. félévben)

Óraszám: 2x12 óra előadás és 2x16 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI. félév)

A hirtelen szívhalál gyógyszeres és diétás megelőzése (V. és VI. félév)

Óraszám: 12 óra előadás + 16 óra gyakorlat (V.félév)

10 óra előadás + 18 óra gyakorlat (VI.félév)

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

I/2 témacsoport

A keringés és a légzés biomechanikája (V. és VI. félév)

Óraszám: 2x18 óra előadás + 2x10 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

Műtéttechnikai alapismeretek a kísérletes orvostudományban (V. és VI. félév)

Óraszám: 2x10 óra előadás + 2x18 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V. félév) és kollokvium (VI.félév)

Méréstechnikai alapismeretek (V. és VI. félév)

Óraszám: 2x10 óra előadás + 2x18 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

Mérési jelek digitális rögzítése és feldolgozása (V. és VI. félév)

Óraszám: 2x18 óra előadás + 2x10 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

Intravitális mikroszkópos megfigyelések a kísérletes orvostudományban
(V. és VI. félév)

Óraszám: 2x14 óra előadás + 2x14 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V. félév) és kollokvium (VI. félév)

Monitorozás a kísérletes orvostudományban (I. és II. félév)

Óraszám: 2x14 óra előadás + 2x14 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (I. félév) és kollokvium (II. félév)

Állatkísérletek az orvostudományban - gyakorlati rész (I. és II. félév)

Óraszám: 2x20 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (I. félév) és kollokvium (II. félév)

I/3 témacsoport

A magas vérnyomás epidemiológiai vonatkozásai (V. és VI.félév)

Óraszám: 2x16 óra előadás és 2x12 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

A hypertóniás érelváltozások és célszervkárosodások pathomechanizmusa
(V. és VI.félév)

Óraszám: 2x12 óra előadás és 2x16 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) kollokvium (VI.félév)

Gyulladásos megbetegedések szerepe a hypertóniás érelváltozások és az atherosclerosis pathogenezisében (V. és VI.félév)

Óraszám: 2x16 óra előadás és 2x12 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév) és kollokvium (VI.félév)

DNS-chipek alkalmazása hypertóniás érrendszeri és szervi elváltozások genetikai tényezőinek vizsgálatában

Óraszám: 2x10 óra előadás és 2x18 óra gyakorlat

Vizsgaforma: beszámoló (V.félév), kollokvium (VI.félév)

II. SZ. KÉPZÉSI PROGRAM ÁLTALÁNOS ISMERTETÉSE

A képzési program célja az élettudományok alapját képező három tudományág, a biokémia, biofizika, molekuláris és sejtbiológia elméleti és gyakorlati alapjainak koordinált elsajátítása.

A képzési programot elvégző hallgatók jártasságot szereznek a korszerű kutatási módszerek elméleti és gyakorlati alkalmazásában, új ismeretek és teóriák alapján történő kutatások megtervezésére és végrehajtására, kutatási tervek és pályázatok elkészítésére. Az elméleti képzés kiterjed a kutatás-szervezési, gazdálkodási, menedzsment kérdéseire, irodalom és tudományos adatbázis kezelésére.

1. OKTATÁS

A képzési program **három kötelező fő elméleti kurzusának** törzs tematikája:

- Biofizika:** Nukleinsavak és fehérjék szerkezete és biofizikai jellemzése
Lipidek és a biológiai membránok szerkezete, biofizikai jellemzése
Elektrosztatika a biológiában
Elektronállapotok spektroszkópiája és biológiai alkalmazásai
Vibrációs (infravörös és Raman) spektroszkópia
Mágneses rezonancia spektroszkópia (NMR + EPR/ESR)
Mikrospektroszkópiai eljárások, molekuláris kölcsönhatások mérése
Fehérje kristályosítás
Röntgen-, elektron- és neutrodiffrakciós szerkezetvizsgáló módszerek
Molekulamodellezés
Felületi biofizika
Optikai mikromanipuláció
- Biokémia:** Makromolekulák szerkezetének számítása és modellezése
Makromolekulák elektronmikroszkópos vizsgálómódszerei
Kémiai oldalláncmódosítások ép és kóros körülmények között
Glykoproteinek szerkezet és működésvizsgálata
Makromolekulák szabadgyökös reakciói, védekező mechanizmusok
Extracelluláris mátrix, sejtadhézió

Molekuláris stresszadaptáció
Nukleinsav alapú vizsgáló és diagnosztikai módszerek
Transzkripciós faktorok szerkezete és működése
Membrán receptorok szerkezete és működése
Iontranszportáló rendszerek szerkezete és működése
Sejt-sejt kommunikáció molekuláris alapjai
Klinikai biokémiai diagnosztika referencia módszerei, standardizálása

Molekuláris és sejtbioológia:

Szignáltranszdukció és sejtdifferenciálódás
Kromatinszerkezet és génexpresszió
DNS kötő fehérjék és szerepük
A restriktív enzimek DNS specifikitása
Génexpresszió szabályozása eukariótákban a transzkripció szintjén
Génexpresszió szabályozása eukariótákban a poszt-transzkripció szintjén
RNS editing
Onkogének, tumor szuppresszor gének és daganatképződés
Daganatkeltő vírusok
Nukleáris transzport folyamatok
Fehérjék születése élete és halála eukarióta sejtekben
Transzgénikus élőlények készítése és használata
Génterápia
Evolúció a molekuláris biológia tükrében

A képzési program **szabadon választható elméleti kurzusának** törzs tematikája:

Fehérje bioinformatikai eszközök alkalmazása a gyakorlatban

A kurzus célja alapvető fehérje bioinformatika módszerek bemutatása és alkalmazása. Az utóbbi években egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy a fehérje szerkezet-funkció összefüggés jóval összetettebb, mint azt korábban gondolták. A fehérjék, különösen a sejt szabályozási folyamataiban részt vevő fehérjék nagyon gyakran modulárisak. Ennek a moduláris felépítésnek az összetevői globuláris domének mellett rendezetlen régiók, coiled-coiled szakaszok, lineáris motívumok is lehetnek. A kurzus során a hallgatók megismerkedhetnek azokkal az alapvető bioinformatikai eszközökkel, amelyekkel a fehérjék moduláris felépítése elemezhető és jósolható, a módszerek konkrét példákon való alkalmazás pedig segít az eredmények értő módon történő kiértékelésében.

A kurzus során elsősorban a következő módszerek és adatbázisok kerülnek felhasználásra: CLUSTALX, BLAST, JalView, PFAM, ELM, STRING, IUPRED, PhosphoELM

Értékelés:

Beadandó feladat, két fehérje (egy szabadon választott, egy pedig egy előre meghatározott listából kiválasztott fehérje) minél teljesebb elemzése a kurzus során ismerttetett módszerekkel.

2. A II. SZ. DOKTORI KÉPZÉSI PROGRAM KUTATÁSI TERÜLETEI:

Az egyéni kutatási program keretében a hallgatók önálló kutatómunkát végeznek a program egy vagy több szenior kutatójának irányításával. Betekintést nyernek az adott téma irodalmába, és képessé válnak önálló tudományos munka végzésére, az eredmények interpretálására és publikálására referált folyóiratokban.

Vendégelőadók meghívása, valamint rövid külföldi tanulmányutak keretében mód van a tanulmányozott terület nemzetközi fejlődési irányainak közvetlen megismerésére.

A képzési programot elvégző hallgatók eredményesen tudnak pályázni posztdoktori állásokra Magyarországon és külföldön. A megszerzett elméleti és gyakorlati ismeretek alkalmassá teszik kutatási fejlesztő állások betöltésére az egészségügy, mezőgazdaság, gyógyszer és biotechnológiai ipar területén.

A képzési programon belül jól illeszkedik az alap elméleti és az alkalmazott elsősorban klinikai jellegű biofizikai, biokémiai, molekuláris és sejtbiológiai kutatások rendszere. Ez növeli az elnyerhető támogatások forrásait, körét, a képzésre jelentkező ösztöndíjas és munka melletti jelöltek számát és a program eredményes teljesítése a fokozat megszerzése utáni elhelyezkedési lehetőségeit, az alap az alkalmazott kutatásban, fejlesztésben, gyártó illetve supportív pályákon és a gyakorlati egészségügy, orvosi diagnosztika, biotechnológia, agrár élelmiszeripari high technology szférában egyaránt.

KUTATÁSI TÉMÁK

A képzési program keretében jelenleg pályázati támogatással végezhető kutatási témák a következők:

1. KLINIKAI BOKÉMIAI DIAGNOSZTIKAI MÓDSZEREK ÉS ANYAGOK STANDARDIZÁLÁSA, MINŐSÉGELLENŐRZÉSE, REFERENCIA TARTOMÁNYOK MEGÁLLAPÍTÁSA

(Prof. Dr. Dux László, Dr. Patricia Kaiser PhD)

A klinikai biokémiai diagnosztika eszköz, módszer és reagens kínálata napjainkban rohamosan bővül, fejlődik. Az alapkutatási eredmények néhány év alatt rutin felhasználói szinten is elérhetővé válnak. Ez a fejlődés, valamint a betegellátási költségek robbanásszerű növekedése megköveteli a minőségbiztosítás, standardizálás fejlesztését. A PhD program keretében lehetőség van klinikai biokémiai, analitikai módszerek standardizálása, minőségfejlesztése, a referencia értékek, tartományok megállapítására, rutin diagnosztikai metodikai problémák tudományosan megalapozott verifikálására. Referencia módszerek, eszközök felhasználásával klinikai biokémiai diagnosztikai szakmai protokollok kidolgozásában való részvétel biztosított.

Kidolgozható témakör:

1.1. Makromolekula meghatározási módszerek standardizációja és minőségellenőrzése a klinikai biokémiában

Témavezető: Dr. Dux László tanszékvezető egyetemi tanár (Tel: 62/545-096, 62/545-097 e-mail: dux.laszlo@med.u-szeged.hu)

2.1. Standardization and quality control of macromolecular assays in pathobiochemistry, clinical biochemistry - Standardization of measurements for immunosuppressive agents

Témavezető: Dr. Patricia Kaiser PhD, e.v. INSTAND, Düsseldorf

2. A SZÍVIZOM ISZKÉMIÁS STRESSZADAPTÁCIÓJÁNAK FARMAKO-BOKÉMIÁJA

(Prof. Dr. Ferdinandy Péter, Dr. Görbe Anikó, Dr. Bencsik Péter)

Az iszkémiás szívbetegség a leggyakoribb halálok a civilizált társadalmakban. A szívizom iszkémiás stressz elleni védelmének kidolgozása a legfontosabb orvosi kutatási területek egyike. Programunk célja a szívizom endogén stresszadaptációs képességéért felelős biokémiai folyamatok feltárása, és ezen biokémiai folyamatok farmakológiai támogatásának kidolgozása. Vizsgálataink kiterjednek a stresszadaptáció biokémiájának egyes betegségekben történő tanulmányozására is, mely betegségek (hyperkoleszterinémia, diabetes) ezen folyamatokat negatívan befolyásolják. Kísérleteink során *ex vivo* izolált szíven, továbbá egész állatokon *in vivo* modellezzük a szívizom iszkémiát, illetve az infarktus kialakulását, majd biokémiai, farmakológiai, elektron spin rezonanciás, radioizotópos és immunkémiai, továbbá molekuláris biológiai módszerekkel tanulmányozzuk a stresszadaptációs folyamatok kifejlődését a miokardiumban.

