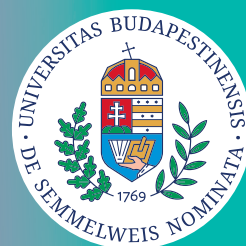


A **GRADUÁLIS ÉS POSZTGRADUÁLIS KÉPZÉS** folyóirata
Alapítva 1911-ben

ORVOS- KÉPZÉS



Semmelweis Egyetem
2022/2023. év
tudományos díjazottjainak
előadásai



FELELŐS SZERKESZTŐ

Merkely Béla
merkely.bela@kardio.sote.hu

FŐSZERKESZTŐ

Matolcsy András
matolcsy.andras@med.semmelweis-univ.hu

E SZÁM SZERKESZTŐJE

Matolcsy András
matolcsy.andras@med.semmelweis-univ.hu

SZERKESZTŐBIZOTTSÁG

Graduális képzés

Kellermayer Miklós
kellermayer.miklos@med.semmelweis-univ.hu

PhD-képzés

Benyó Zoltán
benyo.zoltan@med.semmelweis-univ.hu

Rezidens- és szakorvosképzés

Nyirády Péter
nyirady.peter@med.semmelweis-univ.hu

Tagok

Ács Nándor, Ádám Veronika, Banczerowski Péter, Bartha Károly, Bérczi Viktor, Bereczki Dániel, Bucsky Péter, Buzás Edit, Cseh Károly, Csermely Péter, Dobó Nagy Csaba, Dobozy Attila, Édes István, Fekete György, Karádi István, Ferdinandy Péter, Gerber Gábor, Hangody László, Harsányi László, Horkay Ferenc, Hunyady László, Igaz Péter, István Gábor, Kalabay László, Kárpáti Sarolta, Kásler Miklós, Keller Éva, Kivovics Péter, Kollai Márk, Kopper László, Ligeti Erzsébet, Kovács József, Lang György, Losonczy György, Mandl József, Márton Krisztina, Masszi Tamás, Máthé Zoltán, Molnár Mária Judit, Muszbek László, Nagy Zoltán Zsolt, Nardai Sándor, Nemes Attila, Németh János, Németh Zsolt, Noszál Béla, Palkovits Miklós, Papp Gyula, Papp Zoltán, Perczel-Forintos Dóra, Petrányi Győző, Polgár Csaba, Répássy Gábor, Réthelyi János, Réthelyi Miklós, Rosivall László, Rigó János, Sárdy Miklós, Sótónyi Péter, Szabó András, Szabó Attila, Szabó Dóra, Szathmári Miklós, Szendrői Miklós, Tamás László, Telegdy Gyula, Tímár József, Tompa Anna, Tordai Attila, Tóth Zsuzsanna, Tretter László, Tulassay Tivadar, Tulassay Zsolt, Varga Gábor, Vásárhelyi Barna, Vasas Livia, Zelles Tivadar, Windisch Péter

Az ORVOSKÉPZÉS megjelenik negyedévente. Megrendelhető a Kiadótól.

Szerzői jog és másolás: minden jog fenntartva. A folyóiratban valamennyi írásos és képi anyag közlési joga a szerkesztőséget illeti. A megjelent anyag, illetve annak egy részének bármilyen formában történő másolásához, ismételt megjelentetéséhez a szerkesztőség hozzájárulása szükséges.

ORVOSKÉPZÉS

A graduális és posztgraduális képzés folyóirata
2023; XCVII. évfolyam, 3:701-744.
SEMMELWEIS EGYETEM 2022/2023. ÉV
TUDOMÁNYOS DÍJAZOTTJAINAK
ELŐADÁSAI

Orvosképzés Szerkesztőség:
1086 Budapest, Nagyvárad tér 4.

Kiadja és terjeszti:

Semmelweis Kiadó
1086 Budapest, Nagyvárad tér 4.
Telefon: 210-4403

Internet honlap:

www.semmelweiskiado.hu
E-mail: info@semmelweiskiado.hu
orvoskepzes@semmelweiskiado.hu

Szerkesztő:

VINCZE JUDIT
Telefon: 210-4410, 06-20-221-4185
vincze.judit@kiado.semmelweis-univ.hu

Illusztráció:

ÁNGYÁN GERGŐ
angyan.gergely.01@gmail.com

Kiadásért felel:

SZABÓ GYÖRGY
szabo.gyorgy@ext.semmelweis.hu

Hirdetésszervező:

KOVÁCS VERONIKA
Telefon: 06 20/ 221-5265
veronika.kovacs@kiado.semmelweis-univ.hu

Nyomta és kötötte:

Érdi Rózsa Nyomda
Felelős vezető: JUHÁSZ LÁSZLÓ

ISSN 0030-6037



ORVOSKÉPZÉS

A graduális és posztgraduális
képzés folyóirata

Alapítva 1911-ben

2023; XCVIII. évfolyam, 3:701-744.

SEMMELWEIS EGYETEM 2022/2023. ÉV

TUDOMÁNYOS DÍJAZOTTJAINAK

ELŐADÁSAI

E-ORVOSKÉPZÉS

Töltse le a folyóiratot a
[www.semmelweiskiado.hu/
folyoiratok/](http://www.semmelweiskiado.hu/folyoiratok/)
oldaláról!

Tartalom

Dr. Merkely Béla	Rektori köszöntő	703
Dr. Orbán Gábor	Köszöntő	704
Batthyány-Schmidt Margó	Köszöntő	705

ÖSSZEFOGLALÓ TANULMÁNYOK

Dr. Czobor Pál Dr. Kakuzsi Brigitta Dr. Bitter István	Bioelektromos agyi képképzés és EEG hiperszkennelés: lehetséges pszichiátriai alkalmazások <i>Bioelectric brain imaging and EEG hyperscanning: potential psychiatric applications</i>	707
Dr. Horváth Eszter Mária	Oxidatív-nitratív stressz és poli(ADP-ribóz)-polimeráz-aktiváció, mint kórélettani és prognosztikus marker <i>Oxidative-nitrate stress and poly(ADP-ribose)-polymerase activation as pathophysiological and prognostic marker . . .</i>	716
Dr. Szijártó Attila	Modern májsebészet, a Prométheusz újraéledése <i>Modern liver surgery: The legend of Prometheus reborn.</i>	724
Dr. Tímár József	A melanoma áttétképzésének molekuláris titkai: kísérletes és transzlációs kutatások, 1992–2023 <i>Molecular secrets of the metastatization of melanoma: preclinical and translational studies, 1992–2023</i>	733
Zelkó Romána	Innovatív gyógyszerformák és összetett hatóanyag-leadó rendszerek <i>Innovative dosage forms and complex drug delivery systems</i>	740

Tisztelt Elnök Úr! Tisztelt Kancellár Asszony! Tisztelt Rektorhelyettes Úr! Tisztelt Elnök Asszony! Tisztelt Díjazottak! Kedves Kollégák!

A tudományos munkát nem csak a közvetlen haszna alapján kell megítélni. Önmagáért, a tudomány szépségéért is kell végezni.

Marie Curie kétszeres Nobel-díjas tudós gondolatait valamennyi jelenlévő magáénak érezheti. A mai eseményen olyan kiváló kutatókat és szakembereket díjazunk, akik hazai és nemzetközi szinten is a legjobbak közé tartoznak. Pályájuk során végig a tudomány fejlődéséért munkálkodtak, és mivel mindezt a Semmelweis Egyetem kötelességében tették, erőfeszítéseik egyben az elesetteket, a betegeket és gyógyulni vágyókat, honfitársaink és a magyar egészségügy érdekét is szolgálták. Épp ezért a tudomány szépsége mellett munkájuk nagyon is hasznossá vált. Egyetemünkön ugyanis a translációs szemlélet értelmében arra törekszünk, hogy a kutatások eredményei minél hamarabb a betegágy mellett is alkalmazhatóvá váljanak.

Semmelweis Ignác, Jendrassik Ernő, Huzella Tivadar, Hugonnai Vilma, Hári Mária, Richter Gedeon: nemzetközi szinten is jelentős életművet hagytak maguk mögött, munkásságukra az orvos- és egészségtudományi területen máig építünk, mindannyian egyetemünkhöz köthetők. Életművük, nevük és örökségük nemzeti kincs. Örök példaként állnak valamennyi Semmelweis Polgár előtt, a róluk elnevezett tudományos díjakat átvevők pedig az ő nyomdokaikba lépnek. Ebben, vagyis legkiválóbb munkatársainkban rejlik az immár több mint 250 éves tradíciókkal rendelkező Semmelweis Egyetem valódi ereje.

Tudományos jutalombíjaink immár hosszú évek óta intézményünk legdicsebb hagyományai közé tartoznak. Az ezeket átvevők jellemzően számtalan hasonló elismerés birtokosai, és biztosak lehetünk benne, hogy további díjak is várnak még rájuk. A Semmelweis Egyetemtől kapott elismerések azonban minden díjazott számára különleges értéket képviselnek. Külön öröm számomra, hogy a nagy presztízsű, komoly tradíciókkal rendelkező egyetemi díjak sorához egy új is csatlakozik: idén először adjuk át a Richter Gedeon emlékérmét és jutalombíjat, melyet az egyetem Szenátusa a magyar gyógyszer-tudományok területén kiemelkedő tudományos és innovációs eredmények elismerése, megbecsülése és motiválása érdekében alapított. Nevét Richter Gedeonról, a Richter gyógyszer-gyár alapítójáról kapta, aki maga is egyetemünk jogelődjének hallgatója volt, és idén ünnepeljük születésének 150. évfordulóját.

Tisztelt Semmelweis Polgárok!

Elismeréseink azért is képviselnek akkora értéket, mert egyetemünk képviselői az elmúlt több mint 250 évhez hasonlóan ma is a legkiválóbbak közé tartoznak, legyen szó hallgatókról, doktoranduszokról, oktatókról vagy professzorokról. A Semmelweis Polgárok ráadásul időről időre tanúságot tesznek alázatukról, emberségükről és helytállásukról.

Tudományos teljesítményünk folyamatos emelkedése mellett ez a helytállásunk, na meg világszinten is elismert oktatási minőségünk, nemzetközi hírnevünk és nagyszámú külföldi hallgatói létszámunk is kellett ahhoz, hogy immár a nemzetközi rangsorok is a legjobbak közé sorolnak minket. A Times Higher Education legfrissebb világrangsorában a világ 250 legjobb egyeteme közé tartozunk, egészen pontosan a 236. pozíciót foglaljuk el. Elődeink nyomdokain járva az elmúlt években rendkívül intenzív munkát végeztünk, ezt tükrözik eredményeink is.

Immár a nyugat-európai egyetemek komoly versenytársának számítunk, célunk pedig még ambíciózusabb. A jövőben a világ top 100, valamint Európa 5 legjobb gyógyító egyeteme közé szeretnénk tartozni. Ennek elérésében kulcsfontosságú a mai eseményen díjat átvevők szerepe, akik munkájukkal nemcsak a tudomány, de a Semmelweis Egyetem hírnevét is tovább öregbítik.

Gratulálok a díjazottaknak, és további eredményekben bővelkedő, jó munkát kívánok mindannyiuknak!



Fotó: Barta Bálint – Semmelweis Egyetem

Prof. Dr. Merkely Béla
rektor, az ORVOSKÉPZÉS
folyóirat felelős szerkesztője

Tisztelt Hölgyeim és Uraim, kedves Vendégek!

Fotó: Kovács Attila – Semmelweis Egyetem



*Dr. Orbán Gábor
Nemzeti Egészségügyi és Orvostudományi
Alapítvány (NEOA) kuratóriumának elnöke,
a Richter vezérigazgatója*

Szeretettel köszöntöm Önöket a Semmelweis Egyetem 2022. évi Tudományos jutalomdíjak átadó rendezvényén!

A most először átadott Richter Gedeon emlékérem több szempontból is kiemelkedő jelentőséggel bír. Egyrészt, a díj névadója az idén 150 évvel ezelőtt született Richter Gedeon, akire gyakran a magyar gyógyszergyártás megteremtőjeként is hivatkoznak. Richter közel félévszázados munkásságával a teljes magyar gyógyszeripar fejlődését szolgálta, ezért tölt el örömmel, hogy a róla elnevezett díjjal tüntethetjük ki azokat a gyógyszerészet terén dolgozó szakembereket, akik munkájukkal – úgy gondolom, nem túlzás ezt állítani – milliók életére lehetnek hatással.

A Richter Gedeon emlékérem másik különlegessége, hogy jelenleg ma Magyarországon párját ritkítja az olyan elismerés, amely kifejezetten a gyógyszerészet területén korszakalkotó munkásságot hivatott díjazni, miközben e tudományterület fejlődése hatással van az egészségügy egészére, beleértve az elérhető terápiák számát és a betegek életminőségének javítását.

Az egészségügy és gyógyszerészet fejlődésének, versenyképességének záloga, hogy felkészült, fáradhatatlan szakembereivel rendelkezzen. Ezért fontos, hogy egyszerre figyeljünk az új tehetségek felkutatására és a meglévő szakemberek támogatására. A Richter emlékérem célja, hogy ezzel az elismeréssel a szakma visszajelzést adjon mind a jelöltek, mind a díjazottak számára munkájuk fontosságáról, ezzel is megerősítve őket hivatásukban.

A Semmelweis Egyetem fennállásának több mint 250 éve során több ezer olyan szakembert adott nemcsak Magyarországnak, hanem a világnak, akik kimagasló szellemi teljesítményükkel utat mutattak az egészségügynek. Az Egyetem által alapított eddigi díjak nagy hatású szakemberek nevét viselik, ezzel egyszerre emléket állítva munkásságuknak, elismerve a jelenkor kiemelkedő tudományos tevékenységeit. A Richter Gedeon emlékéremmel e díjak köre újabb nívós kitüntetéssel bővül, így mostantól a gyógyszerészet területén kimagaslót alkotó munkatársak is részesülnek az egyetemi kitüntetések közül.

Gratulálok a díjazottaknak!

Dr. Orbán Gábor

Tisztelt Rektor Úr, Elnök Úr, Kancellár Asszony, Rektorhelyettes Úr, Tisztelt Díjazottak és valamennyi meghívott jelenlévő!



Batthyány-Schmidt Margó,
a Magyar Női Unió elnöke,
a Magyar Batthyány Alapítvány vezetője

Megtisztelő és felemelő, hogy az Magyar Női Unió elnökeként lehetőséget kaptam a mai napon kiosztott Díjak – különösen a Hugonnai Vilma díj – ideai átadása kapcsán néhány szót szólani.

Pár héttel ezelőtt az ENSZ Világnapján, az Akadémián a civil hang társadalomban betöltött szerepéről tartottam előadást. A legfontosabb gondolatot emelem ki most is: *civil szervezetként kötelességünk és felelősségünk a figyelemfelhívás, a tisztességesen végzett tényleges munka mellett az értékek átadása, az átörökítés, a tisztelgés az ősök és példaképek előtt.*

Valahogy átutazókká váltunk a saját életünkben: kevésszer – inkább azt mondom, nem elégszer – szenteljük oda magunkat a jelentőségteli pillanatoknak, az örömteli eseményeknek. Szándékosan használtam az odaszenteli szót, mert egy tavaly október végi esemény jutott eszembe, amikor gróf Batthyány Lajos és Boldog Batthyány-Strattmann László előtt tisztelegve emléktáblát avattunk. Csodás, valóban „szentséggel” teli ünnep volt, amikor is megálltunk egy pillanatra: fejet hajtottunk és emlékeztünk az előttünk járókra. Azokra a példaértékű emberekre, akiknek gondolatisága, szellemisége – ha elhivatottsággal végezzük dolgunkat – mai is velünk van. Igen... ünnep ez ilyenkor, most is, és – ahogy Márai mondja:

„Ha az ünnep elérkezik, akkor ünnepelj egészen. (...) Felejts el mindent, ami a köznapok szertartása és feladata. (...) Az ünnep a különbözőség. Az ünnep a mély és varázsos rendhagyás. (...) legyen benne valami a régi rendtartásból, a hetedik napból, a megszakításból, a teljes kikapcsolásból, legyen benne áhítat és föltétlenség. Az ünnep az élet rangja, felsőbb értelme. Készülj föl reá, testben és lélekben. S nemcsak a naptárnak van piros betűs napja. Az élet elhoz másféle, láthatatlan ünnepeket is. Ilyenkor felejts el mindent, figyelj az ünnepre.”

A most átadott Díjak névadói – Semmelweis Ignác, Richter Gedeon, Hugonnai Vilma, Huzella Tivadar, Jendrassik Ernő – mindnyájan értéket teremtettek.

Az UNESCO Magyar Nemzeti Bizottság 2020-ban terjesztette elő Hugonnai Vilma – az első magyar orvosnő – halálának 100. évfordulóját az UNESCO-val való közös megemlékezésre 2022 során. Ezt az évet „Hugonnai 100” név alatt neki szenteltük születésének 175., halálának 100. évfordulója kapcsán, mert méltatlanul keveset tudunk róla.

Megannyi kihívás, nehézség állt előttünk a közel nyolc hónapos munka alatt. Hogy mi lendített előre bennünket? Hugonnai értékei, aki az általa választott mottóban foglaltak szerint „a tudomány kardjával és munka pajzsával” vívta küzdelmét egy egészen más korban, emellett hittel, alázattal, küldetése iránti szenvedélyes elkötelezettséggel tette a dolgát. „Az én kardom a tudomány, az én pajzsom a munka.” – örök és vitathatatlan értékek, melyekre a jelenkor kivívásai között is szükség van.

De térjünk vissza a díjakhoz:

Díjakat alapítani – döntés.

Ahogy néhány perccel ezelőtt elhangzott, 2010-ben, amikor a Semmelweis Egyetem Szenátusa elhatározta, hogy önálló tudományos díjat hoz létre az első magyar orvosnő, Hugonnai Vilma emléke előtt tisztelegve – amellet döntött, hogy a női oktatók, kutatók, illetve gyógyítók kiemelkedő munkáját ismeri el az egyetem a Hugonnai Vilma emlékéremmel és jutalomdíjjal.

Díjakat átadni – bizalom, megelőlegezett hit.

Nem elég az eddig elvégzett munka, az igazi kihívás a díjak átvétele után következik. Önök – tisztelt korábbi, jelenlegi és talán jövőbeli díjazottak – ezt sokkal jobban tudják nálam, hiszen tevékenységüket a Hippokratészi esküben foglaltak szerint teszik.

Díjakat átvenni – nemcsak lehetőség, hanem kötelezettséggel járó legnagyobb felelősség.

Egy újfajta Hűség-szerződést írnak alá, és vállalják a névadó értékeinek való megfelelést. Van ebben valami átvágás, mert valójában nem Hugonnainak, és pályájuk indulásánál nem a Dékánjuknak, nem Hippokratésznek tesznek esküt, hanem MAGUKNAK.

Dragomán György jut eszembe, aki a HŰSÉGRŐL a következőt írja: „*A hűség a látszat ellenére nem páros mérkőzés. Az magányos sport, olyan, mint a hosszútávfutás, nem adok-kapok. Nem hozzá vagy hűséges, hanem magadhoz, nem neki fogadtad meg, hanem magadnak. Te tudod egyedül, mit bírsz és mennyit bírsz, és ehhez tényleg nincs köze senki másnak.*”

És mi ennek a Szerződésnek az alapja? A HIT és a BIZALOM. Megbízunk Önökben, és hisszük hogy felelősségük teljes tudatában és tudásuk teljes felelősségével végzik jövőbeni tevékenységüket.

Jelentőségteljes és örök értékek ezek mind.

Önök, akik ma itt a díjakat kapják – és elfogadják – legyenek hűek magukhoz, tartsák be az esküt, amelyet maguknak tettek, a Hugonnai és valamennyi díj átvételével!

Sokszor és sok helyen mondtam a *Hugonnai 100 év*hez kapcsolódó eseményeken, hogy egy életút értékét nem elsősorban annak anyagi megvalósulása jelenti. Sokkal inkább az, hogy annak gondolatisága, eszmeisége, lenyomata velünk él-e. Ebben a felelősségünk, az Önök felelőssége óriási, hiszen a valódi értékeket nekünk kell továbbadni a jelen és a jövő generációja számára. A Magyar Női Unió 2022 évi tevékenységeibe, üzeneteibe a *Hugonnai 100 év* kapcsán mi beépítettük.

Szeretem keretbe foglalni a köszöntőmet, ezért engedjék meg, hogy visszatérjek az ünnephez kapcsolódó gondolathoz. Engedjék meg, hogy fejet hajtsunk és emlékezzünk az előttünk járókra, azokra a példaértékű emberekre, akiknek gondolatisága, szellemisége ma itt, ezen az ÜNNEPEN velünk van.

Gratulálok Önöknek, vigyék tovább Önök is ezt a szellemi és lelki lenyomatot!

Batthyány-Schmidt Margó

Bioelektromos agyi képkalkotás és EEG hiperszkennning: lehetséges pszichiátriai alkalmazások

Bioelectric brain imaging and EEG hyperscanning: potential psychiatric applications

Huzella Tivadar emlékérem és jutalomdíj

Dr. Czobor Pál^{1,2}, Dr. Kakuszi Brigitta¹, Dr. Bitter István¹

¹ Semmelweis Egyetem, Pszichiátriai és Pszichoterápiás Klinika, Budapest

² Szerző a 2022-es évben a Huzella Tivadar emlékérem és jutalomdíj díjazottja

czobor.pal@med.semmelweis-univ.hu

ÖSSZEFOGLALÁS A pszichiátriai betegségek neurobiológiai alapjainak tisztázása mindmáig megoldatlan kérdés. A klasszikus agyi képkalkotó eljárások alkalmasak arra, hogy pontosan leírják a pszichiátriai betegségekkel összefüggő strukturális és funkcionális károsodásokat, mivel nagy felbontással képesek megjeleníteni az agyi aktivitás helyét és kiterjedését, és téri feloldás tekintetében felülmúlják az EEG-t. Ugyanakkor a hagyományos képkalkotó módszerek számára az agyműködéssel együttjáró gyors időbeli változások legtöbbször hozzáférhetetlenek. Ezért az elmúlt években számos kísérlet történt a skalp-EEG téri feloldásának növelésére és 3-dimenziós forráslokalizációs megközelítések kidolgozására. Ennek eredményeként az utóbbi időben a bioelektromos képkalkotás területén jelentős előrehaladás történt. Jelen dolgozatban szakirodalomból és saját kutatásunkból vett példákon keresztül röviden bemutatjuk a bioelektromos képkalkotás nyújtotta újabb lehetőségeket. A Nemzeti Agykutatási Program (NAP) keretében végzett kutató-fejlesztő munkánk célkitűzése az agyban lejátszódó gyors folyamatok részleteinek feltárása az EEG aktivitáson alapuló bioelektromos forrásadatok alapján: olyan eljárás kidolgozása, amely kihasználja az EEG kiváló időbeli felbontásában rejlő lehetőségeket, és ugyanakkor a sűrű érzékelős jelrögzítésnek köszönhetően pontos térbeli lokalizációt is szolgáltat. Ennek érdekében a NAP projekt keretei között a munkacsoport egy bioelektromos képkalkotó rendszer kifejlesztésén dolgozott. Kutatásunkban egy újszerű, 128 csatornás EEG felvételen alapuló hiperszkennelési módszert alkalmaztunk. Ez lehetővé teszi két szociális interakcióban részt vevő személy egyidejű vizsgálatát, valamint a nagy-denzitású EEG felvételek alapján a vizsgált személyek agyi aktivitásának egyidejű forráslokalizációját. Cikkünkben röviden bemutatjuk az alkalmazott módszer alapjait, valamint egészséges kontroll és ADHD-s felnőtt minta hiperszkennelési technológiával nyert nagy-denzitású EEG-felvételeinek elemzésén és összehasonlításán keresztül a módszer felhasználásával nyert eredményeket ismertetjük.

KULCSSZAVAK bioelektromos képkalkotás, hiperszkennelés, agyi forráslokalizáció, EEG, sűrű érzékelős regisztráció, pszichiátriai alkalmazás

SUMMARY The clarification of the neurobiological basis of psychiatric disorders remains an unresolved issue. The traditional brain imaging techniques can describe the structural and functional impairments in these disorders, as they are capable of providing information with high precision on the location and extent of brain activity, and surpass the EEG in spatial resolution. Nonetheless, for these brain imaging approaches the rapid temporal changes of brain activity are mostly inaccessible. Thus, recently several attempts have been made to increase the spatial resolution of the scalp-EEG and to develop 3-dimensional source-localization approaches for the signals. As a result, there has been a major progress in the area of bioelectric source-localization. Using examples from our research and from the literature, in the current paper we briefly demonstrate the new opportunities provided by the bioelectric imaging. The goal of our research, conducted under the auspices of the Hungarian Brain Research program, is to uncover the details of the rapidly occurring dynamic changes in the brain based on the bioelectric source-localization of the EEG activity. We developed a bioelectric imaging system that exploits the possibilities provided by the excellent temporal resolution of the EEG signals and, at the same time, provides good spatial resolution as a result of high-density recording. In our research, we applied the novel, EEG-based hyperscanning technology based on the simultaneous use of two high-density (128-channel) bioelectric imaging systems. The hyperscanning technology allows for the investigation of two individuals in social interaction, and for the simultaneous source-localization of their brain activity based on the high-density EEG recordings. We illustrate the methodological foundations of our approach, and based on the investigation of a sample of healthy control subjects and patients with ADHD, we present results yielded by the approach.

KEY WORDS bioelectric imaging, hyperscanning, brain source-localization, EEG, high-density recording, psychiatric applications

Bevezetés

A pszichiátriai betegségek neurobiológiai alapjainak tisztázása a több évtizedre visszanyúló intenzív ku-

tatási erőfeszítések ellenére mindmáig megoldatlan. Következésképpen jelentős igény van olyan biomarkerek azonosítására, melyek egy adott betegség vonat-

kozásában nagyfokú specificitással és szenzitivitással rendelkeznek, vagy adott esetben elősegítik a veszélyeztetett személyek azonosítását (*Castellanos et al*, 2013).