2.1. A szenzoros idegek szerepe a szívizom stresszadaptációjában

Témavezető: Dr. Ferdinandy Péter egyetemi tanár (Tel: 62/545-755, 62/545-097
e-mail: ferdinandy.peter@med.u-szeged.hu)
(web: <http://www.cardiovasc.com>)

2.2. Hő-stressz fehérjék és az iszkémiás adaptáció

Témavezető: Dr. Ferdinandy Péter egyetemi tanár (Tel: 62/545-755, 62/545-097
e-mail: ferdinandy.peter@med.u-szeged.hu)
(web: <http://www.cardiovasc.com>)

2.3. Diabetes és a szívizom stresszadaptációja

Témavezető: Dr. Ferdinandy Péter egyetemi tanár (Tel: 62/545-755, 62/545-097
e-mail: ferdinandy.peter@med.u-szeged.hu)
(web: <http://www.cardiovasc.com>)

2.4. Kardioprotektív anyagok hatásának és hatásuk jelátviteli útjainak vizsgálata in vitro sejtes modelleken

Témavezető: Dr. Görbe Anikó egyetemi adjunktus (Tel: 62/34-2810, 62/545-097
e-mail: gorbe.aniko@med.u-szeged.hu)
(web: <http://www.cardiovasc.com>)

Az iszkémiás szívbetegségek napjainkban a vezető halálokok közé tartoznak Magyarországon. Ilyen esetekben a szívizom vérellátása és ezáltal oxigén ellátása átmenetileg vagy tartósan megszűnik. Amennyiben a vérellátás újra megindul (reperfúzió), a szövet életben maradhat, azonban a vérellátási területen lévő sejtek jó része károsodik. Ennek megfelelően az iszkémiás szívizomszövet károsodásának mérséklése különböző terápiás megoldásokkal fontos feladatnak tekinthető.

A kutatási téma célkitűzése az, hogy olyan anyagokat vizsgáljon meg laboratóriumi körülmények (in vitro) között, amelyek képesek a szívizomsejteket megvédeni az iszkémiás károsodás ellen. A védő anyagok hatásmechanizmusnak a feltérképezése pedig további potenciális gyógyszermolekulák kifejlesztését teszi lehetővé, melyeket sikeresen lehetne alkalmazni a betegcsoportban. Ehhez primer neonatális patkány szívizomsejt tenyészetek készítése, fenntartása, szimulált iszkémia vizsgálata hipoxiás oldattal és a nitrogén gázzal átáramoltatott hipoxiás kamrában történik. A tenyészetek szimulált iszkémiára való érzékenységének vizsgálata fluoreszcens viabilitás teszt segítségével. Viabilitás tesztek fluoreszcens végpontú értékelésének beállítása calcein és propidium jodid fluoreszcens festékekkel. Fenti kísérletek segítségével egy jól standardizálható, reprodukálható teszt rendszert kívánunk létrehozni. Potenciális védő anyagok vizsgálata, 20 órás előkezelés,

szimulált iszkémia, majd reoxigenáció ideje során történő adagolással. Megfelelő védelem estén a védő anyag hatásmechanizmusának további vizsgálata.

Az infarktuson átesett betegek kezelésében különböző őssejt készítmények alkalmazása a károsodott szívizom megújítására, illetve pótlására lehet egy másik lehetőség. A folyamat során olyan különböző típusú őssejtek beültetése történik meg, amelyek szívizomba történő integrálódás és megfelelő túlélés után képesek átvenni a szívizomsejtek funkcióját. A humán embrionális őssejtek alkalmazása azonban komoly etikai kérdéseket vet fel. Más őssejttípusok szívizom irányba történő differenciáltatása azonban közelebb hozhatja ezt a terápiás lehetőséget a megvalósításhoz. Az őssejt eredetű kardiomiociták hasonlóan vizsgálhatóak a korábban fejlesztett in vitro rendszerben.

2.5. A mátrix metalloproteináz-2 szerepe a szívizom iszkémiás károsodásában

Témavezető: Dr. Bencsik Péter egyetemi adjunktus (Tel: 62/34-2810, 62/545-097

e-mail: bencsik.peter@med.u-szeged.hu) (web: <http://www.cardiovasc.com>)

Az iszkémiás szívbetege, és a talaján kialakuló akut, illetve krónikus szívelégtelenség vezető halálok az Európai Unió több országában, köztük Magyarországon is. A betegség kezelése rendszerint több támadáspontú (sebészi, gyógyszeres), azonban az iszkémiás szívbetege terápiaja mindmáig megoldatlan.

Az SZTE ÁOK Biokémiai Intézet Kardiovaszkuláris Kutatócsoportjának küldetése, hogy a kardiovaszkuláris betegségek, illetve ezek rizikófaktoraként, súlyosbító körülményeként szolgáló társbetegségek (pl. hiperlipidémia, diabetes mellitus, urémia) patomechanizmusát, illetve terápiajának lehetséges új eszközeit kutassa. A Csoport In vivo laboratóriumának vezetőjeként az én feladatom és célom, hogy az iszkémiás szívbetege és szívelégtelenség, illetve a fent említett társbetegségek állatmodelljeiben kísérletezzünk ki klinikailag releváns és a későbbiekben humán kezelésekre felhasználható eljárásokat, gyógyszeres terápiaát.

Az utóbbi években kiemelt figyelmet kaptak a mátrix metalloproteinázok (MMP) a kardiovaszkuláris betegségek kialakulásában és progressziójában betöltött szerepüknél fogva. Az MMP-k olyan cink tartalmú endopeptidázok, melyek szerepet játszanak az extracelluláris mátrix fehérjéinek elbontásában, átépítésében, ezáltal olyan fiziológiás folyamatokhoz járulnak hozzá, mint az embriogenezis vagy a sebgyógyulás. Azonban ismert, hogy az MMP-k kóros elváltozások beindítói, szereplői is lehetnek, mint pl. a gyulladás, karcinogenezis, illetve metasztázis képződés, vagy különféle szövetek hipoxiás/iszkémiás károsodását követően kialakuló remodelling. Szívizomsejtekben kimutatták, hogy az MMP-2 izoforma nem csak extracellulárisan, hanem a sejten belül is expresszálódik, így feltehetően intracelluláris szignalizációs és/vagy metabolikus folyamatokban is involvált lehet. Továbbá, kutatócsoportunk korábban kimutatta, hogy az MMP-2 aktiválódik a szívizomban iszkémiás károsodás hatására, mely aktiválódás a szívizom kondicionálásával csökkenthető, valamint irodalmilag ismert, hogy iszkémiás károsodást követően a szívizom degeneratív átépülésében is fontos szerepet játszik az aktív MMP-2.

Kutatási témám a MMP-2 expressziójának és aktivitásának vizsgálata iszkémia-reperfúziós károsodásban és szívelégtelenségben társbetegségek jelenlétében, illetve azok megléte nélkül. Továbbá az MMP-2 farmakológiai úton történő gátlásának vizsgálata a fent nevezett betegség modellekben, MMP-2 inhibitorok preklinikai alkalmazása kardiovaszkuláris betegségekben, kiemelten szívizom iszkémia/reperfúziós károsodásban és szívelégtelenségben.

Az intézetünkben alkalmazott betegségmodellek és metodikák közül néhányat felsorolva kiemelném a koronária okklúzióval létrehozott infarktus, illetve szívelégtelenség modellt, melyet patkányban és egérben is rutinszerűen végzünk. Ezen kívül patkányban

beállított urémiás (5/6 nefrektómia) és hiperkoleszterinémiás modellel rendelkezünk. Rutin in vivo funkcionális és morfológiai méréseink közé tartozik a bal kamra nyomás-térfogat katéterezése, valamint nagy teljesítményű ultrahang berendezés által echokardiográfiás vizsgálatok végzése. Ezek mellett számtalan biokémiai/molekuláris biológiai módszer áll rendelkezésre a kutatócsoporton belül, melyeket nagy tapasztalattal és magas minőségben tudunk kivitelezni.

3. SEJTKÁROSODÁS ÉS KONDÍCIONÁLHATÓSÁG METABOLIKUS BETEGSÉGEKBEEN.

(Dr.habil. Csont Tamás, Dr. habil. Csonka Csaba)

3.1. Metabolikus betegségek (diabétesz, hiperlipidémia, urémia) szívhatásai

Témavezető: Dr. habil. Csont Tamás egyetemi docens (Tel: 62/545-755, 62/545-097 e-mail: csont.tamas@med.u-szeged.hu)

Az iszkémiás szívbetegség vezető helyen áll a megbetegedési és halálozási statisztikákban. Viszont az iszkémiás szívbetegség a valóságban egy komplex megbetegedés, amely egyes ismert kardiovaszkuláris rizikófaktorok és társbetegségek (pl. magas vérnyomás, öregedés, és metabolikus kórképek, mint pl. hiperlipidémia, diabétesz, inzulin rezisztencia, krónikus vesebetegség, stb) talaján alakul ki, illetve ezekhez társul. Ezek a társbetegségek alapvető molekuláris változásokat idéznek elő a kardiovaszkuláris rendszerben, ami az iszkémia/reperfúziós károsodást magát, illetve a kardioprotektív beavatkozásokra adott szöveti válaszokat egyaránt alapvetően befolyásolhatják. Jelen programban különféle kísérletesen előidézett metabolikus állapotokban vizsgáljuk a szívizomban bekövetkező funkcionális és molekuláris változásokat.