Az agyi aktivitás bioelektromos jellemzői, beleértve a fejbőrrel regisztrálható humán EEG-t, fontos információt szolgáltatnak ahhoz, hogy a neurokognitív jelenségekbe betekintést nyerjünk, és érzékeny mutatói a különböző betegségekkel összefüggő a patofiziológiai folyamatoknak. Bár az EEG-re nem úgy szoktak tekinteni, mint a pszichiátria „frontvonalában” levő módszerre, a különböző pszichiátriai betegségekben szenvedő személyek számos elektrofiziológiai mutató tekintetében károsodásokat mutatnak mind nyugalmi állapotban (resting-state EEG), mind pedig szenzoros, motoros és kognitív feladatok végrehajtása közben az eseménykapcsolt potenciálok (event-related potentials, ERP) vizsgálatán keresztül (*De Geus*, 2010; *Zhang et al*, 2021; *Galderisi et al*, 2009; *Luck*, 2014). A kutatók az elmúlt években egyre jobban „kifinomult” jelfeldolgozási technikákat fejlesztettek ki, hogy az agyi folyamatok dinamikájának különböző aspektusait elemezzék (*Park et al*, 2021). Ezek ígéretesek arra vonatkozóan, hogy a komplex, többtényezős pszichiátriai megbetegedések neurális mechanizmusait megértsük. Az agyműködés kvantitatív bioelektromos jellemzőit sikeresen alkalmazzák a betegségek endofenotípusainak azonosításában, annak érdekében, hogy megértsük azoknak a géneknek a szerepét, amelyek különböző rokon és társbetegségek diagnosztikai határok felett átnyúló individuális manifesztációjában szerepet játszanak (*De Geus*, 2010; *da Cruz et al*, 2020).

Az EEG szerepét és egyre növekvő jelentőségét árnyaltabban tudjuk értékelni, ha röviden áttekintjük annak komparatív előnyeit és hátrányait a más fizikai/fiziológiai paramétereken alapuló vizsgálómódszerekhez képest. Utóbbiak közül kiemelkednek a mágneses-rezonancia képalkotás (MRI) módszerek (*Zhan and Yu*, 2015), különösképpen a funkcionális MRI (fMRI), a diffúziósúlyozott MR (DWI) és a diffúzió tenzoros képalkotás (DTI). Ezeket széles körben alkalmazzák arra, hogy pontosan körülírják a pszichiátriai betegségekkel összefüggő strukturális és funkcionális károsodásokat (*Zhan and Yu*, 2015). Fontos hangsúlyozni, hogy ezek a módszerek nagy felbontással képesek megjeleníteni az agyi aktivitás helyét, kiterjedését, és téri feloldás tekintetében jelentősen felülmúlják az EEG-t. A fejbőrrel, neminvazív módon regisztrált EEG téri feloldása korlátozott, mivel az agykérgi elektromos aktivitás, az alacsony vezetőképességgel rendelkező koponyacsonton áthaladva, a fejbőrre érve a térfogati vezetés következtében mintegy „szétkenődik” (*He et al*, 2001; *Nunez et al*, 2012). Ugyanakkor a hagyományos képalkotó módszerek, pl. a kiváló téri feloldással ren-

delkező fMRI megközelítés számára az agyműködéssel együttjáró gyors időbeli változások legtöbbször hozzáférhetetlenek, nem alkalmasak az események időbeni szekvenciájának gyors és dinamikus feltárására (*Pascual-Marqui et al*, 1994).

Mivel a neurális folyamatok szempontjából az idő dimenzió fontosságát az irodalomban mindenek felett állónak szokták tekinteni [„time is the essence” (*Beres*, 2017)], felmerül a kérdés, hogy az EEG esetében a jó időbeli feloldás megtartása mellett, hogyan lehet a téri feloldást növelni. Ez a kérdés különösen releváns, ha figyelembe vesszük, hogy az agykéreg aktivitása bioelektromos jelenség, következésképpen logikusnak tűnik a részletes tér- és időfüggő működés bioelektromos képalkotóval történő vizsgálata (*Michel and Murray*, 2012).

Az elmúlt években számos kísérlet történt a skalp-EEG téri feloldásának növelésére és háromdimenziós forráslokalizációs megközelítések kidolgozására. Ezt többek között jelentősen elősegítette a sűrű érzékelős, nagyfelbontású EEG-rendszerek bevezetése; az agy biofizikájára vonatkozó egyre bővülő ismeretek felhasználása; valamint a hatékony számítási algoritmusok kidolgozása (pl. a jelek matematikai elméletében bekövetkező nagymértékű fejlődés eredményeként a ‘spatial enhancement’ algoritmusok egyre növekvő elérhetősége) (*He et al*, 2001). Ez utóbbi segít abban, hogy a fejbőrrel regisztrált EEG-jelek „szétkenődését” számítási modellek segítségével visszafordítva (de-blurring) a bioelektromos jelek agyi forrásait feltárjuk. Ennek következtében az utóbbi időben ezen a területen jelentős előrehaladás történt, melynek eredményeként az EEG egyre inkább besorolódik a képalkotó módszerek tárházába (*Michel and Murray*, 2012).

Ebben a tanulmányban a szakirodalom és saját kutatásunkból vett példákon keresztül röviden bemutatjuk a bioelektromos képalkotás kínálta újabb lehetőséget. Ennek érdekében először röviden felvázoljuk a térbeli lokalizáció fele vezető út azon legfontosabb állomásait, melyek révén az agyi elektromos folyamatok korábban nem látott felbontással való vizsgálata vált lehetővé. A bioelektromos képalkotás nyújtotta lehetőségeket a *Nemzeti Agykutatási Program NAP3.0 projektje* során végzett kutató fejlesztő munkánk alapján illusztráljuk. Munkánk során a bioelektromos forrás lokalizációs lehetőségeket kiegészítettük a hiperszkennelési technológiával, melynek segítségével két vagy több vizsgálati személy agyi aktivitásának egyidejű mérésére nyílik lehetőség. Kutatási programunk infrastruktúra fejlesztési részei mellett a klinikai orvostudományok területén az újszerű vizsgálati és elemzési lehetőségeket a pszichiátriai betegségek károsodott szociális biomarkereinek pontosabb megismerésére kívánjuk alkalmazni.

Bioelektromos képkalkotás és agyi forrás lokalizáció

A fejbőrrel elvezetett EEG-n alapuló bioelektromos képkalkotás fejlődésében több tényező játszott fontos szerepet. Ezek közül kiemelkedő jelentőségű (1) az érzékelő elektrodák sűrűségének növelése, továbbá (2) az agy és a vezető közegek biofizikájával kapcsolatos ismeretek ugrásszerű bővülése, valamint (3) az EEG-jelek agyi forrástérképezését, forráslokalizációját elősegítő matematikai algoritmusok javulása.

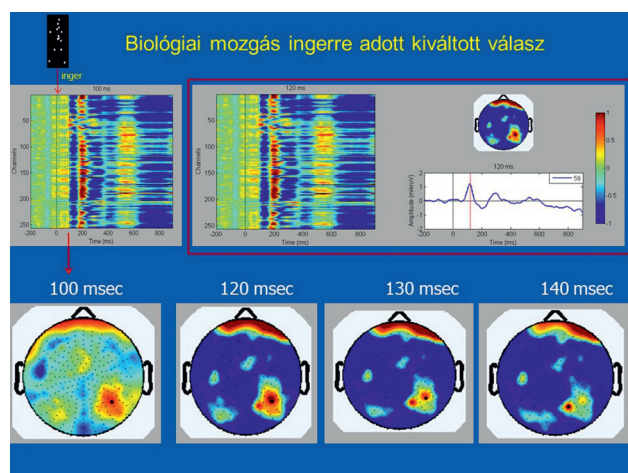
Az érzékelők számát tekintve fontos kiemelni, hogy korábban a jelerősítő rendszerek technikai korlátai miatt az EEG-regisztrátumok készítéséhez viszonylag kevés elektrodát használtak. Az EEG-vizsgálatoknak ebben a korai szakaszában az EEG-jelalak, -frekvencia és az agyi ritmusok tekintetében számos alapvető felfedezésre került sor. Ezek ma már a klinikai diagnosztikai munka és a kutatások szempontból mérföldkő jelentőséggel bírnak. Azonban a viszonylag kevés-érzékelős vizsgálatok alapján legtöbb esetben az EEG-re úgy gondoltunk, mint külön csatornák összességére, nem pedig úgy, mint időben dinamikusan változó térbeli mintázatokra. Ez az eredmények értelmezését is nagyban befolyásolta. A bioelektromos képkalkotás lehetőségét jelentősen elősegítette, hogy az elmúlt évtizedekben a kezdetben alkalmazott 16 csatornás EEG-rendszerekben használt érzékelők száma többször is megduplázódott. Ma már a klinikai EEG-vizsgálatok is legalább 64 csatornás erősítőrendszerekkel történnek. A nagy pontosságú bioelektromos képkalkotáshoz, az EEG téri feloldásában rejlő lehetőségek kiaknázásához azonban a 64 csatornás regisztráció sem elegendő. Biofizikai modellezés és tényleges sűrű elektrodás mérések alapján kb. 1 cm-es elektróda távolságú érzékelő rendszerre lenne szükség (Freeman et al, 2003), amely több mint 500 érzékelő használatát feltételezi. Bár az ilyen rendszerek ma még a kutatás számára sem nagyon érhetőek el, fontos megemlíteni, hogy 128 csatornától kezdve az EEG forrás-térképezés pontossága már aszimptotikus

növekedést mutat, nagyobb csatornaszámnál tovább már nem nagyon emelkedik (Song et al, 2015).

A sűrű érzékelős EEG-rendszerek használata az EEG-jelek topográfiai elemzése szempontjából döntő jelentőségűnek bizonyult. Az érzékelők „terében” rögzített EEG-jelekből kiindulva ugyanis a regisztráció minden időpontjában egy időben dinamikusan változó, úgynevezett topográfiai térkép készíthető. Ezeknél a térképeknél az időben folyamatosan változó EEG adatokat, pl. egy adott időpillanatban mért, microvoltban kifejezett amplitúdó értékeket a kétdimenziós agyfelszínre vetítik. Ennek során az elektrodák közötti szakaszokban a microvolt értékeket matematikai algoritmusok segítségével interpolálják. Ezek a topográfiai térképek, amelyek közül néhányat az 1. ábrán bemutatunk, konceptuálisan hasonlítanak a domborzati térképekre. Általában meleg színekkel (vörös árnyalatai) szokták jelölni a pozitív, hideg színekkel (kék árnyalatai) pedig a negatív amplitúdó értékeket. A topográfiai térképeket még hő térképek formájában is szokás megjeleníteni.

Az 1. ábrán bemutatott térképek saját kutatási anyagunkból egy egészséges vizsgálati személy biológiai mozgásingerekre adott agyi átlagolt kiváltott válaszainak dinamikus megjelenítését mutatják hő térképek (ábra bal felső része) és topográfiai térképek (ábra alsó rész) segítségével. Látható, hogy az ingerre adott agyi válasz alakulását nagy időbeli pontossággal és jó téri feloldással tudjuk követni az alkalmazott 256 csatornás BioSemi érzékelő rendszerrel. Látható, hogy a biológiai mozgásingerekre adott válasz inger utáni viszonylag korai folyamatai (inger után <200 msec) az irodalmi adatokkal összhangban a jobb agyfélteke extrastriális területein zajlanak. Továbbá észrevehetjük, hogy az aktivitási mintázatokban már akár 10 ezredmásodperces időtartam alatt is markáns változások történnek (amelyek követése a hagyományos képkalkotó módszerekkel nem lehetséges).

Fontos hangsúlyozni, hogy az EEG jelekből készített 2 dimenziós topográfiai térképek sorozata (ábra al-



1. ábra. Egészséges vizsgálati személy biológiai mozgásingerekre adott agyi átlagolt kiváltott válaszainak megjelenítése topográfiai térképek (ábra alsó része) és hő térképek (ábra bal felső része) segítségével. Az EEG-felvétel 256-csatornás BioSemi érzékelőrendszerrel készült. A hő térképek mellett levő sorszám az elektróda sorszámát jelöli a BioSemi elvezető rendszerben. A biológiai mozgásinger a 0. msec-mal jelölt függőleges vonalnál került bemutatásra. Észrevehetjük, hogy a biológiai mozgásingerekre adott válasz elsődleges feldolgozási folyamatai az irodalmi adatokkal egyezésben a jobb agyfélteke extrastriális (posterior) területein zajlanak. Az egyes agyterületek egymás utáni aktivációja is jól követhető, akár ezredmásodperces pontossággal is. A bemutatott válaszgörbe a skalptérképen fekete ponttal (félkövérrel) kiemelt jobb féltekei extrastriális érzékelővel regisztrált agyi átlagolt kiváltott választ illusztrálja.

só része) a mikrovolt adatokat az érzékelők terében ('sensor space') jeleníti meg, így azok igazi 3 dimenziós téri információt nem tartalmaznak. Az ezekből levonható téri „lokalizációs” következtetéseknek jelentős korlátai vannak, amelyek közül itt hármat említenénk (amelyek részben összefüggenek egymással). Az egyik, hogy az agy mélyében keletkező bioáramok a felszínre való haladásuk közben jelentősen torzulnak (a fent említett módon mintegy „szétkenődnek”). A másik, hogy egy mélyebben fekvő, akár kisebb agyterületen keletkezett fokális EEG-aktivitás akár az egész kéregfelszínen detektálható. A harmadik pedig (amely az előzőeknek részben szintén folyománya) az, hogy az agyfelszín egy adott pontján rögzített jel az ott keletkező és az oda vezető bioáramok eredője.

Következőképpen, a bioelektromos jelek forrásainak meghatározása során az igazi nagy kérdés (amit az EEG térbeli lokalizációjával kapcsolatos szakirodalomban inverz problémaként szoktak megjelölni) az az, hogy egy adott skalp potenciál eloszlás vonatkozásában pontosan hol vannak az agyban a jelek forrásai. Erre az inverz problémára – amennyiben a modellezéshez tovább „extra” információ nem áll rendelkezésre – nincsen egyértelmű fizikai megoldás (*Pascual-Marqui et al, 1994; Michel and Murray, 2012*). A pontos forrás lokalizációhoz egy fizikailag és geometriailag jól definiált térfogati vezető (volume conductor) modell szükséges annak érdekében, hogy a bioelektromos áramok fejen/agyon belüli terjedési útjait pontosan meghatározzuk. Ennek a térfogati vezető modellnek az ismerete segíthet abban, hogy a felszínen regisztrált jeleket az agyi források szintjére mintegy „visszatükrözve”, azokat pontosan lokalizáljuk. A térfogati vezetési modell felállítása során a biofizikailag modellezett szövetszerkezet (pl. fejbőr, koponya, likvor, fehér- és szürkeállomány) vezetőképességére vonatkozó adatok, valamint az agy/koponya geometriájának ismerete nélkülözhetetlen (*Cho et al, 2015; Vorwerk et al, 2014*). A strukturális MR révén nyert ismeretek (egyenre szabottan, vagy nagy, úgynevezett realiztikus-templát modell adatbázisok adatait használva) az agy/koponya geometriájára vonatkozóan nyújtanak fontos információt. Mindezen információk integrálásával a már egyre inkább elérhető numerikus módszerek segíthetnek a pontos térfogati vezetői modell felállításában. Például a végelem megközelítés (finite element method, FEM) (*Huang et al, 2016*) lehetővé teszi, hogy a vezető közegekről, valamint az anatómiai struktúrák finom részleteiről rendelkező információt felhasználjuk a térfogati vezetői modell felépítése során (*Cho et al, 2015*).

Összességében a fenti tényezők együttese nagyban hozzájárult ahhoz, hogy a bioelektromos forráslokalizációval összefüggő inverz probléma megoldásával kapcsolatos számítások kimozdultak a holtpontról. Ma már a nagy denzitású EEG-rendszereken alapuló tech-

nológia sok laboratóriumban rendelkezésre áll. Továbbá az MR-felvételek és adatbázisok révén meglehetősen precíz strukturális ismeretekhez jutottunk, valamint a vezető közegekről is egyre pontosabb biofizikai tudás áll rendelkezésre. Ennek felhasználásával úgynevezett realiztikus fejmodelleket lehet felépíteni, akár egyénre jellemző módon is. Ennek segítségével az inverz probléma kezelhetővé válik, és az agyi bioelektromos aktivitásról 3 dimenziós térfogati képek készíthetők. Ezek a 3 dimenziós térfogati aktivitási képek a forráslokalizációs eredményeket az fMRI-hez hasonlóan voxelekre bontott 3 dimenziós EEG tomográfiás aktivációs képek formájában ábrázolják. Ilyen, bioelektromos képalkotással nyert aktivitási térképeket saját munkánk alapján a következő fejezetben mutatunk be.

Felmerül a kérdés, hogy a bioelektromos forráslokalizáció milyen távolabbi lehetőségeket rejt magában, például a mélyebben fekvő agyi régiók aktivitásának non-invazív vizsgálatára vonatkozóan fejbőrrel elvezetett EEG alapján. Ezzel kapcsolatban hivatkozhatunk a genfi egyetem kutatócsoportjának *Nature Communications* folyóiratban 2019-ben közlésre került adataira (*Seeber et al, 2019*). A kutatócsoport egy ötletes vizsgálattal bizonyította, hogy a fejbőrré helyezett 256 csatornás sűrű érzékelős EEG-regisztráció, valamint az említett agyi forráslokalizációs megközelítés segítségével nemcsak az agykérgi, hanem akár a subcorticalis agyterületekből származó elektromos aktivitást is nagy pontossággal lehet mérni. A csoport vizsgálatai során olyan obszesszív-kompulzív személyiségzavarban, illetve Tourette-szindrómában szenvedő betegeken végeztek felszíni (skalp) EEG és mélyagyi méréseket, akiknél a betegség tüneteinek enyhítésére mélyagyi ingerlő elektródákat ültettek be a nucleus accumbens illetve centromedialis thalamus magvakba. A mélyagyi ingerlő elektródákat az ingerlések közötti időszakokban elvezető (regisztráló) elektródaként is használták, miközben a fejbőrré helyezett 256 csatornás sűrű elektródás EEG-regisztrációs rendszerrel szimultán skalp-EEG-t rögzítettek. A mélyagyi elektródák pontos helyzetét posztoperatív CT-felvételek alapján pontosan lokalizálták.

A skalp-EEG alapján történő lokalizálhatóság kérdésének megválaszolása érdekében első lépésben a felszíni jelek alapján bioelektromos forráslokalizációval az agykéreg és a kéreg alatti területek minden pontjára (voxel szinten) vonatkozóan meghatározták a modellezett jelek lefutását. Ehhez az egyes személyek strukturális MR-felvételeiből származó realiztikus fejmodelleket is felhasználták. Ezután egy-egy adott pontra vonatkozóan a ténylegesen elvezetett jelek és a skalp felvételekből az adott helyre kiszámolt/modellezett jelek közötti korrelációt meghatározták. Az eredmények alapján az elvezető elektródákon mért jel a ténylegesen az elektródák pozíciójára forráslokalizált EEG-vel mu-

tatott magas korrelációt (más agyterületekre forráslokalizált EEG-jelek pedig nem mutattak korrelációt az elvezető elektródákon mért jellel). A kutatás mérőoldkő jelentőséggel bír, hiszen a kutatásban vizsgált – az agy mélyebb régióiban elhelyezkedő kéreg alatti területek – invazív eljárások (pl. elektródák beültetése) nélkül nehezen hozzáférhetőek, és több súlyos betegség is kapcsolatban áll ezen agyterületek működésével.

Saját kutatás a NAP program keretein belül

A NAP 3.0 projekt keretében végzett kutató-fejlesztő munkánk célkitűzése az EEG-alapú bioelektromos forrásadatok alapján az agyban lejátszódó gyors folyamatok részleteinek feltárása: olyan eljárás kidolgozása, amely kihasználja az EEG kiváló időbeli felbontásában rejlő lehetőségeket, és ugyanakkor a sűrű érzékelés jelrögzítésnek köszönhetően pontos térbeli lokalizációt is szolgáltat. Ennek érdekében a NAP program keretei között a munkacsoport egy újszerű bioelektromos képalkotó rendszer kifejlesztését végezte el. A kialakított rendszer alapvető új eleme a hiperszkennelési technológia. Ez a technológia – a bioelektromos jelek téri mintázatainak 128 érzékelővel történő ezredmásodperces pontosságú vizsgálatán túlmenően – lehetővé teszi két vagy több, egymással interakcióban álló személy agyi aktivitásának egyidejű mérését szociális interakció közben (*Hari and Kujala, 2009; Konvalinka and Roepstorff, 2012*). Klinikai-kutatási célunk egy olyan nagy sűrűségű, 128 csatornás, bioelektromos forráslokalizáción alapuló EEG hiperszkennelési módszer részleteinek kidolgozása, amellyel az eddigieknél pontosabb betekintést nyerhetünk a pszichiátriai betegségek mögött meghúzódó szociális interakciós problémák neurobiológiai hátterébe (*Babiloni and Astolfi, 2014*). Ez elősegítheti az interperszonális kapcsolatok biomarkereinek azonosítását, amely új távlatokat nyithat az olyan mentális betegségek kutatásában, melyekben a szociális interakciós deficitek központi szerepet játszanak (pl. ADHD, autizmus, szkizofrénia) (*Hari and Kujala, 2009*). Jelen cikkben röviden bemutatjuk az általunk alkalmazott metodika alapjait, valamint egészséges kontroll és ADHD-s felnőtt minta hiperszkennelési technológiával nyert sűrű érzékelős EEG felvételeinek elemzésén és összehasonlításán keresztül illusztráljuk a módszer által nyújtott lehetőségeket.

Módszer

A betegmintába bevont személyek DSM-IV kritériumok alapján kerültek beválasztásra. A kontroll személyek a betegekhez életkor (± 5 év), nem és az iskolázottság szintje alapján kerültek illesztésre. A részt vevő személyek a vizsgálatokat párosával végezték (kontroll-kontroll és ADHD-ADHD párok). A szociális interakciós folyamatokat három feladathelyzetben (megfigyelő, cselekvő, együttműködési) vizsgáltuk NoGo

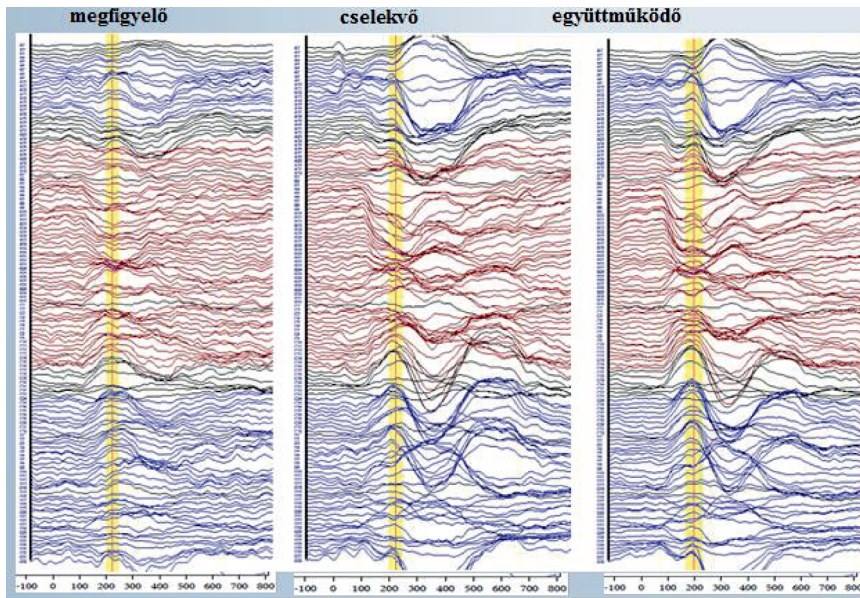
ingerekre adott kiváltott válaszok segítségével Go/NoGo válaszgátlási feladathelyzetben (486 inger, 15% NoGo, 100 msec pre- és 900 msec posztstimulus időtartam). A Go/NoGo feladathelyzetben érzelmi töltésű és emocionálisan semleges képeket jelenítettünk meg az International Affective Picture System képeinek használatával. A feladattal kapcsolatos instrukció az volt, hogy a résztvevő minden megjelenő képre válaszoljon egy adott billentyű lenyomásával (minél gyorsabban, lehetőleg kevés hibával), kivéve, ha az adott kép közvetlenül előtte már bemutatásra került. Ez utóbbi miatt a feladat úgy is felfogható, mint egy munkamémória komponenst magába foglaló úgynevezett „1-back task”. Cselekvő helyzetben a pár egyik tagja a NoGo válaszgátlási feladatot ténylegesen végezte, míg a pár másik tagja (megfigyelő) csak passzívan figyelte a felvillanó képeket. A pár mindkét tagja felváltva cselekvőként és megfigyelőként is szerepelt a vizsgálatban. Az együttműködési feladathelyzetben a pár mindkét tagja végezte a feladatot, azzal az utasítással, hogy a válaszbillentyű lenyomása során a versengést igyekezzenek elkerülni, és a közösen elkövetett hibák arányát igyekezzenek minimálisra csökkenteni.