3.2. A nitroglicerinnel direkt miokardiális hatásának a vizsgálata

Témavezető: Dr. habil. Csont Tamás egyetemi docens (Tel: 62/545-755, 62/545-097 e-mail: csont.tamas@med.u-szeged.hu)

Az iszkémiás szívbetegség a leggyakoribb halálok a civilizált társadalmakban. A szívizom iszkémiás stressz elleni védelmének kidolgozása a legfontosabb orvosi kutatási területek egyike. A nitroglicerint régóta sikeresen használják az iszkémiás szívbetegség terápiájában, azonban a használatát korlátozza, hogy tolerancia alakul ki az érhatásaival szemben. Programunk célja a nitroglicerinnel direkt szívhatásainak a vizsgálata, különös tekintettel a nitroglicerinnel reperfúziós károsodást mérséklő hatására. Vizsgáljuk továbbá, hogy a nitroglicerinnel direkt szívhatásait hogyan befolyásolja a vaszkuláris nitrát tolerancia kifejlődése. Kísérleteink során ex vivo izolált szíven, továbbá egész állatokon in vivo modellezzük a szívizom iszkémiát, illetve az infarktus kialakulását, majd biokémiai, farmakológiai, elektron spin rezonanciás, radioizotópos és immunkémiai, továbbá molekuláris biológiai módszerekkel tanulmányozzuk a stresszadaptációs folyamatok kifejlődését a miokardiumban, illetve azt hogy a nitroglicerinnel milyen hatást fejt ki ezekre.

Az extracelluláris mátrix fehérjéinek vizsgálata a szívizom stresszadaptációjában

Témavezető: Dr. habil. Csont Tamás egyetemi docens (Tel: 62/545-755, 62/545-097 e-mail: csont.tamas@med.u-szeged.hu)

Az iszkémiás szívbetegség a leggyakoribb halálok a civilizált társadalmakban. A szívizom iszkémiás stressz elleni védelmének kidolgozása a legfontosabb orvosi kutatási területek egyike. Programunk célja az extracelluláris mátrix (ECM) felépítésében résztvevő fehérjék, proteoglikánok, vagy az ECM átépítésében is szerepet játszó mátrix metalloproteinázok szívizom stresszadaptációjában játszott szerepének a vizsgálata, a hatásmechanizmusban szerepet játszó biokémiai folyamatok feltárása, és ezen biokémiai folyamatok farmakológiai

támogatásának kidolgozása. Kísérleteink során in vivo sejtkultúrában, ex vivo izolált szíven, továbbá egész állatokon in vivo modellezzük a szívizom iszkémiát, illetve az infarktus kialakulását, majd biokémiai, farmakológiai, elektron spin rezonanciás, radioizotópos és immunkémiai, továbbá molekuláris biológiai módszerekkel tanulmányozzuk a stresszadaptációs folyamatok kifejlődését a miokardiumban, illetve azt hogy az ECM fehérjék milyen hatást fejtenek ki ezekre.

3.4. miRNA szerepe szív patológiás állapotaiban

Témavezető: Dr. habil. Csont Tamás egyetemi docens (Tel: 62/545-755, 62/545-097 e-mail: csont.tamas@med.u-szeged.hu)

A kardiovaszkuláris betegségek vezetnek a halálozási statisztikákat a fejlett társadalmakban, ezért az egyes betegségek patofiziológiájának és a betegség kifejlődése során bekövetkező molekuláris változásoknak a megértése kiemelt fontosságú. Számos kardiovaszkuláris megbetegedés hátterében génexpressziós módosulások állnak. Az utóbbi időben felismerték, hogy a mikroRNS-ek fontos moduláló szerepet tölthetnek be különböző fehérjék expressziójának szabályozásában, s így egyes kórállapotok kialakulásában. Programunk célja, hogy a mikroRNS-ek szerepét vizsgáljuk kardiovaszkuláris kórképekben.

3.5. Hyperkoleszterinémia kardiális hatásai

Témavezető: Dr. habil. Csonka Csaba tudományos főmunkatárs (Tel: 62/545-755, 62/545-097 e-mail: csonka.csaba@med.u-szeged.hu)

Az iszkémiás szívbetegségek kialakulásáért számos rizikófaktor tehető felelőssé, melyek közül talán a legfontosabb a vér kedvezőtlen lipid profilja ami klinikailag hiperlipidémiában és hiperkolesztrinémiában nyilvánul meg. A magas koleszterinszint hosszú távon ateroszklerózishoz majd ezek trombozisan keresztül érelzáródáshoz vezet. Korábbi kutatások bizonyították, hogy a hiperkoleszterinémia kedvezőtlen szívhatásaiért nem csak az érhatások, hanem a direkt szívhatások is felelőssé tehetőek. Így például a kísérletes hiperkoleszterinémia a szív stresszadaptációs képességének romlását, elvesztését okozza. Munkánk során azokra a kérdésekre keresünk választ, hogy milyen háttérmechanizmusok vezetnek az adaptációs képesség elvesztéséhez, és vajon van-e olyan beavatkozás amivel az elvesztett adaptációs képesség helyreállítható?

3.6.A nitrogén monoxid és peroxinitrit szerepe a szívizom stresszadaptációjában

Témavezető: Dr. habil. Csonka Csaba tudományos főmunkatárs (Tel: 62/545-755, 62/545-097 e-mail: csonka.csaba@med.u-szeged.hu)

A nitrogén monoxid, a 1998-as év „Nobel-díjas molekulája”, egy Janus arcú molekula amely mégis az emberi szervezet egyik kulcsmolekulája. Annak ellenére, hogy egy egyszerű molekula, a nitrogén-monoxid fontos biológiai szabályozó és alapvető eleme a neurológiai, fiziológiai és az immunológiai folyamatoknak. Egészséges szervezetben alapvető a keringésszabályozásban – az érlemezésedés, a szívinfarktus, az agyi érkatasztrófák bekövetkezése elleni folyamatokban – játszott szerepe. Kulcsszerepe van a szív működésében és az érrendszerben a vérnyomás és az egyes életfontosságú szervek vérellátottságának fő szabályozójaként. Fő hatásmechanizmusa a guanilát-cikláz aktivitásának befolyásolása révén a cGMP szint emelkedése. A NO másik fontos intracelluláris hatása a tiol és cisztein csoportok S-nitrozilációja. Ez a poszttranszlációs módosulás reverzibilis módon befolyásolja a proteinek funkcióját. A NO hatásmechanizmusa szorosan összefügg a szuperoxid molekulával együtt alkotott peroxinitrit hatásaival. A NO és a peroxinitrit pontos

hatásmechanizmusa azonban az intenzív kutatások ellenére mindmáig részleteiben nem teljesen ismert. Ezért célunk ezen molekulák hatásmechanizmusának pontosabb felderítése különös tekintettel a szívizom adaptációjára.

3.7. Kardioprotekció extracelluláris mátrix komponensekkel

Témavezető: Dr. habil. Csonka Csaba tudományos főmunkatárs (Tel: 62/545-755, 62/545-097 e-mail: csonka.csaba@med.u-szeged.hu)

Az iszkémiás szívbetegség a leggyakoribb halálok a civilizált társadalmakban. A gyógyítás célja az elégtelenül működő szívizomsejtek funkciójának javítása és az iszkémia során fellépő izomsejt-vesztés minimalizálása. A kutatások fő célpontjai természetesen a sejtek, de vajon a sejtek működése befolyásolható a környezetüket alkotó extracelluláris mátrix tulajdonságainak megváltoztatásával? Programunkban erre a kérdésre keressük a választ elsősorban a szív működésén keresztül.

3. MOLEKULÁRIS PSZICHO-NEURO-IMMUNOLÓGIA STRESSZÁLLAPOTBAN ÉS ISZKÉMIÁS SZÍVBETEGSÉGBEN

Témavezető: **Dr. Keresztes Margit** egyetemi adjunktus (Tel:62/544-000/28-15, 62/545-097 e-mail: keresztes.margit@med.u-szeged.hu)

A pszicho-neuro-immunológiai vizsgálatok elsősorban egyes granulocita aktiválódási markerek, vérplazma gyulladásozó-immun paraméterek kimutatását foglalják magukban a pszichológiai mutatók és endokrin paraméterek mérése mellett.

4. JELÁTVITELI UTAK FELDERÍTÉSE TRANSZGENIKUS VÁZIZOMMAL

Témavezető: **Dr. habil. Zádor Ernő** egyetemi docens (Tel: 62/544-000/28-13, 62/545-097 e-mail: zador.erno@med.u-szeged.hu)

Kidolgozható témakörök:

4.1. Jelátviteli utak felderítése transzgenikus vázizommal

A vázizom úgy lesz transzgenikus, hogy a rostjaiba plazmid segítségével külső „idegen” gént viszünk be (transzfektáljuk), azért, hogy a bevitt gén szerepét felderítsük. A génbevitel szempontjából elsősorban a fontosabb jelátviteli folyamatok kulcsfaktorai és ezek gátlói jöhetnek számításba. A módszer segítségével megismerhettük például azt, hogy a lassú vázizom összehúzódásában alapvető miozin nehézlánc és az elernyedésben fontos szarkoplazmás retikulum Ca^{2+} ATP-áz külön jelátviteli utakon szabályozódik, jöhetnek, az izomadaptációs folyamatokban együttes kifejeződést mutatnak (*Am. J. Physiol.* 285:C853-C861; *FEBS Lett.* 579:749-752). A transzgenikus vázizom előnye a transzgenikus állattal szemben, hogy az izom fejlődése a transzfektáció pillanatáig vad típusú genetikai háttérben történik, s így elkerülhetők a mutáns genetikai háttér izomfejlődést megelőző hatásai. Jelenleg azt vizsgáljuk, hogy ez a módszer felhasználható-e génterápiás alap kutatásokra.

4.2. A vázizom remodellálás szabályozó faktorai

A remodellálás az angol „remodelling” magyarítása, átszerelést jelent. Azt érzékelteti, hogy szerkezeti és funkcionális elemei folyamatosan átépülnek miközben az élőlény az egyik állapotból a másikba kerül. A szöveti szintű remodellálásnak egyre több szabályozó

tényezőjét ismerjük meg. A vázizom remodellálása dinamikus jellege miatt különösen jól tanulmányozható biokémiai és molekuláris biológiai módszerekkel. Az adaptációs átalakulások során jól felismerhető a jelátviteli út–transzkripció faktor–differenciálódási gén sorrend. Csoportunk egy izomregenerációs és két izomadaptációs modellt dolgozott ki, amelyekben számos szabályozó faktor és differenciációt jelző molekula mRNS és fehérje szintjét meghatároztuk (*pl: Neuromusc. Disorders* 8: 533-541; *J. Muscle Res. and Cell Mot.* 20:395-402; *J. Muscle Res. & Cell Mot.* 21:551-563; *Biochem Biophys Res Commun* 320:599-605). A vázizom kutatás előrehaladásával érdekessé váló molekulák és paraméterek jellegzetességeinek felderítése a feladat ezekben a modellekben.