Bioelektromos forráslokalizáció

A 3 dimenziós agyi forráslokalizációhoz a *Brain Electrical Source Analysis (BESA)* szoftver (*Pascual-Marqui et al, 1994*) 7.1-es verziójával történt elosztott forrás-elemzési megközelítést használtuk. Hasonlóan korábbi kutatásunkhoz (*Czobor et al, 2017*), az EEG-jelek agyi forrásainak meghatározásához a *CLARA (Classical LORETA Analysis Recursively Applied)* modellt (*Hamalainen et al, 2011; Hoehstetter K et al, 2010*) alkalmaztuk, amely a LORETA algoritmus iteratív végrehajtásával éri el a forrástér meghatározását és elemi generátorokra való szűkítését. Az inverz probléma megoldásához egy életkor szerint meghatározott realisztikus fejmodellt alkalmaztunk. A kiváltott válaszok agyi forrásainak helyét egy adott időpontban (msec) a Talairach-koordinátákkal és a Brodmann-régió szerinti elhelyezkedéssel jellemeztük, 5 mm-es téri feloldással. A Talairach-téri (x, y, z) koordinátákhoz tartozó anatómiai címkéket („labels”) a BESA és Talairach Daemon (Talairach.org2015) szoftverek segítségével határoztuk meg. A statisztikai elemzésekhez bemenő adatként a NoGo és Go ingerekre keletkező ERP-k különbségeit használtuk. Ez utóbbi ún. „különbség görbék” a NoGo válaszokkal specifikusan összefüggő idegi aktivitás mutatói.

Statisztikai elemzés

A bioelektromos képalkotás és forráslokalizációs elemzések kiinduló pontjaként a 128 csatornán mért NoGo különbség görbékből („NoGo mínusz Go”) számolt átlagolt kiváltott válaszok microvolt-idő függvé-



2. ábra. 128 csatornán mért átlagolt NoGo kiváltott válaszok különbség görbéinek (NoGo mínusz Go) mikrovolt-idő függvényei az egészséges kontroll személyek csoportjában. Az összes érzékelőn mért átlagolt NoGo kiváltott válaszok a bioelektromos képkalkotás és forráslokalizációs elemzések alapjául szolgáltak. A 240 msec körüli latenciával megjelenő válasz komponenst az ábrán sárgával kiemeltük, a cikkben bemutatott elemzésekben erre fókuszáltunk.

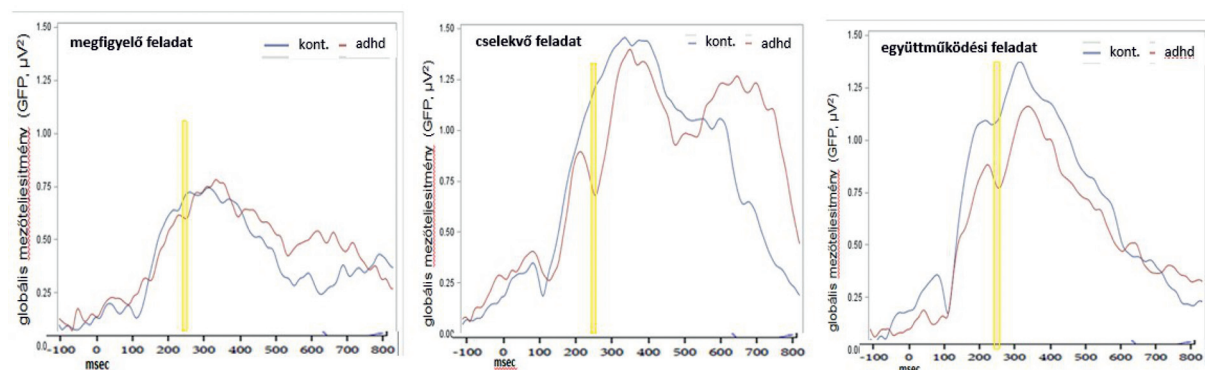
neyi szerepeltek. Az elemzések során az inger után kb. 240 msec körül megjelenő válasz komponensre fókuszáltunk (ábrán sárga színnel kiemelve). Ez a frontálisan pozitív amplitúdójú (P2) komponens szoros kapcsolatban áll a rövid távú memóriából való felidézési folyamatokkal, továbbá szerepet játszik a vizuális ingerek szekvenciális összaszonlításában (Luck and Hillyard, 1994; Friederici, 2005), ezért vizsgálatunkban a Go vs. NoGo döntéshozatal szempontjából jelentőséggel bír. Illusztrációként az ábrán a megfigyelő, cselekvő és együttműködési feladathelyzetben mért kiváltott válaszokat mutatjuk be az egészséges kontroll személyek esetén (2. ábra).

Az elemzésekhez random-regressziós, hierarchikus lineáris modell (HLM) elemzést használtunk, amelyben a független változó a diagnosztikai csoport volt. Az

elemzéseket mind a szenzorok terében, mind pedig a forrásterben meghatározott adatokra elvégeztük. A szenzorok terében végzett elemzések esetén függő változóként a HLM modellben a mikrovolt értékek, míg a forrásterben végzett elemzésekénél az áramsűrűség értékek (current-density, nAm/cm³) szerepeltek. A kiváltott válaszok téri eloszlásának globális mutatójaként a GFP-t [Global Field Power; globális mezőteljesítmény, (Skrandies 1990)] használtuk.

A vizsgált csoportok leíró statisztikai adatai

A bemutatott vizsgálatban 42 egészséges kontroll (HC) személy és 22 ADHD-val diagnosztizált felnőtt beteg került bevonásra. A két minta között nem volt szignifikáns különbség az életkor (kontroll=31,4 év [SD=9,5]; ADHD=34,5 év [SD=0,5]), valamint nemi



3. ábra: Globális mezőteljesítmény (GFP) görbék a megfigyelő, cselekvő és együttműködő feladathelyzetben mért NoGo különbség görbékre vonatkozóan a kontroll és az ADHD csoportban. A 240 msec körüli latenciával megjelenő válasz komponenst az ábrán függőleges sárga vonallal jelöltük.

eloszlás tekintetében (kontroll férfi/nő%=57/33%; ADHD=41/59%). A vizsgált betegek az ADHD kombinált altípusába tartoznak. A betegek mind a cselekvő, mind az együttműködő helyzetben szignifikánsan ($p < .05$) több komissziós (válaszgátlási) hibát követtek el, mint a kontrollok (cselekvő kontroll=19%, ADHD=68%; együttműködő: kontroll=16%, ADHD=46%).

Globális mezőteljesítmény

A 3. ábra a kontroll és az ADHD csoportban kiszámolt globális mezőteljesítmény (GFP) görbéket ábrázolja a megfigyelő, cselekvő és együttműködő feladathelyzetben a NoGo kiváltott válaszok különbség görbéire (NoGo mínusz Go) vonatkozóan. Megfigyelő helyzetben a globális mezőteljesítménnyel mért GFP csoportkülönbsége nem éri el a statisztikai szignifikancia ($p < .05$) szintjét. A 240 msec körüli latenciával megjelenő válasz komponensnél mérhető globális mezőteljesítményt, amelyre a cikkben bemutatott elemzésekben fókuszáltunk az ábrán sárga színnel kiemeltük. Cselekvő és megfigyelő helyzetben a GFP érték az ADHD csoportban ezen komponens esetén szignifikáns csökkenést mutat, a kontrollhoz viszonyítva. Ezen kívül cselekvő helyzetben a posztstimulus 200–300 msec közötti latencia sávjában a kontroll, 600 msec után pedig az ADHD csoportban mérhető szignifikánsan magasabb GFP érték. Együttműködési feladathelyzetben a 160–550 msec közötti latencia sávjában az ADHD csoportban szignifikánsan alacsonyabb GFP mérhető, mint

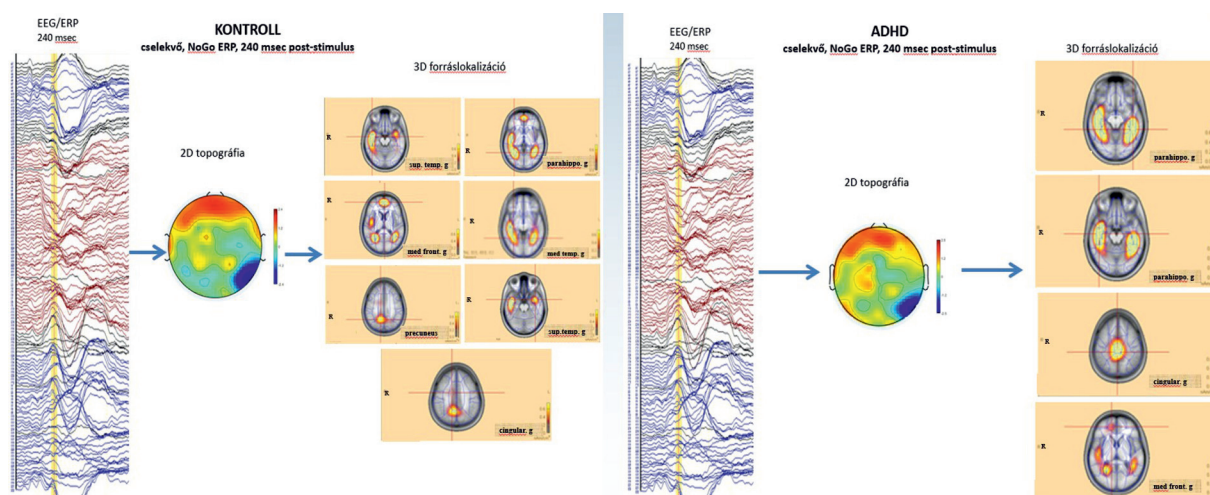
a kontrollban. Megfigyelhető az is, hogy a cselekvő és az együttműködési feladat során a globális mezőteljesítmény jóval magasabb, mint a megfigyelési feladatban.

Bioelektromos forráslokalizáció

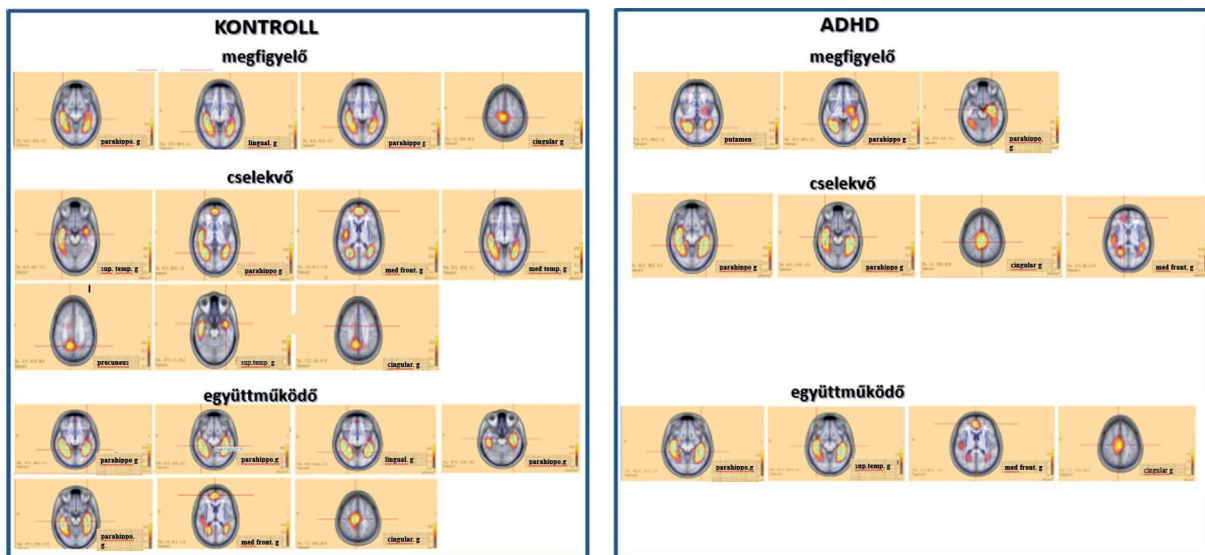
A 4. ábrán a bioelektromos forráslokalizációhoz vezető feldolgozási útvonalat („processing stream”) mutatjuk be cselekvő helyzetben a válasszgátlást megelőző döntési folyamatot kísérő kiváltott válasz komponensre (240 msec, sárga színnel jelölve). Látható, hogy bár az agyi források a kontroll és az ADHD csoportok között részben átfednek (pl. cingulum, medialis prefrontalis és parahippocampalis gyrusok), az ADHD csoport esetén kevésbé kiterjedt az aktiváció, kevesebb szignifikáns aktivitást jelző agyi forrással. A színes oszlopok az áramsűrűség nAm/cm³-ben kifejezett értékeihez tartozó skálaértékeket jelölik.