5. GÉNEXPRESSZIÓ VIZSGÁLATA REGENERÁLÓDÓ VÁZIZOMBAN

Témavezető: Dr. Mendler Luca egyetemi adjunktus (Tel: 62/544-000/28-11, fax: 62/545-097, e-mail: mendler.luca@med.u-szeged.hu)

A vázizom nemcsak mechanikus szerv, amely a mozgások kivitelezésében játszik fontos szerepet, hanem a szervezet metabolikus folyamatainak szabályozásában is kiemelt helyet foglal el. A vázizmok növekedése számos regulációs mechanizmus összehangolt működésének következménye, amelyek nemcsak az embrionális fejlődés során, de a felnőtt izom adaptációjában is szerepet játszanak. Az érett vázizomrostok károsodása során a nyugvó miogenikus ún. szatellita sejtek proliferációja, majd differenciációja új izomrostok létrejöttét, és az izom regenerációját teszi lehetővé. Az izomnövekedés/regeneráció, valamint a szívizom kiemelt negatív regulátora a miosztatin. A miosztatin hatásmechanizmusának, IGF-I-gyel, androgénnel, illetve egyéb szabályozó molekulákkal való kapcsolatának vizsgálata a kutatási program középpontjában áll, melynek célja a regulációs mechanizmusok részletes megismerése, amelyek izomvesztéssel járó betegségek (öregedés, cachexia, szívelégtelenség, izomdisztrófiák) terápiájában új célpontokat jelenthetnek. Ennek keretében patkányok, miosztatin-mutáns egerek, humán minták és sejtrendszerek vizsgálata történik molekuláris biológiai, hisztokémiai és biokémiai módszerekkel.

Kidolgozható témakör:

Az izomnövekedés és izomadaptáció regulációs mechanizmusai

6. AZ IZOMNÖVEKEDÉS- ÉS DIFFERENCIÁCIÓ FOLYAMATÁT SZABÁLYOZÓ JELÁTVITELI UTAK VIZSGÁLATA

Témavezető: Dr. Keller-Pintér Anikó tudományos munkatárs (Tel: 62/544-000/28-11, fax: 62/545-097, e-mail: keller.aniko@med.u-szeged.hu)

Az izomnövekedés- és differenciáció folyamatában szerepet játszó molekulák és jelátvitelük megismerése fejlődésbiológiai és orvosbiológiai szempontból is jelentős, hiszen lehetővé teszi az izomrendszert érintő betegségek pathomechanizmusának és terápiás lehetőségeinek feltárását. A harántcsíkolt izom nagyfokú regenerációs képességgel rendelkezik, amellyel sérüléseket követően, továbbá egyes izombetegségekkel (*pl. izomdisztrófiákkal*) kapcsolatban találkozunk. Az izomregeneráció alapját a prekursor sejtek (szatellita-sejtek) aktivációja, proliferációja, majd a differenciáció során a myoblastok sokmagvú myotubulusokká történő fúziója képezi.

A TGF- β családtag myostatin a harántcsíkolt izomtömeg fő negatív szabályozója, gátolja a myoblastok proliferációját és differenciációját. A vázizomra gyakorolt autokrin-parakrin hatáson kívül endokrin faktorként szisztémás metabolikus hatásokkal is rendelkezik. A myostatin génjét érintő természetes mutációk (*pl. humán, szarvasmarha, Compact egér*)

esetén, továbbá a myostatin génkiütött egerekben az izomtömeg megnövekszik. A fokozott myostatin szint pedig izomtömeg-vesztéshez vezet többek között az öregedés, tartós immobilizáció, szívelégtelenség, izomdisztrófiák vagy a tumoros cachexia esetén. A prekursor promyostatin érése során propeptidre és aktív myostatinra hasad a Golgiban vagy az extracelluláris mátrixban, ezáltal lehetőség van az aktivitás extracelluláris, lokális szabályozására is. A myostatin jelátvitelét myostatint kötő fehérjék és mátrixkomponensek is befolyásolják

Az izomdifferenciációban fontos szerepet játszanak a kis GTP-áz Rho család tagjai, melyek közül a legismertebbek a Rac1, RhoA és a CDC42. Számos sejtfunkcióban nélkülözhetetlenek, többek között szabályozzák az aktin citoskeleton szerveződését, a sejt polaritást és a sejt ciklust. Az aktív RhoA fokozza a MyoD és myogenin izomreguláló transzkripciós faktorok expresszióját, míg az aktív Rac1 szint növekedése szükséges a myoblast-fúzió folyamatához.

Az izomprogenitor szatellita-sejtek egyik markere az I-es típusú transzmembrán, heparán-szulfát proteoglikán syndecan-4. A syndecan-4 izomfejlődésben betöltött pontos szerepe még nem ismert, eddigi adatok alapján a syndecan-4 hiányos egerekben a harántcsíkolt izom morfológiája és regenerációja sérül, elmarad a szatellita-sejtek aktivációja, proliferációja és a myoblastok differenciációja. A syndecan-4 extracellulárisan a glükózaminoglikán oldalláncokhoz kapcsolódó mátrixkomponensekkel, növekedési- és egyéb faktorokkal hat kölcsön. A syndecan-4 kapcsolatot teremtve az extracelluláris tér és a citoplazma között fontos funkciót tölt be a sejt és a környező mátrix közti kétirányú kommunikációban, befolyásolva a sejtadhézió és a sejtosztódás folyamatát. Továbbá ismert, hogy a syndecan-4 szerepet játszik a Rac1 aktivitásának leszabályozásában.

Kutatómunkánk célja a myostatin jelátvitelének vizsgálata *in vivo* és *in vitro* modellekben, az izomdifferenciáció háttérében álló molekuláris mechanizmusok feltárása. Biokémiai, hisztokémiai, citokémiai módszerek széles spektrumával tanulmányozzuk a syndecan-4 szerepét a promyostatin/myostatin útvonalban és a Rho GTP-ázok aktivitásának szabályozásában az izomdifferenciáció során.

7. A SEJTKÖZÖTTI ÁLLOMÁNY FEHÉRJÉINEK FUNKCIÓJA, A GÉNEK SZERKEZETE, KIFEJEZŐDÉSE ÉS SZABÁLYOZÁSA

(Dr. Kiss Ibolya, Dr. Deák Ferenc)

A kutatás célja extracelluláris matrix (ECM) fehérjéket kódoló gének molekuláris klónozása, evolúciójának, expressziójának és regulációjának beható tanulmányozása, továbbá a gének funkcionális analízise. Főként porc-specifikus és azokkal rokon ECM fehérje génekre összpontosítunk, így a csirke, egér és humán kapcsoló fehérje és matrilin gének vizsgálata áll a középpontban. Az alkalmazott kísérleti módszerek magukban foglalják a rekombináns DNS technológiában, szövetenyésztésben és molekuláris biológiában általános használt és modern technikákat, beleértve az *in vitro* differenciálódást primer sejt kultúrákban, az *in vivo* génexpresszió tanulmányozását *in situ* hibridizációval és immunhisztokémiával, továbbá a génreguláció vizsgálatát transziens expressziós kísérletekben és különféle, DNS-fehérje kölcsönhatáson alapuló *in vitro* módszerek (gélshift, footprint- és metilációs interferencia analízis) segítségével. Végül, transzgenikus egerekben sor kerül az azonosított szabályozó elemek szerepének igazolására a szövetspecifikus génkifejeződésben, illetve az ECM fehérje gének funkcionális analízisére külföldi együttműködés keretében.

Témavezető: Dr. Kiss Ibolya DSc Avidin Kft (Tel: 62/599-633 e-mail: kiss@brc.hu),
Dr. Deák Ferenc DSc Avidin Kft (Tel: 62/599-644, e-mail: matrix@brc.hu)

8. GENETIKAI ÉS DROGINTERAKCIÓS HÁLÓZATOK EVOLÚCIÓJA

Témavezető: Dr. Papp Balázs PhD, MTA SZBK Biokémiai Intézet, Számítógépes Rendszerbiológiai Csoport (Tel: 62/599-586, e-mail: papp.balazs@brc.mta.hu)

Új – eddigi antibakteriális anyagokkal szemben rezisztens – kórokozó baktériumok megjelenése nagy kihívást jelent a gyógyszeriparnak. Hatékony antibakteriális szerek kifejlesztésének a feltétele, hogy minél jobban ismerjük a blokkolni kívánt sejt működését és az azokat kódoló genetikai hálózatokat. A projekt célkitűzése, hogy laboratóriumi evolúciós kísérletek segítségével megbecsüljük az egyes gének blokkolása ellen fellépő rezisztencia kialakulásának a sebességét.

9. IS ELEMENK HATÁSA AZ ANTIBIOTIKUM REZISZTENCIA EVOLÚCIÓJÁRA

Témavezetők: Dr. Papp Balázs PhD, MTA SZBK Biokémiai Intézet, Számítógépes Rendszerbiológiai Csoport (Tel: 62/599-586, e-mail: papp.balazs@brc.mta.hu) és Dr. Pál Csaba PhD MTA SZBK Biokémiai Intézet, Kísérleti Evolúciobiológiai Csoport (Tel: 62/599-661, e-mail: pal.csaba@brc.mta.hu)

Miért találunk ugráló genetikai elemeket számos prokarióta élőlény genomjában? Van-e bármilyen gazda szervezet számára is hasznos funkciójuk? Ismert tény, hogy az IS elemek aktivitása megnő környezeti stressz hatására, és ezzel számos mutációt indukálnak. Egyik elmélet szerint mindez hozzájárulhat az antibiotikummal szembeni gyors rezisztencia kialakulásához. Ezt az elképzelést teszteljük laboratóriumi körülmények között *E.coli* populációkon.

10. A PRION FEHÉRJE SZEREPE, HATÁS MECHANIZMUSA A FERTŐZŐ SZIVACOS AGYSORVADÁSOS BETEGSÉGEKBEN

(Dr. Welker Ervin, Dr. Dr. Ayaydin-Fodor Elfrieda)

A fertőző szivacsos agylágyulás/agysorvadás betegségei embereken kialakulhatnak fertőzés során (új variáns Creutzfeldt-Jakob betegség (nvCJD), iatrogenikus CJD, kuru); lehetnek örökletesek, amikor is a PRNP gén, amely a prion fehérjét kódolja, mutációt hordoz a csirasejteken (familial CJD, Gerstmann-Streüssler-Scheinker szindróma, fatal familial insomnia); és lehetnek véletlenszerűen jelentkezők (sporadikus CJD), amikor a betegség eredete ismeretlen. A betegséget más emlősökben is észlelték: bárányokban, szarvasmarhákban, kecskékben, őzekben, jávorszarvasokban, nyérceken, macskákban és állatkerti állatokban is.