Forrástérképek összehasonlítása

Az 5. ábrán az agyi forrás-lokalizáció eredményei láthatók a kontroll és ADHD csoportban a megfigyelő, cselekvő és az együttműködő feladat helyzetekben (felülről lefele haladva). Látható, hogy az ADHD csoportban a kontroll csoporthoz képest mindegyik vizsgálati helyzetben kevésbé kiterjedt aktiváció, kisebb számú kiemelkedő agyi aktivitást mutató agyterület figyelhető meg (megfigyelő: kontroll=4, ADHD=3; cselekvő: kontroll=7, ADHD=6; együttműködő: kontroll=7,



4. ábra: A forráslokalizációhoz vezető feldolgozási útvonal („processing stream”) három fázisa a vizsgált csoportokban. Az első fázis a térbeli feldolgozás kiinduló adatainak előállítását, azaz a kiváltott válaszok (NoGo mínusz Go) csoportátlag görbéinek meghatározását foglalja magába a 128 érzékelő csatornára nézve. A 240 msec körüli latenciával megjelenő válasz komponens, amelyre a forráslokalizáció történt az ábrán függőleges sárga vonallal került kiemelésre. A második fázis a 2 dimenziós topográfiai térképek elkészítését foglalja magába. A topográfiai térképek az agyfelszínre vetített potenciál eloszlások microvoltban kifejezett értékeit jelenítik meg. A térképek mellett feltüntetésre került a potenciál térképek mikrovolt skálája. A harmadik fázisban 3 dimenziós agyi források meghatározása történt a két csoportban külön-külön. A forrástérképeken megjelölésre kerültek az agyi háttér aktivitáshoz képest szignifikánsan megnövekedett aktivitást mutató agyi régiók („források”). Egy-egy adott forrás esetén a maximális áramsűrűség értékek Talairach koordinátáihoz tartozó anatómiai címkék is feltüntetésre kerültek.



5. ábra: Az agyi forráslokalizáció eredményei a két vizsgálati csoportban (bal=kontroll, jobb=ADHD). A három feladathelyzetre (megfigyelő, cselekvő, együtműködő) vonatkozó eredményeket felülről lefele haladva tüntettük fel. Egy-egy adott forrás esetén a maximális áramsűrűség értékek Talairach koordinátáihoz tartozó anatómiai címkék is feltüntetésre kerültek.

ADHD=3). Megfigyelő helyzetben mindkét csoportban jellemzően a hátsó agyi régiók aktivációja figyelhető meg, de a kontroll csoportban emellett a cinguláris agyterület is fokozottan aktiválódik. A cselekvő és az együtműködő feladathelyzetekben a cinguláris, továbbá a mediális frontális agyterületek, valamint a parahippocampalis gyrus kiterjedt aktivációja mindkét csoportban megfigyelhető. Ez utóbbi feladathelyzetekben a fenti agyterületeken túl a kontrollcsoportban még a temporalis és a másodlagos vizuális feldolgozásban és memória-működésekben szerepet játszó agyi központok (precuneus, linguális gyrus) aktivációja is megfigyelhető. Ezen kívül észrevehetjük, hogy a globális mezőteljesítmény adatokkal összhangban a cselekvő és az együtműködési feladatban jóval kiterjedtebb az aktiváció, mint a megfigyelési feladatban.

Megbeszélés

A pszichiátriai betegségek neurobiológiai alapjainak tisztázása az immár több évtizedre visszanyúló intenzív kutatási erőfeszítések ellenére máig megoldatlan. A klasszikus agyi képalkotó eljárások (pl. MRI, PET) alkalmasak arra, hogy pontosan körülírják a pszichiátriai betegségekkel összefüggő strukturális és funkcionális károsodásokat, mivel nagy felbontással képesek megjeleníteni az agyi aktivitás helyét és kiterjedését, és téri feloldás tekintetében jelentősen felülmúlják az EEG-t. Ugyanakkor a hagyományos képalkotó módszerek számára az agyműködéssel együttjáró gyors időbeli változások legtöbbször hozzáférhetetlenek – nem alkalmasak az események időbeni szekvenciájának gyors, dinamikus feltárására. Felmerül tehát a kérdés, hogy a kiváló időbeli feloldással rendelkező EEG ese-

tében hogyan lehet a téri feloldást növelni. Ez a kérdés különösen releváns, ha figyelembe vesszük, hogy az agyi aktivitás jelentős részben bioelektromos folyamatokat tükröz. Következésképpen logikusnak tűnik ezen folyamatoknak egy megfelelő téri feloldással rendelkező bioelektromos „képalkotóval” történő vizsgálata. Az elmúlt években számos kísérlet történt a skalp-EEG téri feloldásának növelésére és 3-dimenziós forráslokalizációs megközelítések kidolgozására. Ennek következtében az utóbbi időben ezen a területen jelentős előrehaladás történt (*Michel and Murray, 2012*).

Jelen tanulmányban a szakirodalom és saját kutatásunkból vett példákon keresztül röviden bemutatjuk a bioelektromos képalkotás nyújtotta újabb lehetőségeket. A Nemzeti Agykutatási Program NAP3.0 projektje keretében végzett kutató-fejlesztő munkánk célkitűzése az agyban lejátszódó gyors folyamatok részleteinek feltárása az EEG-alapú bioelektromos forrásadatok alapján. Olyan eljárás kidolgozása, amely kihasználja az EEG kiváló időbeli felbontásában rejlő lehetőségeket, és ugyanakkor a sűrű érzékelős jelrögzítésnek köszönhetően pontos térbeli lokalizációt is szolgáltat. Ennek érdekében a projekt keretei között a munkacsoport egy bioelektromos képalkotó rendszer fejlesztését végezte. Kutatásunkban egy újszerű, 128 csatornás EEG-felvételre alapuló hiperszkennelési módszert alkalmaztunk. Ez lehetővé teszi két szociális interakcióban részt vevő személy egyidejű vizsgálatát, valamint a nagy denzitású EEG-felvételek alapján a vizsgált személyek agyi aktivitásának egyidejű forráslokalizációját. A tanulmányban röviden bemutattuk az alkalmazott módszer alapjait, valamint egészséges kontroll és ADHD-s felnőtt minta hiperszkennelési technológiával nyert sűrű

érzékeny EEG felvételeinek elemzésén és összehasonlításán keresztül a módszer segítségével nyert eredményeket.

Összességében, a kialakított bioelektromos forráslokalizációs (Pascual-Marqui et al, 1994; Hoehstetter K et al, 2010) és hiperszkennelési módszerrel (Babiloni and Astolfi, 2014) a szakirodalom alapján (Hari and Kujala, 2009) a szociális kognitív működésekben fontos szerepet játszó agyterületek (pl. medialis prefrontalis gyrus, superior temporalis gyrus), valamint a végrehajtó működésekhez kapcsolható agyi régiók (pl. cingularis kéreg) aktivitását dinamikusan, nagy téri pontossággal, ezredmásodperces idői feloldással, nem-invazív módon tudtuk nyomon követni. Kiemelendő, hogy az általunk alkalmazott NoGo munkamemória feladat közben az fMRI adatokkal (Aminoff et al, 2013) konzisztens módon a subcorticalis, parahippocampalis régió kiterjedt aktivitását sikerült igazolni. A feltárt diagnosztikai csoport-különbségek jelzik, hogy a módszer alkalmazása ígéretes lehet az olyan mentális betegségek kutatásában, amelyekben a szociális interakciós deficitek központi szerepet játszanak.

Anyagi támogatás: CP, KB, és BI a Nemzeti Agykutatási Program (NAP) keretei között a szkizofréria, ADHD és autizmus spektrum zavar területén végeznek kutatásokat, melyek támogatását a #NAP2022-I-4/2022 számú NAP3.0 projekt biztosítja.

Érdekeltségek: BI: (az elmúlt 3 évben) előadói díjat kapott: Gedeon Richter, Hikma Pharmaceuticals, Janssen/Janssen Cilag, Lundbeck, Medichem Pharmaceuticals Inc. by Unilab, Philippines, Mitsubishi Tanabe Pharma Singapore and Sun Pharma; tanácsadói díjat kapott: Gedeon Richter, Janssen/Janssen Cilag; kutatási támogatást kapott: Gedeon Richter; szerzői jogdíjat kapott: Oxford University Press.
CzP, KB: Nincsenek a kéziratral összefüggő érdekeltségeik.

Irodalom

- Aminoff EM, Kveraga K, Bar M. The role of the parahippocampal cortex in cognition. *Trends Cogn Sci* 2013; 17:379-390.
- Babiloni F, Astolfi L. Social neuroscience and hyperscanning techniques: past, present and future. *Neurosci Biobehav Rev* 2014;44:76-93.
- Beres AM. Time is of the Essence: A Review of Electroencephalography (EEG) and Event-Related Brain Potentials (ERPs) in Language Research. *Appl Psychophysiol Biofeedback* 2017;42:247-255.
- Castellanos FX, Di MA, Craddock RC, Mehta AD, Milham MP. Clinical applications of the functional connectome. *Neuroimage* 2013;80:527-540.
- Cho JH, Vorwerk J, Wolters CH, Knosche TR. Influence of the head model on EEG and MEG source connectivity analyses. *Neuroimage* 2015;110:60-77.
- Czobor P, Kakuszi B, Nemeth K, Balogh L, Papp S, Tombor L, et al. Electrophysiological indices of aberrant error-processing in adults with ADHD: a new region of interest. *Brain Imaging Behav* 2017;11:1616-1628.
- da Cruz JR, Favrod O, Roinishvili M, Chkonia E, Brand A, Mohr C, et al. EEG microstates are a candidate endophenotype for schizophrenia. *Nat Commun* 2020;11:3089.
- De Geus EJ. From genotype to EEG endophenotype: a route for post-genomic understanding of complex psychiatric disease? *Genome Med* 2010;2:63.
- Freeman WJ, Holmes MD, Burke BC, Vanhatalo S. Spatial spectra of scalp EEG and EMG from awake humans. *Clin Neurophysiol* 2003;114:1053-1068.
- Friederici AD. Neurophysiological markers of early language acquisition: from syllables to sentences. *Trends Cogn Sci* 2005;9:481-488.
- Galderisi S, Mucci A, Volpe U, Boutros N. Evidence-based medicine and electrophysiology in schizophrenia. *Clin EEG Neurosci* 2009;40:62-77.
- Hamalainen JA, Ortiz-Mantilla S, Benasich AA. Source localization of event-related potentials to pitch change mapped onto age-appropriate MRIs at 6 months of age. *Neuroimage* 2011;54:1910-1918.
- Hari R, Kujala MV. Brain basis of human social interaction: from concepts to brain imaging. *Physiol Rev* 2009;89:453-479.
- He B, Lian J, Li G. High-resolution EEG: a new realistic geometry spline Laplacian estimation technique. *Clin Neurophysiol* 2001; 112:845-852.
- Hoehstetter K, Berg P, Scherg M. BESA Research Tutorial 4: Distributed Source Imaging. 2010.
- Huang Y, Parra LC, Haufe S. The New York Head-A precise standardized volume conductor model for EEG source localization and tES targeting. *Neuroimage* 2016;140:150-162.
- Konvalinka I, Roepstorff A. The two-brain approach: how can mutually interacting brains teach us something about social interaction? *Front Hum Neurosci* 2012;6:215.
- Luck SJ. An Introduction to the Event-Related Potential Technique, 2nd ed: MIT Press. 2014.
- Luck SJ, Hillyard SA. Electrophysiological correlates of feature analysis during visual search. *Psychophysiology* 1994;31:291-308.
- Michel CM, Murray MM. Towards the utilization of EEG as a brain imaging tool. *Neuroimage* 2012;61:371-385.
- Nunez CE, Houtman F, Gevers W, Morrens M, Vermeylen S, Sabbe B, et al. Increased orienting to unexpected action outcomes in schizophrenia. *Front Hum Neurosci* 2012;6:32.
- Park SM, Jeong B, Oh DY, Choi CH, Jung HY, Lee JY, et al. Identification of Major Psychiatric Disorders From Resting-State Electroencephalography Using a Machine Learning Approach. *Front Psychiatry* 2021;12:707581.
- Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol* 1994;18:49-65.
- Seeber M, Cantonas LM, Hoevels M, Sesia T, Visser-Vandewalle V, Michel CM. Subcortical electrophysiological activity is detectable with high-density EEG source imaging. *Nat Commun* 2019;10:753.
- Skrandies W. Global field power and topographic similarity. *Brain Topogr* 1990;3:137-141.
- Song J, Davey C, Poulsen C, Luu P, Turovets S, Anderson E, et al. EEG source localization: Sensor density and head surface coverage. *J Neurosci Methods* 2015;256:9-21.
- Talairach.org (2015): <http://talairach.org/daemon.html> (last accessed: 05/10/2023).
- Vorwerk J, Cho JH, Rampp S, Hamer H, Knosche TR, Wolters CH. A guideline for head volume conductor modeling in EEG and MEG. *Neuroimage* 2014;00:590-607.
- Zhan X, Yu R. A Window into the Brain: Advances in Psychiatric fMRI. *Biomed Res Int* 2015;2015:542467.
- Zhang Y, Wu W, Toll RT, Naparstek S, Maron-Katz A, Watts M, et al. Identification of psychiatric disorder subtypes from functional connectivity patterns in resting-state electroencephalography. *Nat Biomed Eng* 2021;5:309-323.