A fertőző szivacsos agylágyulás első tünetei között található a progresszív demencia és az ataxia, ezzel egyidejűleg az agy szivacsos degenerációja figyelhető meg, emellett a prion protein abnormális, proteáz rezisztens formájának (Pr^{Prez}) akkumulációja is tetten érhető a központi idegrendszerben. (A normális, sejtes fehérje alakot Pr^{PC} –nek nevezik.) A tünetek első megjelenését követően a betegség lefolyása drámaian gyors lehet, ami elkerülhetetlenül az érintett beteg halálához vezet. Sajnos a betegségnek sem megfelelő diagnosztikája, sem hatékony terápiája nem ismert.

Kidolgozható témakörök:

10.1. A prion fehérje szerepe, hatás mechanizmusa a fertőző szivacsos agysorvadásos betegségeken

Témavezető: Dr. Welker Ervin PhD, tudományos tanácsadó, MTA SZBK Biokémiai Intézet (Tel: 62/599-631, 30/415-8500, e-mail: welker.ervin@brc.mta.hu)

Kutatómunkánk célja, hogy felderítsük, hogy a prion fehérjének milyen szerepe van a betegség során bekövetkező apoptotikus idegsejt pusztulásban, ami végül is a beteg halálához vezet.

10.2.A prion fehérje proteáz-rezisztens konformációjának és a konformációs átalakulás mechanizmusának tanulmányozása.

Témavezető: Dr. Welker Ervin PhD, tudományos tanácsadó, MTA SZBK Biokémiai Intézet (Tel: 62/599-631, 30/415-8500, e-mail: welker.ervin@brc.mta.hu)

Kutatómunkánk célja, a betegség központi eseményeként számotartott PrPrez akkumuláció, konformációs átalakulási folyamatnak a megértése és ennek a proteáz-rezisztens abnormális prion fehérje konformációnak a tanulmányozása.

10.3.A prion fehérjecsalád normál körülmények között betöltött szerepének vizsgálata sejtvonalakon: rekombináns fehérjék sejtmembránba való juttatásával és a kötőpartnerek beazonosításával.

Témavezető: Dr. Ayaydin-Fodor Elfrieda PhD, tudományos munkatárs, MTA SZBK Biokémiai Intézet (Tel: 62/599-631, e-mail: fodor.elfrieda@brc.mta.hu)

A fertőző szivacsos agysorvadás betegségei (TSE vagy prion betegségek) úgy nevezett konformációs betegségek melyek kialakulásért a natív prion fehérje harmadlagos szerkezetének (konformációjának) megváltozása és a konformációváltozás sejten/szerven belüli terjedése a felelős. A prion fehérje legfőképpen az agyban van jelen, a sejteken belül pedig a plazma membrán külső féltekébe ágyazódik egy glikozil-foszfatidilinozitol lipid horgony által. A prion betegségek jelenleg nem gyógyíthatóak. Ennek egyik oka az, hogy a sejtekben jelen lévő natív, helyes konformációjú prion fehérje pontos szerepe nem ismert eléggé.

Célunk, hogy a prion fehérje valamint a prion fehérjecsalád nemrég felfedezett további tagjainak funkcióját és egymáshoz való viszonyát vizsgáljuk in vivo emlős sejtkultúrákban, a fehérje kölcsönható partnereinek azonosításán keresztül. Ehhez részben egy módszer fejlesztésén dolgozunk, ami lehetővé kívánja tenni, hogy tetszés szerint módosított rekombináns fehérjéket juttassunk be sejtek plazmamembránjába, majd ezeket kovalensen kereszt kössük a kölcsönható partnerekkel. A keresztköttést a fehérje szekvenciájába genetikai úton célzott pozíciókba beépített erre alkalmas, módosított aminosavak segítségével hozzuk létre, így a fehérje kötőhelye is feltérképezhető. A megkötött fehérjepartnereket tisztítás után azonosítani kívánjuk. Párhuzamosan, más megközelítést is alkalmazunk a kölcsönható partnereinek keresésére, ami jelpeptid-fehérje fúziós DNS konstrukciók sejtbe juttatásán alapszik majd az expresszált fehérjék kötőpartnereikkel alkotott komplexeinek tisztításán és beazonosításán.

A fenti vizsgálatokhoz főként biokémiai, molekuláris biológiai, E. coli rendszerben történő rekombináns fehérje előállítás, sejtbiológiai módszereket valamint, mikroszkópos (fluoreszcens és konfokális) technikákat alkalmazunk.

11.TUMORIMMUNOLÓGIA

Mai ismereteink szerint az immunrendszer sokrétű szerepet játszik a rosszindulatú daganatok kialakulásában és regressziójában. Régóta ismert, hogy az immunrendszer képes lehet malignusan transzformált sejtek eltávolítására (immune surveillance), ez a tulajdonsága ki is használható tumorelleses vakcinálás során.

A daganatok ugyanakkor képesek lehetnek az immunrendszer leállítására vagy átprogramozására, ilyenkor a tumorban jelenlevő immunsejtek növekedési faktorok termelése vagy angiogene zis indukciója révén segíthetik is a tumornövekedést. Számos tumorellenes gyógyszer immunmoduláló hatással is rendelkezik, így hatásmechanizmusuk rendkívül komplex lehet.

11.1. Új tumorellenes immunválasz és immunmoduláló gyógyszerjelöltek és kezelési protokollok kidolgozása

Témavezető: Dr. Vizler Csaba PhD, tudományos főmunkatárs, MTA SZBK Biokémiai Intézet, Tumorimmunológiai és Farmakológiai Csoport (Tel: 62/599-649, e-mail: vizler.csaba@brc.mta.hu)

11.2. A tumorellenes immunválasz és a tumorok okozta immunszuppresszió vizsgálata állatmodellekben és sejt kultúrában

Témavezető: Dr. Vizler Csaba PhD, tudományos főmunkatárs, MTA SZBK Biokémiai Intézet (Tel: 62/599-649, e-mail: vizler.csaba@brc.mta.hu)

12. ÚJSZERŰ GYÓGYSZER-CÉLPONT FEHÉRJÉK KARAKTERIZÁLÁSA A MALÁRIA ELLENI KÜZDELEMBEN

Témavezető: Dr. Vértessy Beáta DSc, MTA Természettudományi Kutatóközpont Enzimológiai Intézet, 1117 Budapest, Magyar tudósok körútja 2. (Tel: 1/3826707, 1/463 1401, e-mail: vertessy.beata@ttk.mta.hu)

A kiterjedt és aktív kutatások ellenére, a malária továbbra is korunk egyik legfenyegetőbb fertőző betegsége. A kór okozói Plasmodium fajok, közülük a Plasmodium falciparum a legveszélyesebb. A multirezisztens törzsek terjedése egyre inkább sürgeti új fehérje célpontok azonosítását és ezek ellen újszerű hatóanyagok fejlesztését. A jelen PhD kutatási téma a Plasmodium egyes kiemelt jelentőségű enzimjeink karakterizálását célozza. Ezen belül a foszfolipid bioszintézis és a genomi integritásért felelős enzimek jellemzésére kerülhet majd sor.

A PhD téma kidolgozásában sor kerül majd a kiválasztott célfehérje klónozására, megfelelő gazdaszervezetben való termelésére, majd kinyerésére és tisztítására. A célfehérje kezdeti karakterizálása során azonosított eredmények függvényében célzott helyspecifikus mutációk tervezésére és kivitelezésére is sor kerül. A PhD hallgató a vad típusú és a mutáns enzimkonstruktokat a modern szerkezeti biológia, biokémia és biofizika módszereivel fogja jellemezni (fehérjeszerkezet és ligandum kötés vizsgálata oldatfázisban differenciális cirkuláris dikroizmus, fluoreszcencia spektroszkópiával, izotermális titráló mikrokolorimetriával, kristályosítás, és a kristályok röntgendifrakciós analízise, a térszerkezet vizsgálata). Az enzimműködést steady-state és tranziens enzimkinetikával fogjuk jellemezni. A fehérje sejtbeli funkciójának vizsgálatára is sor kerülhet (eukarióta sejtek transzfektálása, a fehérje konstruktok sejtbeli kompartmentalizációjának vizsgálata epifluoreszcens és konfokális mikroszkópiával). Az eredmények közlésében a PhD diák részt vállal majd konferencia posztterek és szóbeli előadások, továbbá folyóiratcikkek összeállításában.

13.1. EXCIPIENSEK SZEREPE A GYÓGYSZEREK FELSZÍVÓDÁSÁNAK HATÉKONYABBÁ TÉTELÉBEN

Témavezető: Dr. Krajcsi Péter PhD, Solvo Zrt. Tel: 23/503-940, e-mail: krajcsi@solvo.com

A segédanyagok fontos alkotói minden gyógyszerformulának. Az újabb adatok szerint a segédanyagok jelentősen modulálják a hatóanyag felszívódását. A hatások egy részét a membrán transzporterek közvetlenül mediálják. A különböző típusú segédanyagok efflux és influx transzporterekre kifejtett hatásait vizsgáljuk sejtes és membrán esszékben. Megpróbáljuk abszorpció maximalizálására optimalizálni a különböző segédanyag kombinációkat.

13.2. AZ ABC TRANSPORTEREK SZEREPE A GYÓGYSZEREK FARMAKOKINETIKÁJÁBAN – IN VITRO TESZTEK

Témavezető: Dr. Krajcsi Péter PhD, Solvo Zrt. Tel: 23/503-940, e-mail: krajcsi@solvo.com

Azzal, hogy a gyógyszerkutatás folyamatában a gyógyszerek farmakokinetikai / ADME (abszorpció-diszpozíció-metabolizmus-exkréció) tulajdonságainak vizsgálata egyre korábbi fázisba kerül a nagy áteresztőképességű in vitro módszerek szerepe megnőtt. A módszereknek két csoportja létezik: membrán esszék (ATPáz, vezikuláris transzport) és sejtes esszék (felvételi és vektorális transzport). Ezen módszer korrelációs analízisét tervezzük elvégezni, hogy az egyes módszerek felhasználhatóságát és limitációit megértsük.

14. MOLEKULÁRIS ÉS SEJTBIOLÓGIA

(Prof. Dr. Szabad János, Dr. Boldogkői Zsolt, Dr. Seprényi György)

14.1. Petesejt/spermium kölcsönhatás molekuláris genetikája Drosophilában

Témavezető: Prof. Dr. Szabad János egyetemi tanár SZTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézet 6720, Szeged, Somogyi B. u. 4. Tel: 62/545-132 e-mail: szabad@sb4.szote.u-szeged.hu

Az anyai hatás azt jelenti, hogy az oogenezis folyamán a petesejtek citoplazmájába olyan tényezők kerülnek, amelyek elsősorban az embriogenezis kezdeti lépéseit irányítják. A tényezők egyike-másika a megtermékenyülést követően az embriogenezis elkezdődéséhez szükséges. Mikor, és hol képződnek az anyai hatás mediátorai? Hogyan válnak a petesejtek citoplazmájának részévé? Mi a tényezők szerepe az embriogenezis elkezdődésében? Az Orvosi Biológiai Intézet munkatársai a fenti kérdések megválaszolásán dolgoznak. A nőstények sterilizációját okozó (*fs*) mutációkkal a muslica (*Drosophila melanogaster*) olyan génjeit azonosítottuk, amelyek funkciója szükséges az embriogenezis elkezdődéséhez. A mutáns nőstények sterilek: tőlük olyan normális küllemű peték származnak, amelyek bár megtermékenyülnek, nem kezdődik el bennük az embriogenezis. *Genetikai, molekuláris és sejtbiológiai módszerek kombinációjával az fs mutációkkal azonosított gének funkcióját reméljük megérteni.* Egy-egy gén olyan, mint valamely kirakójáték egy darabkája. Az egyes elemek „kirakásával” *reméljük megérteni az embriogenezis folyamatát.* A tájékoztató összeállításakor négy gén funkciójának megértésén dolgozunk.

1. A *Tomaj* mutáns allélok az α -tubulin gének egyikét azonosítják. Megállapítottuk, hogy az ép *Tomaj* gén funkciója (i) a spermium aszter képződéséhez, valamint (ii) a leány centroszómák szegregációjához szükséges
2. A *Ketel* gén funkciója (i) a sejtmagba történő fehérje importhoz, valamint (ii) a sejtmaghártya pórus komplex valamint a sejtmaghártya képződéséhez szükséges.
3. A *Laborc* gén a citoplazmatikus dinein nehéz láncát (*Dhc*) kódolja. A *Dhc* annak a dinein fehérje komplexnek az alkotója, amely mechanoenzimként (motor molekulaként) a citoplazmában történő anyagszállítás egyik komponense.

4. A *Horka* gén funkcióját még nem ismerjük. Valószínű, hogy a kromoszóma szegregáció és/vagy stabilitás egyik komponense, mivel a *Horka^D* allél abnormalis kromoszóma szegregációt eredményez.

Kutatásaink egy részét G. Reuter (Halle, Németország) illetve Dr. Casanova professzor (Barcelona, Spanyolország) csoportjával közösen folytatjuk.

14.2. Szemikvantitatív elemzési módszerek a konfokális mikroszkópiában és fehérje mennyiségi meghatározásban

Témavezető: Dr. Seprényi György egyetemi adjunktus, SZTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézet 6720, Szeged, Somogyi B. u. 4. Tel: 62/544-930 e-mail: george@sb4.szote.u-szeged.hu

A szívizomsejtek csatorna fehérjéinek szemikvantitatív mennyiségi meghatározását célzó képanalízis módszerek kidolgozása és alkalmazása a konfokális mikroszkópos vizsgálatokban. Az izolált csatorna fehérjék analízis módszerei Western-blottos gélek alapján. Kooperációs munkán belül a téma az SZTE ÁOK Farmakológia és Farmakoterápiai Intézetében, Dr. Végh Ágnes „Endogén protektív hatású anyagok szerepe a szív pathológiás állapotaiban” című témájához szorosan társul, valamint a Farmakológia és Farmakoterápiai Intézet további ioncsatorna vizsgálatokat célzó témáihoz társul.

14.3. Kálium csatorna funkció molekuláris biológiája szívsejtekben

Témavezető: Dr. Boldogkői Zsolt tanszékvezető egyetemi tanár (Tel: 62/545-595, fax:62/545- 131, e-mail: boldog@sb4.szote.u-szeged.hu)

RNS interferencia segítségével Kálium csatorna gének szabályozását végezzük.

14.4. Intelligens vírusvektorok génbevételre

Témavezető: Dr. Boldogkői Zsolt tanszékvezető egyetemi tanár (Tel: 62/545-595, fax:62/545- 131, e-mail: boldog@sb4.szote.u-szeged.hu)

Genetikailag módosított herpeszvírusok alkalmazása az agykutatásban idegsejtek jelölésére és fluoreszcens markerek bevitelére. Feladat: ezeknek a vírusoknak az előállítás és tesztelése.

15. BIOFIZIKA

A Biofizika kutatási témák szolubilis és membránfehérjék molekuláris szintű működésével, illetve sejméretű objektumok modern optikai eljárásokon alapuló manipulálásával kapcsolatosak. A biológiai energiaátalakításban, elektrontranszfer és iontranszport folyamatokban részt vevő fehérjék vizsgálatát spektroszkópiai és elektrokémiai módszerek széles repertoárjával végezzük. A transzmembrán ionpumpák prototípusát jelentő bakteriorodopszin fehérje vizsgálatait egyrészt a transzportfolyamat során lezajló molekuláris események jellemzése céljából, másrészt a fehérje biofotonikai és optoelektronikai felhasználásának kidolgozása céljából végezzük. A bakteriorodopszin, a fényenergiát elektrokémiai potenciállá alakító legegyszerűbb ismert fehérje-festék komplex a *Halobacterium salinarum* sejtmembránjának alkotóeleme. Különleges nemlineáris optikai tulajdonságai tehetik alkalmassá például fényrel vezérelt fénykapcsolók „lab-on-a-chip” szintű prototípusainak kidolgozására. A redox reakciókban részt vevő enzimek (pl. citokrómok, hidrogenázok) a sejtek redox homeosztázisának fenntartásában, továbbá számos biokémiai folyamat katalízisében játszanak döntő szerepet. A transzmembrán ATP-ázok, ezen belül az általunk is vizsgált vakuoláris proton-ATP-áz fehérje forgó molekuláris motorként

működve ionkoncentráció-grádiens épít fel a membrán két oldala között az ATP bontásából származó energia felhasználásával. A biológiai membránok két fontos összetevőjének, a lipideknek és a membránfehérjéknek molekulaszervezeti és dinamikai vizsgálatára, valamint a kétféle molekula kölcsönhatásainak tanulmányozására több szelektív spektroszkópai módszert alkalmazunk, mint a Fourier transzformációs infravörös vibrációs spektroszkópia, a rezonancia Raman szórás és a spin jelző EPR spektroszkópia, melyeket kiegészít a számítógépen végzett kvantumkémiai és molekulamechanikai modellezés. A modern mikroszkópos munkaállomásokra épített lézercsipesz-módszer lehetőséget teremt mikroszkopikus objektumok (pl. sejtek, sejtalkotórészek vagy óriásmolekulák) egyedi vizsgálatára vagy manipulálására, erő, forgatónyomaték molekuláris méretekben történő mérésére.

Kidolgozható témakörök:

15.1. Szupramolekuláris struktúrák fizikai kölcsönhatásai

Témavezető: **Dr. Dér András DSc**, tudományos tanácsadó MTA SZBK Biofizikai Intézet Biomolekuláris Elektronika Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-606 e-mail: der.andras@brc.mta.hu http://www.brc.mta.hu/biophys_biomolecular_electronics.php)

Célunk a membránok főbb fizikai kölcsönhatásainak feltérképezése a szupramolekuláris struktúrák szintjéhez rendelhető mezoszkopikus skálán. Modellrendszerünk a bioenergetika alapobjektuma, a bakteriorodopszin-tartalmú bíbormembrán, a kísérleti módszerek pedig főként fotoelektromos és integrált optikai technikák, valamint atomerőmikroszkópia. A kutatási eredmények bioelektronikai (szenzorikai) alkalmazását is tervezzük.

15.2. Citokróm b561 fehérjék és pontmutációik előállítás, tisztítása és funkcionális jellemzése

Témavezető: **Dr. Zimányi László DSc**, tudományos tanácsadó MTA SZBK Biofizikai Intézet (Tel: 62/599-607 e-mail: zimanyi.laszlo@brc.mta.hu),
társ-témavezető: **Dr. Bérczi Alajos, DSc**, tudományos tanácsadó MTA SZBK Biofizikai Intézet Redox Membránfehérjék Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-617 e-mail: berczi.alajos@brc.mta.hu)

A citokróm b561 fehérjecsald tagjai aszkorbát-redukálható, 6 transzmembrán alfa hélixet tartalmazó integráns membránfehérjék, melyek két, az átellenes membránfelszínekhez közeli b típusú hem felhasználásával elektront transzportálnak a membrán két oldala között. A fehérjecsald egyetlen tagját sikerült csak a mellékvesevelőből izolálni (kromaffin granula citokróm b561), a többi fehérjét heterológ expresszióval (élesztőben vagy E. coliban) állítják elő. Egyes esetekben a funkció sem ismert, de valószínűsíthető, hogy ezek a fehérjék mindig az aszkorbát és/vagy vas metabolizmusban játszanak szerepet. A doktorandusz feladata elsősorban két új citokróm b561, a Cyb561d1 és a tumor szuppresszor hatást mutató Cyb561d2 vad típusának és pontmutációinak heterológ expressziója, tisztítása és jellemzése. Vizsgálnia kell a szubsztrátkötő helyek specificitását és erősségét, a két hem redox aktivitását, ezek kölcsönhatását, elsősorban spektroszkópai és elektrokémiai módszerekkel. Erősen konzervált aminosavak pontmutációjával meg kell értenie ezek szerepét a citokróm b561 fehérjék működésében.

15.3. Transzmembrán elektrontranszfer, mint a citokróm b561 fehérjék biológiai aktivitásának alapja

Témavezető: **Dr. Zimányi László DSc**, tudományos tanácsadó MTA SZBK Biofizikai Intézet Fehérje Biofizika Kutatócsoport (Tel: 62/599-607 e-mail: zimanyi.laszlo@brc.mta.hu), társ-témavezető: **Dr. Bérczi Alajos, DSc**, tudományos tanácsadó MTA SZBK Biofizikai Intézet Redox Membránfehérjék Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-617 e-mail: berczi.alajos@brc.mta.hu)

Az aszkorbát, a sejtek redox szabályozásának egyik legfontosabb eleme egyben elektronforrás a két hemet tartalmazó és transzmembrán elektrontranszfert végző citokróom b561 (CYB561) fehérjék számára is. A CYB561-ek mind növényekben, mind állatokban gyakoriak, és a legkülönbözőbb szervekben és sejtekben fordulnak elő. Részt vesznek a neurotranszmitterek szintézisében, a transzmembrán vasfelvétel előtti vas(III)-redukcióban, és egyes CYB561-ek a daganatok továbbfejlődésének megállításában. Az első nagyfelbontású röntgenkrisztallográfiás szerkezet egy növényi plazmamembrán citokróom b561-ről a 2013-as év végén jelent meg. Ezen szerkezet alapjául szolgálhat a fehérjecsalád többi tagjának és az elektrontranszfer mechanizmusának a jobb megismeréséhez is. A doktorandusznak különböző spektroszkópiai módszerekkel, pl. kinetikus abszorpciós és Fourier transzformációs infravörös spektroszkópiával kell jellemeznie elsősorban a Cyb561d1 és a tumor szuppresszor hatást mutató Cyb561d2 fehérjék vad típusának és pontmutánsainak elektrontranszfer aktivitását. Vizsgálnia kell az elektrontranszferhez kapcsolt protontranszfer mechanizmus lehetőségét. Molekulamodellzés, molekuladinamika és elektrontranszfer-számítások segítségével kell értelmeznie a kapott vagy irodalomban fellelhető kísérleti eredményeket. Amennyiben sikerül elegendő mennyiségű tiszta fehérjét előállítani, megkísérelheti más CYB561 fehérjék kristályosítását és szerkezetük meghatározását is.