Oxidatív-nitratív stressz és poli(ADP-ribóz)-polimeráz-aktiváció, mint kórélettani és prognosztikus marker

Oxidative-nitrative stress and poly(ADP-ribose)-polymerase activation as pathophysiological and prognostic marker

Hugonnai Vilma emlékérem és jutalomdíj

Dr. Horváth Eszter Mária

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Budapest

horvath.eszter@med.semmelweis-univ.hu

ÖSSZEFOGLALÁS A szervezetben fokozott oxidatív-nitratív stressz egyrészt az oxigén és nitrogén eredetű szabad gyökök és oxidánsok fokozott termelése, másrészt a szervezet csökkent antioxidáns kapacitása nyomán alakulhat ki. A felhalmozódó reaktív vegyületek reakcióba lépnek a sejteket alkotó fehérjékkel és lipidekkel, így károsítják a sejtalkotókat. E reakciók során keletkező végtermékek laboratóriumi kimutatása lehetőséget teremt az oxidatív-nitratív stressz mértékének megállapítására. Elsősorban a DNS károsodása miatt kialakuló poli(ADP-ribóz)-polimeráz-1 (PARP1) aktivációja jelentős szereppel bír a DNS javításában, azonban több sejthalál útvonal indukálásával fenntarthatja, sőt fokozhatja a szöveti károsodást és az oxidatív-nitratív stressz mértékét. Munkáink során az oxidatív-nitratív stressz és a PARP aktiváció patofiziológiai szerepét, illetve esetleges prognosztikus értékét vizsgáltuk.

Ezen összefoglaló közleményben az akut és krónikus szívelégtelenség, a diabetes mellitus és az egészséges és komplikációkkal szövődött várandósság és annak a terhesség utáni következményeivel kapcsolatos vizsgálatainkat mutatom be. Eredményeink alapján e megbetegedésekben kimutatható az oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció emelkedése nemcsak az érintett szövetekben, hanem a véralkotókban is, melynek mértéke több esetben összefüggést mutat a betegségre jellemző klinikai paraméterekkel, illetve terhesség esetében a szövődmények későbbi megjelenésével.

A véralkotókban mérhető oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció összefügg egyes kardiometabolikus betegségek kockázatával, illetve progressiójával, így mérése lehetővé teheti a betegek kockázatbecslésének és terápiás utánkövetésének pontosítását.

KULCSSZAVAK oxidatív stressz, PARP, diabetes mellitus, szívelégtelenség, GDM

SUMMARY Increased oxidative-nitrative stress develops as the result of the increased production of oxygen and nitrogen-derived free radicals and oxidants, and the reduced antioxidant capacity. Accumulating reactive compounds react cellular proteins and lipids, causing cellular damage. Detection of the end products of these reactions creates an opportunity to determine the degree of oxidative-nitrative stress. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) activation, primarily due to DNA damage, plays a significant role in DNA repair, however, by inducing several cell death pathways, it can maintain and even increase tissue damage and the degree of oxidative-nitrative stress. During our work, we investigated the pathophysiological role of oxidative-nitrative stress and PARP activation, as well as their possible prognostic value.

In this review, I present our studies related to acute and chronic heart failure, diabetes mellitus, and healthy and complicated pregnancies and their post-pregnancy consequences. Based on our results, in these diseases, an increase in oxidative-nitrative stress and PARP activation can be detected not only in the affected tissues, but also in blood components, the degree of which in several cases shows a correlation with the clinical parameters characteristic of the disease, and in the case of pregnancy, with the later appearance of its complications.

Oxidative-nitrative stress and PARP activation, which can be measured in blood components, correlates to the risk and progression of certain cardiometabolic diseases, so their measurement may improve patient risk assessment and therapeutic follow-up.

KEY WORDS oxidative stress, PARP, diabetes mellitus, heart failure, GDM

Oxidatív-nitratív stressz és poli(ADP-ribóz)-polimeráz-aktiváció

Oxidatív-nitratív stressz a fokozott oxigén és nitrogén eredetű szabad gyökök és oxidánsok termelése vagy a szervezet csökkent antioxidáns kapacitása nyomán alakul ki. A felhalmozódó reaktív vegyületek károsítják a sejtalkotókat, amely szöveti és szervi diszfunkció kialakulásához vezethet.

A szervezetben legnagyobb mennyiségben keletkező oxigén eredetű reaktív vegyület a szuperoxid, mely többek között keletkezhet a mitokondriális légzési lánc működése során, valamint fiziológiás és gyulladási folyamatokban a NADPH oxidáz enzimek hatására. A fiziológiás körülmények között keletkezett szuperoxid olyan élettanilag nélkülözhetetlen folyamatokban vesz részt, mint a pajzsmirigyhormonok szintézise, valamint a stabil kollagénszerkezet kialakítása. Abban az esetben azonban, ha valamely stimulus hatására a szükségesnél több oxigén eredetű reaktív vegyület keletkezik, és ezzel a szervezet endogén, illetve exogén antioxidáns rendszerei nem tudnak lépést tartani, oxidatív stresszről beszélünk. A keletkezett oxigén eredetű reaktív vegyületek spontán, illetve különböző enzimek hatására egymással, egyéb vegyületekkel kapcsolatba lépve további reaktív molekulákat hoznak létre, melyek egyik jellegzetes reakciója a lipidek peroxidációja. A sejtmembrán és az intercelluláris membránokat alkotó lipidek peroxidációja többek között a sejtmembrán, az endoplazmáris retikulum és a mitokondriális funkció megzavarásával az egész sejt működését befolyásolja. A keletkezett lipid peroxidok biokémiai és immunológiai módszerekkel kimutathatók a sejtekben, szövetekben, valamint a véralkotókban is, így a felhalmozódó oxidatív stressz és károsodás mérésére és követésére is lehetőséget adnak [1].

Ezzel párhuzamosan a nitrogén-monoxid-szintázok (NOS) által termelt nitrogén-monoxid (NO) maga is reaktív molekula. A termeléséért felelős enzimeket két csoportra oszthatjuk. Míg a konstitutív izoformák [endothelialis (eNOS), neuronális (nNOS)] NO termelése olyan funkciókhoz kötött, mint az artériák, arteriolák endothelfüggő relaxációja, az agyi vérkeringés lokális agyi aktivitásnak megfelelő szabályozása, retrográd neurotransmisszió stb; addig az indukálható izoforma (iNOS) funkcióját elsősorban gyulladási folyamatokhoz és egyéb patológiás változásokhoz kapcsolják. A NO reaktív tulajdonsága hozzájárul fiziológiás funkciójának ellátásához, hiszen a szolubilis guanilát cikláz NO általi nitrozilációja aktiválja az enzimet, ezzel simaizom relaxációt okozva. Érdekeség, hogy a NO reverzibilis módon képes nitrozilálni a hemoglobint, melynek mértéke függ a hemoglobin oxigénállapotától. Alacsony oxigénkoncentrációnál a nitrozilált hemoglobinról a NO felszabadul hozzájárul-

va az alacsonyan oxigénált területek vérellátásának fokozásához [2]. Emelkedett NO-termelés esetében azonban a fehérjék nitrozilációja azok funkcióját előnytelen irányba is befolyásolhatja, emellett a NO és a szuperoxid spontán reakciója során egy potens oxidáns, a peroxinitrit keletkezik. A nitrogén eredetű reaktív vegyületek, különösen a peroxinitrit jellegzetes reakciója a fehérjék tirozinon történő nitrálása (nitrotirozin-képződés). A funkcionális és struktúrféhrjék nitrozilációja és nitrációja módosíthatja azok aktivitását és működését, emellett kimutatásuk lehetőséget biztosít számunkra a kialakuló nitrozatív és nitratív stressz mértékének becslésére és követésére.

A felhalmozódó szabad gyökök és oxidánsok hatása a lipidek és fehérjék mellett a DNS is károsodhat. A DNS egyszáltörései obligát aktivátorai a sejtben található poli(ADP-ribóz)-polimeráz-1 (PARP1) enzimnek, mely minden eukarióta sejtben megtalálható kivéve a neurofil granulocytákat és az élesztőgombákat. A PARP1 aktivitását e mellett annak ERK 1/2 (extracelluláris szignál-regulált kináz), JNK1 (Janusarcú kináz), CaMK II δ (kalcium/kalmodulin függő protein-kináz) vagy AMPK (AMP-függő kináz) általi foszforilációja is fokozhatja [3]. Az enzim működése során szubsztrátként NAD^+ -ot használ, melyből ADP-ribózt szintetizál, köt és polimerizál magi fehérjékhez (PARiláció), többek között önmagához és hisztonokhoz, elősegíti a DNS-javító enzimek toborzását, mellyel hozzájárul a DNS-törés javításához. Az autopariláció fokozza az enzim működését, míg a reakció során keletkező nikotinamid gátolja azt. A DNS-törések és a PARilált fehérjék kimutatásával ugyancsak információt nyerhetünk az oxidatív-nitratív stressz, valamint a PARP-1-aktiváció mértékéről. Fontos megjegyezni, hogy a PARP1 egy népes, 18 tagot számláló, eltérő funkciókkal is rendelkező enzimes család legjelentősebb tagja, a magi PARiláció körülbelül 80%-áért felelős [1]. Szerkezetben és funkcióban a PARP2 enzim áll hozzá legközelebb. A PARiláció mérésekor ezért sok esetben nem PARP1- vagy PARP2-aktivációt, hanem egyszerűsítve PARP-aktivációt említünk.

Mint látjuk a PARP1-aktiváció jelentős szereppel bír a DNS javításában, mely tulajdonsága különösen jelentős a BRCA pozitív daganatsejtek számára. Ebből adódik a jelenleg forgalomban lévő PARP-gátló gyógyszerek indikációs területe, elsősorban ovarium- és heredaganatok fenntartó kezelése [4]. A DNS-javításban betöltött szerepe ellenére azonban a génexpresszió szabályozásával és több sejthalál útvonal indukálásával fenntarthatja, sőt fokozhatja a szöveti károsodást és az oxidatív-nitratív stressz mértékét. Többek között olyan transzkripciós faktorok expresszióját (AP-1, MAPK, NF- κ B) is emeli, melyek fokozzák a pro-inflammatorikus citokinek termelését, hozzájárulva az immunrendszer aktivációjához, mononukleáris

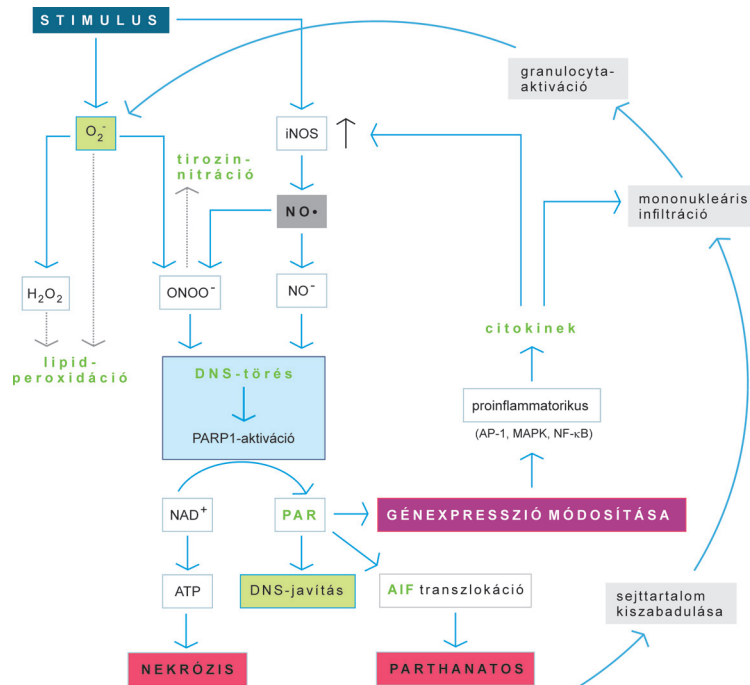
sejtek toborzásához és további oxigén és nitrogén eredetű szabadgyökök felszabadulásához. Amennyiben a celluláris károsodások hatására a sejtben apoptotikus folyamatok indulnak, az aktivált kaszpáz-3 hasítja és inaktíválja a PARP1-et, az egyik 89kDa méretű fragmentum kimutatása jelenleg is az apoptózis igazolásának egyik leggyakrabban használt módszere. Nagymértékű DNS károsodás és egyéb aktivitást fokozó körülmények hatására a PARP1 aktiváció olyan mértéket ölthet, melynek során rövid idő alatt nagy mennyiségű NAD^+ -ot használ fel működéséhez, ezért a sejtben NAD^+ , majd ebből fakadóan ATP-hiány alakul ki, mely a sejt nekrozisához vezethet. Ilyen körülmények között a nekrozis során felszabaduló sejt tartalom ugyancsak hozzájárul az immunrendszer további aktivitásfokozásához [1]. A PARP1 emellett igazoltan befolyásolja olyan egyéb sejthalálformák kialakulását, mint az autofágia vagy a nekroptózis [3, 5]. A PARP1 szempontjából talán legérdekesebb sejthalálforma nevét az enzimtermékről a poli(ADP-ribóz)ról és a görög mitológiában a halált megtestesítő Thanatos-ról kapta: parthanatos [5]. Ennek során az elsősorban a sejtmagban keletkező PAR-láncok egy része a nagyobb elágazódó láncoktól leszakadva valamely módon átjut a mitokondriumba, ahol kiváltja az apoptózis indukáló faktor (AIF) transzlokációját a mitokondriumból a magba, ahol a régi nómenklatura szerint kaszpáz független apoptózist hoz létre. E folyamat követése ugyan-

csak alkalmas az oxidatív-nitratív stressz által létrehozott sejt és szövetkárosodások mértékének felmérésére (1. ábra).