15.4. Fémtartalmú fehérjék működése és szerkezete

Témavezető: **Dr. Bagyinka Csaba DSc**, MTA SZBK Biofizikai Intézet, Molekuláris, Szubcelluláris és Mikrobiológiai Biofizika Kutatóegység - Szolubilis Redoxfehérjék Kutatócsoport, 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. Tel: 62/599-605, e-mail: bagyinka.csaba@brc.mta.hu)

Bakteriális citokróomok, kék rézfehérjék, hidrogenázok és egyéb, baktériumokban előforduló fémtartalmú fehérjék szerkezetének vizsgálata spektroszkópiai és biokémiai módszerekkel, ugyanezen fehérjék kristályosítása, reakciókinetikák, redox reakciók mérése, fehérjeszerkezeti és reakciókinetikai modellszámítások.

15.5. Autokatalitikus enzimreakció tanulmányozása hidrogenáz enzimen

Témavezető: **Dr. Bagyinka Csaba DSc**, MTA SZBK Biofizikai Intézet, 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. Tel: 62/599-605, e-mail: bagyinka.csaba@brc.mta.hu, http://www.brc.mta.hu/biophys_soluble_redox_proteins.php)

A hidrogenáz autokatalitikus és oszcilláló reakcióinak tanulmányozása, modellezése. Alapvető fontosságú a fehérje előállítása, tisztítása. A mért kísérleti eredmények modellbe foglalása. Az ideális jelölt ismeri baktériumok nevelésének módját, a különböző fehérjetisztítási módszereket, képes matematikai modelleket felállítani, azokat megoldani és paramétereit meghatározni a kísérleti eredmények alapján.

15.6. Optikai mikromanipuláció a biológiában

Témavezető: **Dr. Ormos Pál DSc**, intézet igazgató, akadémikus, MTA SZBK Biofizikai Intézet Optikai Mikromanipuláció Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-769, 599-613 e-mail: ormos.pal@brc.mta.hu, http://www.brc.mta.hu/biophys_optical_micromanipulation.php)

Az optikai mikromanipuláció lehetőséget nyújt biológiai objektumok (óriásmolekulák, sejtek, stb.) egyedi manipulálására. E mikromanipulációs eljárás fejlesztésével és biológiai alkalmazásával foglalkozunk. Az eljárás lehetőségeinek általunk művelt bővítése azon alapszik, hogy speciális alakú testek alkalmazásával újszerű manipulációs lehetőségek valósíthatók meg. Lézeres fotopolimerizációval tetszőleges alakú mikroszkopikus struktúrákat állítunk elő, ezeket fénnel mozgatjuk, és biológiai rendszerek mechanikai manipulálására használjuk őket. Jelenlegi kutatási irányok:

- DNS molekulák torziós tulajdonságai, illetve ezzel kapcsolatos fehérje-DNS kölcsönhatások.
- Sejtek háromdimenziós manipulálása optikai úton tartószerkezetekkel.
- Fluoreszcencia és Raman spektroszkópia plazmonikus gerjesztése optikailag mozgatott struktúrákkal

15.7. Biofizikai és biokémiai mérések élesztő vakuólum membránokon

Témavezető: Dr. Páli Tibor DSc., MTA SZBK Biofizikai Intézet Molekuláris, Szubcelluláris és Mikrobiológiai Biofizika Kutatóegység - Membrán Biofizika Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-603 e-mail: pali.tibor@brc.mta.hu)

A projekt célja a vakuólum membránokban zajló ATP függő proton pumpálással, azaz a V-ATPáz membránfehérje biokémiai funkciójával kapcsolatos adatok gyűjtése spektroszkópai módszerekkel. Vizsgáljuk, hogy az ATP hidrolízis és a proton mozgatás hogyan függ a membrán fizikai állapotától, külső feltételektől (hőmérséklet, oszcilláló elektromos tér), valamint a V-ATPázhoz nem kovalensen kötődő gátlóanyagoktól. Ezek a mérések adatokat szolgáltatnak ennek a protont szállító molekuláris motor működésének és biológiai szabályzásának jobb megértéséhez.

15.8. Biofizikai és biokémiai mérések a vakuláris proton-ATPázon

Témavezető: Dr. Páli Tibor DSc., MTA SZBK Biofizikai Intézet Molekuláris, Szubcelluláris és Mikrobiológiai Biofizika Kutatóegység - Membrán Biofizika Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-603 e-mail: pali.tibor@brc.mta.hu), társ-témavezető: Dr. Kóta Zoltán PhD, MTA SZBK Biofizikai Intézet Szubcelluláris és Mikrobiológiai Biofizika Kutatóegység Membrán Biofizika Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-660 e-mail: kota.zoltan@brc.mta.hu)

A projekt célja a vakuláris proton-ATPáz szerkezetének és működésének jobb megértése. A fehérjét és alegységeit élesztő vakuólum membránokból izoláljuk, majd mesterséges lipid membránba építjük. Spektroszkópiára alapozott szerkezetbiológiai módszerekkel vizsgáljuk, hogy a teljes fehérje és izolált alegységei hogyan épülnek mesterséges lipid membránba és abban képesek-e funkcionális összerendezésre.

15.9. Fehérjék gombolyodása és szerveződése biomembránokban

Témavezető: Dr. Páli Tibor DSc., MTA SZBK Biofizikai Intézet Molekuláris, Szubcelluláris és Mikrobiológiai Biofizika Kutatóegység - Membrán Biofizika Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-603 e-mail: pali.tibor@brc.mta.hu), társ-témavezető: Dr. Kóta Zoltán PhD, MTA SZBK Biofizikai Intézet Szubcelluláris és Mikrobiológiai Biofizika Kutatóegység Membrán Biofizika Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-660 e-mail: kota.zoltan@brc.mta.hu)

A membránfehérjék működése függ a hozzájuk nem kovalensen kötődő lipidektől is. A membránfehérjék és lipidek szerkezetileg és dinamikailag is csatolódnak közös határfelületükön. Azt vizsgáljuk, hogy a membránba beépülő vagy annak felszínére kötődő fehérjék gombolyodását és szerveződését hogyan befolyásolja a membránok kémiai

összetétele és fizikai állapota. Ezt egyrészt spektroszkópiára alapozott szerkezetbiológiai módszereinkkel kísérleti úton tanulmányozzuk, másrészt modell számításokat végzünk.

15.10. Az emberi szervezetbe jutó szabadgyökök, gyökfogók vizsgálata

Témavezető: Dr. Páli Tibor DSc., MTA SZBK Biofizikai Intézet Molekuláris, Szubcelluláris és Mikrobiológiai Biofizika Kutatóegység - Membrán Biofizika Kutatócsoport 6726 Szeged, Temesvári krt. 62. (Tel: 62/599-603 e-mail: pali.tibor@brc.mta.hu, http://www.brc.mta.hu/biophys_membrane_biophysics.php)

Az elektron paramágneses rezonancia (EPR) spektroszkópia a legalkalmasabb és legelterjedtebb technika szabadgyökök detektálására. Ebben a projektben az emberi szervezetbe a táp- és légcsatornán bejutó szabadgyököket kívánjuk mérni. Az összehasonlító vizsgálatokat elsősorban szilárd élelmiszereken és gázokon (cigarettafüst, kipufogó gázok) kívánjuk elvégezni, ipari alkalmazási lehetőségek feltárása érdekében.

15.11. Baktériumpopulációk vizsgálata mikrofluidikai módszerekkel

Témavezető: Dr. Galajda Péter PhD, tudományos főmunkatárs, MTA SZBK Biofizikai Intézet Sejtbiofizika Kutatócsoport (Tel: 62/599-668, e-mail: galajda.peter@brc.mta.hu, http://www.brc.mta.hu/biophys_cell_biophysics.php)

Számos baktériumokkal kapcsolatos jelenség csak a populáció szintjén figyelhető meg. Ilyenek például a quorum érzékelés, a rajzás, illetve a biofilm kialakulása. A mikrofluidika technológiája alkalmas arra, hogy pontosan tervezett, meghatározott fizikai és biológiai környezetet biztosítsunk baktériumpopulációk számára. Ez olyan jelenségek tanulmányozását és olyan kísérletek elvégzését teszi lehetővé, melyekre más, hagyományos módszerek kevésbé alkalmasak.

Kutatásaink során vizsgáljuk: a környezet fizikai és (bio)kémiai jellemzőinek hatását a populációdinamikára és a baktériumok térbeli eloszlására (mesterséges, illetve a sejtek által generált koncentráció gradiensek hatása), a sejtek kemotaxisát, a sejt-sejt kommunikáció jellemzőit, valamint, fizikailag szeparált, de biokémiai kapcsolatban levő baktériumpopulációk kölcsönhatását. Ezenkívül a hosszabb időskálán végzett kísérletekben a mikrotechnológiával kialakított környezeti jellemzők evolúciós folyamatokban játszott szerepét is kutatjuk.

15.12. A bakteriális sejtciklus és fenotípus jellemzők sejtszintű vizsgálata mikromanipulációs és mikrofluidikai módszerekkel

Témavezető: Dr. Galajda Péter PhD, tudományos főmunkatárs, MTA SZBK Biofizikai Intézet Sejtbiofizika Kutatócsoport (Tel: 62/599-668, e-mail: galajda.peter@brc.mta.hu, http://www.brc.mta.hu/biophys_cell_biophysics.php)

Kutatásunk során olyan, az optikai mikromanipuláción (lézercsipesz) és a mikrofluidikán alapuló módszerek kifejlesztésén dolgozunk, melyek lehetővé teszik a baktériumok sejtciklusának, illetve különböző fenotípus jellemzőinek hosszú távú, számos generáción keresztül történő megfigyelését. Az említett mérhető paramétereket a minden egyes sejt esetén a kísérletekből megállapítható leszármazási viszonyok figyelembevételével analizáljuk. Így nem csak (az akár egyetlen sejtől kialakuló) klonális populációkban megfigyelhető fenotípus heterogenitás megjelenését és jellemzőit vizsgálhatjuk, de akár a baktériumokra alkalmazható, a tudományterületen újonnan megjelent sejt-öregedési koncepciókat és elméleteket is ellenőrizhetjük.

18. MOLEKULÁRIS HISZTO- ÉS CYTODIAGNOSZTIKA

18.1. DIREKT SEJT-SEJT KOMMUNIKÁCIÓ ÉP, REGENERÁLÓDÓ ÉS KÓROS SZÖVETEKBEN

Témavezető: Dr. Krenács Tibor PhD egyetemi docens SE I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet 1085 Üllői út 26., Tel: +36 1 215-7300/4440, 20/825-9700, e-mail: krenacst@gmail.com)

A “gap junction”-ok (rés junkciók) sejtmembrán csatornák aggregátumai, melyeken keresztül ionok és kis molekulatömegű hidrophil metabolitok, így pl. másodlagos hírvivők, direkt közlekedhetnek a kapcsolt sejtek citoplazmái között. Az eltérő connexin izoformák által képzett csatornák szelektív áteresztőképességgel rendelkeznek. Az így megvalósuló direkt sejt-sejt kommunikációnak bizonyítottan szerepe van a sejtnövekedés és differenciáció szabályozásában, valamint kontraktilis szövetekben (szívizom, uterus szüléskor) az akciós potenciál gyors és szinkron tovaterjedésében. E kommunikációs út károsodását igazolták számos betegségben és a tumorképződés kapcsán.

-Eddigi vizsgálatainkban a direkt sejt-sejt kommunikáció szerepét igazoltuk a lymphoreticularis rendszerben, csontvelő regeneráció és a humorális immunválasz kapcsán. Itt további vizsgálataink a *gap junction expresszió kóros körülmények közötti tanulmányozására* irányul, pl. különböző lymphoma típusokban, ami közvetve tovább tisztázhatja szerepüket.

-A direkt-sejtkommunikáció a többrétegű hámot alkotó sejtek funkcióinak összehangolásában is feltehetően szerepet játszik. Ezt az *emberi cornea ontogenezise és nyúl cornea lézer ablációját követő regeneráció során vizsgáljuk az adhéziós sejt kapcsolatokkal együtt.*

-Myoblast tenyészetben a direkt sejtkommunikáció blokkja gátolja fontos myogenikus faktorok termelését. *Regenerálódó izomban vizsgálni kívánjuk a connexin izoformák megjelenését és eloszlását az izomregeneráció és differenciálódás során.*

-Elővizsgálataink eddig még nem észlelt connexin izoformák nagyszámú jelenlétét igazolták humán és rágcsáló vese glomerularis érrendszerében, ami felveti a direkt sejt-kommunikáció szerepét a filtráció szabályozásában. *A connexin izoformák megoszlását és szerepét ép és kóros vesékben kívánjuk tanulmányozni.*

Kutatási témák:

1. Óriássejtes csonttumor progressziója
2. Direkt sejt-kommunikáció daganatokban
3. Kollagén XVII fehérje melanomákban
4. Digitális mikroszkópia, szöveti mikro-array és mennyiségi képanalízis

18.2. AZ IMMUNSZUPRESSZIV MIKROKÖRNYEZET SZEREPE A MALIGNUS DAGANATOK KIALAKULÁSÁBAN

Témavezető: Dr. habil.Krenács László DSc., T-sejt Orvosdiagnosztikai Kft.,
Daganatpatológiai és Molekuláris Diagnosztikai Laboratórium,
Tel/Fax: 62-592-549, mobil: 20-9159-069, e-mail: krenacsl@vipmail.hu, t-sejt@invitel.hu

A kutatás célja egyes lymphoreticularis és solid tumorok immunológiai, immungenetikai elemzése a patogenezisben szerepet játszó, e daganatok immunprivilegiumát biztosító faktorok feltárása érdekében. A kutatás során perifériás T-sejtes lymphomák, Hodgkin lymphomák, melanomák, egyes gliomák és emlőrákok részletes immunológiai és molekuláris patológiai elemzését végezzük majd el a daganatsejtek és a daganatos mikrokörnyezet, illetve a daganatsejtek és a daganatot övező stroma közötti kommunikáció feltárása érdekében, a

daganatok növekedését kedvezően és kedvezőtlenül befolyásoló hatások felderítése érdekében.

A kutatási projekt végrehajtása során tervezett vizsgálati módszerek:

- Immunhisztokémia
- In situ hibridizáció
- Polimeráz láncreakció
- Klónozás
- Sejttenyésztés

3. A II. SZ. DOKTORI KÉPZÉSI PROGRAM TANULMÁNYI ÉS VIZSGARENDJE

A II. sz képzési program, Biofizika, Biokémia, Molekuláris és Sejtbiológia, keretében a Szegedi Tudományegyetem doktori szabályzatának megfelelően, a tanulmányi és vizsgarend az alábbiak szerint alakul.

A felvételt nyert ösztöndíjas hallgatók a képzés három éve alatt kötelesek félévenként 14 hetes, legalább heti 2 órás elméleti képzésen részt venni és a tanultakból vizsgát tenni.

A vizsga formája írásbeli dolgozat, szóbeli beszámoló, kiselőadás, összefoglaló referátum, vagy kutatási tématerv-pályázat elkészítése lehet. A teljesítmény értékelése öt illetve háromfokozatú rendszerben történik.

A hallgatók részére **kötelező alaptantárgyak**, az Egyetem többi doktori iskolájával közös szervezésben

1. Könyvtári alapismeretek (I. félévben)

Óraszám: 30 óra.

Vizsgaforma: beszámoló

2. Számítógépes alapismeretek (II. félév)

Óraszám: 30 óra.

Vizsgaforma: beszámoló

3. A tudományos kutatás etikai kérdései (II. félév)

Óraszám: 10 óra.

Vizsgaforma: beszámoló

4. Publikációs ismeretek, a tudományos közlés módszertana (II. félév)

Óraszám: 6 óra.

Vizsgaforma: beszámoló

A Képzési programba felvett hallgatók számára **kötelező elméleti kurzusok**: (Ezen kurzusok közül minden félévben egy kerül megszervezésre, a három kötelező kurzus folyamatosan követi egymást, a hallgatók első és második tanulmányi éve során alkalmuk nyílik mindhárom kurzus elvégzésére és a vizsga letételére)

1. Biofizika

Óraszám: 30 óra.

Vizsgaforma: beszámoló

2. Biokémia

Óraszám: 30 óra.

Vizsgaforma: beszámoló

3. Molekuláris és sejtbiológia

Óraszám: 30 óra.

Vizsgaforma: beszámoló

Szabadon választható elméleti és gyakorlati kurzusok felvételére és a vizsga letételére lehetőség van a hallgatók számára a Képzési programon belül az alábbi témákban

1. Iontranszportáló enzimek szerkezete és működése
Óraszám: 8 óra. Dr Dux László SZTE ÁOK Biokémiai Intézet
2. Transzkripciós faktorok a differenciálódásban és regenerációban
Óraszám: 8 óra Dr Zádor Ernő, Dr Mendler Luca SZTE ÁOK Biokémiai Intézet
3. Oxidatív stressz és adaptáció
Óraszám: 8 óra. Dr Ferdinandy Péter, Dr Csont Tamás, Dr Csonka Csaba SZTE ÁOK Biokémiai Intézet
4. Glykoproteinek és extracelluláris mátrix anyagai
Óraszám: 8 óra. Dr Keresztes Margit, Dr Keller-Pintér Anikó SZTE ÁOK Biokémiai intézet, Dr Kiss Ibolya, Dr Deák Ferenc MTA SZBK Biokémiai Intézet
5. Nukleáris transzport és génreguláció
Óraszám: 8 óra. Dr Szabad János SZTE ÁOK Orvosi Biológiai Intézet
6. Gap junction szerkezete és működése
Óraszám: 8 óra. Dr Krenács Tibor SE ÁOK I. sz Patológiai Intézet, Dr Görbe Anikó SZTE ÁOK Biokémiai Intézet
7. Membrán ESR spektroszkópia
Óraszám: 8 óra. Dr Páli Tibor MTA SZBK Biofizikai Intézet
8. Molekulaszerkezet modellezés
Óraszám: 8 óra. Dr Simon István MTA TTKI
9. Klinikai biokémiai vizsgálatok standardizálása, referencia anyagok, módszerek jellemzése
Óraszám: 8 óra. Dr Dux László SZTE ÁOK Biokémiai Intézet, Patricia Kaiser Instand ev.
10. Fehérje bioinformatikai eszközök alkalmazása a gyakorlatban - Dr. Dosztányi Zsuzsanna tudományos főmunkatárs, Budapest, MTA Enzimológiai Intézet
Óraszám: 10 óra

A kurzus célja alapvető fehérje bioinformatika módszerek bemutatása és alkalmazása. Az utóbbi években egyre nyilvánvalóbbá vált, hogy a fehérje szerkezet-funkció összefüggés jóval összetettebb, mint azt korábban gondolták. A fehérjék, különösen a sejt szabályozási folyamataiban részt vevő fehérjék nagyon gyakran modulárisak. Ennek a moduláris felépítésnek az összetevői globuláris domének mellett rendezetlen régiók, coiled-coiled szakaszok, lineáris motívumok is lehetnek. A kurzus során a hallgatók megismerkedhetnek azokkal az alapvető bioinformatikai eszközökkel, amelyekkel a fehérjék moduláris felépítése elemezhető és jósolható, a módszerek konkrét példákon való alkalmazás pedig segít az eredmények értő módon történő kiértékelésében. A kurzus során elsősorban a következő módszerek és adatbázisok kerülnek felhasználásra: CLUSTALX, BLAST, JalView, PFAM, ELM, STRING, IUPRED, PhosphoELM

Értékelés:

Beadandó feladat, két fehérje (egy szabadon választott, egy pedig egy előre meghatározott listából kiválasztott fehérje) minél teljesebb elemzése a kurzus során ismertetett módszerekkel.

A fenti kurzusokon kívül a hallgatóknak lehetőségük van az Egyetem más doktori iskoláiban, illetve más egyetemek doktori iskoláiban érdeklődésüknek megfelelő kurzusok felvételére és a vizsga letételére., amennyiben a fogadó intézmény illetve doktori iskolája hozzájárul. Hazai és nemzetközi szervezetek elméleti és gyakorlati kurzusain való eredményes igazolt részvétel, esetenkénti elbírálás alapján, szintén beszámítható a képzési program elméleti anyagába.