Tudományos kutatómunkánk során számos kutatócsoporttal együttműködve elsősorban az oxidatív-nitratív stressz és a PARP-aktiváció patofiziológiai szerepét, illetve esetleges prognosztikus értékét vizsgáltuk olyan betegségekben, mint a diabetes mellitus és a nyomában kialakuló vascularis diszfunkció, szívelégtelenség, gyulladásos folyamatok, polycystás petefészek szindróma stb, valamint a téma mellyel talán mind közül a legszéleskörűbben foglalkoztunk a terhesség és szövődményeinek kapcsolata az oxidatív-nitratív stresszel és PARP1-aktivációval.

Akut és krónikus szívelégtelenség

Korábbi állatkísérletek alapján ismert volt, hogy akut myocardialis infarctust követően, valamint krónikus szívelégtelenségben oxidatív-nitratív stressz és következményes PARP1-aktiváció alakul ki, valamint a PARP1 genetikai hiánya, illetve az enzim farmakológiai gátlása jelentősen mérsékli a szívfunkció csökkenését. Az ez irányú kutatások alapján *Zignarelli és munkatársainak* 1997-ben megjelent közleménye jelentette, melyben a myocardialis infarctus állatmodelljében, patkányok bal koronáriájának időleges lekötésével ischaemiás-reperfúziós károsodást hoztak létre. Az ennek hatására létrejövő myocardialis nekrozis területén



1. ábra. Az oxidatív-nitratív stressz és PARP1-aktiváció szerepe a sejt- és szövetkárosodások kialakulásában. A zöld betűvel írt jelenségek laboratóriumi kimutatása lehetőséget nyújt a folyamat vizsgálatára, az oxidatív-nitratív stressz mértékének becslésére. (iNOS: indukálható nitrogén-monoxid-szintáz, PARP1: poli(ADP-ribóz) polimeráz 1, PAR: poli(ADP-ribóz), AIF: apoptózis indukáló faktor, AP-1: aktivátor protein-1, MAPK: MAP-kináz, NF-κB: nukleáris faktor-κB) ([1] alapján)

és annak közelében fokozott nitrotirozin- és PAR-képződést figyeltek meg. Az első generációs PARP-gátló 3-aminobenzidin (3-AB) kezelés nemcsak a nitrotirozin- és PAR-képződés mértékét, hanem az infarctusos terület nagyságát és a plazma kreatin-foszfokináz-szintjét is csökkentette [6]. Ugyanez a munkacsoport egy évvel később hasonló módon létrehozott ischaemiás-reperfüziós károsodás esetében igazolta, hogy PARP1-deficiens egerekben ugyancsak kisebb mértékű szöveti károsodás és nitrotirozin-képződés figyelhető meg, melyben szerepet játszhat a csökkent mononukleáris infiltráció kialakulása is [7]. Néhány évvel később nagytestű állatokon, malacokon is igazolták a PARP-gátló kezelés hatásosságát ischaemiás-reperfüziós károsodás esetében; a PARP-inhibitor INO-1001 hatékonyan csökkentette az infarctusos terület nagyságát, valamint javította a szívizom kontrakciós képességét [8]. Ebben az időben azonban humán vonatkozású eredmények még nem voltak elérhetőek, melyben jelentős szerepet játszott a humán myocardium vizsgálatának nehézsége. A lehetséges minimálisan invazív vizsgálati lehetőségek keresése közben felmerült, hogy a lokálisan, a myocardialis infarctus területén kialakuló oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció részben a területen is áthaladó immunsejtek részvételével megjelenik, s így kimutathatóvá válik a véralkotókban, vagyis úgymond szisztémás oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció alakul ki a szervezetben. Ezt a feltételezést igazolták közleményükben *Murthy és munkatársai*, melyben a fentebb bemutatott patkánymodell felhasználásával kimutatták, hogy myocardialis iszkémiás-reperfüziós károsodást követően nő a keringő mononukleáris leukocitákban megfigyelhető PAR képződés mértéke. Abban az esetben, ha az állatokat a kísérlet során INO-1001-gyel kezelték, a mononukleáris sejtekben megjelenő PARP-aktiváció kisebb volt [9]. Akkori munkacsoportunk ezért humán vizsgálatban kívánta kimutatni a myocardialis infarctust és reperfüziót követő, véralkotókban mérhető oxidatív-nitratív stresszt és PARP-aktivációt. Ennek során ST-elevációval járó myocardialis infarctussal kórházba érkező betegektől a rajtuk elvégzett angiográfia megkezdése előtt, az érintett koronáriaág megnyitását követő 15 percn belül, valamint 24 és 96 órával a perkután coronariaintervenció (PCI) elvégzését követően vérmintákat vettünk. Kontrollként preventív angiográfián, vagy PCI-n átesett betegek vérmintái szolgáltak. Az oxidatív stressz mértékét a plazma összperoxid szintjének mérésével állapítottuk meg; koncentrációja a PCI elvégzését követő 24-dik órában mutatott szignifikáns emelkedést. A nitratív stresszt és PARP aktivációt a vérmintákból izolált mononukleáris sejtekben vizsgáltuk. Mindkét paraméter – tirozin-nitráció és PAR-képződés – esetében közvetlenül a PCI-t követően mértük a legmagasabb értékeket. A PARP-aktiváció hatására ki-

alakuló AIF transzlokáció azonban a PCI-t követő 96-dik órára mutatott szignifikáns emelkedést [10]. E vizsgálat során nemcsak a fenti folyamatok jelenlétét igazoltuk humán myocardialis infarctusban, hanem a véralkotókban kimutatható oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció meghatározás módszertanát és körélettani markerként történő felhasználását is teszteltük.

Így munkacsoportunk a későbbiekben a fenti módszertanhoz hasonlóan egyéb patológiás állapotokban is vizsgálni tudta e markerek jelenlétét és esetleges prediktív értékét. Egy ilyen vizsgálat során krónikus szívelégtelenségben mértük több véralkotóban meghatározható marker szintjét és elemeztük azok összefüggését a betegség aktuális klinikai megjelenésével. A vizsgálat kezdetekor már bizonyított volt az oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció jelenléte mind állatkísérletes modellekben, mind humán vizsgálatokban, ahol szívizom-biposziák, elhunytakból származó szövettani minták, valamint szívatültetés során eltávolított szívek szöveteinek vizsgálatával igazolták a fenti folyamatok jelenlétét és körélettani szerepét a szívelégtelenség és a hozzá társuló szövettani átépülés kialakulásában és fenntartásában [11-16]. A vizsgálatban NYIHA II-III-as stádiumú krónikus szívelégtelen betegek és korban, BMI-ben és cardiovascularis rizikófaktorok (dohányzás, diabetes mellitus, hypertonia, ischaemiás szívbetegség) szerint egyeztetett normál systolés funkcióval rendelkező önkéntesek vettek részt. Kimutattuk, hogy a krónikus szívelégtelen betegek véralkotóiban az oxidatív stresszre jellemző markerek – plazma-összperoxid, mononukleáris leukocytákban detektálható lipid-peroxidáció (4-hydroxynonenal) – mértéke szignifikánsan magasabb volt a kontrollcsoporthoz képest. Hasonlóképpen a nitratív stresszre jellemző tirozinnitráció, PARiláció és AIF-transzlokáció is emelkedett szintet mutatott a betegekből származó leukocytákban. A teljes vizsgálati kohorszban a mért változók közül a plazma összperoxid, a plazma összperoxid és teljes antioxidáns kapacitásának hányadosaként definiált oxidatív index, a leukocytákban detektálható lipid-peroxidáció, tirozinnitráció és PARiláció mértéke szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a résztvevők aktuális szívfunkcióját jellemző egyik paraméterrel, a plazma N-terminális pro-BNP szintjével. Emellett mindezen markerek szintje negatívan korrelált az alanyok ejekciós frakciójával is. A betegcsoportra szűkítve is vizsgáltuk az esetleges összefüggéseket, mely alapján a szívelégtelen betegek körében a plazma N-terminális pro-BNP szintje pozitív korrelációt mutat a plazma összperoxid, az oxidatív stressz index és a leukocyta PARiláció mértékével. Többváltozós regressziós modellben elemeztük tovább a két legszorosabb korrelációt mutató oxidatív-nitratív marker, a plazma összperoxid és az oxidatív index, összefüggését a szívelégtelenségre jellemző klinikai adatokkal (plaz-

ma N-terminális pro-BNP, ischaemiás szívbetegség, bal kamra végdiastolés és végsystolés átmérője). Ez alapján a szívelgtelen betegekben mérhető plazma összsperoxid- koncentráció független befolyásoló tényezője a plazma N-terminális pro-BNP szintje és az ischaemiás szívbetegség jelenléte. Az oxidatív index független meghatározó tényezőjeként a plazma N-terminális pro-BNP szintjét azonosítottuk. Adataink alapján tehát az oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció véralakítóknál mérhető markerei összefüggést mutattak a csökkent szívfunkcióval, illetve a krónikus szívelgtelenség klinikai megjelenésével [17].

Diabetes mellitus

A diabetes mellitus (DM) és szövődményeinek kialakulásában ugyancsak kiemelkedő szerepet játszik az oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció. A diabeteses betegek magasabb cardiovascularis rizikójáért is részben a rájuk jellemző magasabb oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció tehető felelőssé. A cardiovascularis megbetegedések előszobájaként is emlegett endotheldiszfunkció kialakulásában szerepet játszik a magasabb vércukorszint által okozott emelkedett oxidatív stressz, amely többek között az aldóz-reduktáz útvonal, az előrehaladott glikációs végtermékek (AGE), a protein-kináz-C jelátvitel által aktivált NADPH-oxidázok, a nitrogén-monoxid-szintáz „szétkapcsolása” által indukált fokozott oxidatív szabadgyök-termelés nyomán alakul ki. Számos állatkísérletes vizsgálat igazolta, hogy az oxidatív-nitratív stressz, illetve PARP aktiváció gátlása megelőzi, illetve javítja a diabetes mellitusban kialakuló vascularis és cardialis diszfunkció kialakulását [18]. Az e témával foglalkozó kutatócsoportok egy érdekes jelenségre figyeltek fel; a plazma glükózsintjének ingadozása és a posztprandiális glükózküszökök, melyeket a betegellátás során mért vércukor- és hemoglobin A1c (HbA1c) értékek nem mindig tükröznek, fontos tényezők a vascularis betegségek kialakulásában [19, 20]. A megfigyelés háttérben álló celluláris és molekuláris változásokról akkor nem sokat tudtunk. Azt azonban korábban is leírták, hogy váltakozó glükózkonzentrációjú tápoldatban tenyésztett humán köldökzsinór eredetű endothel-sejtekben magasabb tirozin-nitráció, adhézions molekula expresszió és gyulladásos citokineképződés figyelhető meg, mint stabilan magas glükóz koncentrációjú tápoldat esetében. Az adott kísérletben PARP gátlást alkalmazva a fenti változásokat sikeresen gátolták [21]. Így feltételezhető volt, hogy az oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció szerepet játszik a glükózsint-ingadozások által indukált vaszkuláris diszfunkció kialakulásában. Mi ezt az elméletet szeretnénk volna igazolni állatkísérletes modell felhasználásával. Ennek során streptozotocin kezeléssel diabetes mellitust (DM) indukáltunk hím Wistar-patkányokban, majd különböző in-

zulinkezelési protokollok segítségével négy csoportot hoztunk létre: (1) kontroll, (2) kezeletlen DM, (3) jó glykaemiás kontrollú kezelt DM, (4) rossz glykaemiás kontrollú DM (erősen ingadozó vércukorszinttel). A vizsgálat során kimutattuk, hogy az átlagosan alacsonyabb, de változékonyabb (rossz glykaemiás kontrollú DM) vércukorszint esetében a kialakuló endotél diszfunkció, az erekben mérhető nitratív stressz és PARP aktiváció kifejezettebb, mint átlagosan magasabb, de stabilabb vércukorszintnél (kezeletlen DM). Eredményeink jelezhetik az oxidatív-nitratív stressz és PARP aktiváció szerepét a magas glükóz variabilitás következményeinek kialakulásában [22, 23]. Az erekkel ellentétben a keringő leukocitákban mérhető PARP aktiváció az inzulin kezelés hatására mind a jó, mind a rossz glikémiás kontrollú csoportban csökkenést mutatott. Ezt a jelenséget egy másik vizsgálatunk során is megfigyeltük, ahol *Escherichia coli*-ből származó lipopoliszacharid adásával patkányokban endotoxaemiát hoztunk létre. A kialakuló gyulladásos folyamat során emelkedett a keringő leukocitákban mérhető PARP aktiváció, azonban ezt inzulin adásával csökkenteni tudtuk, melynek háttérben egyrészt az immunreakció során fellépő stressz indukálta hiperglikémia mérséklése, másrészt az inzulinak a mononukleáris sejtekre kifejtett direkt hatása állhatott. Az inzulin esetleges direkt hatását in vitro sejtenyészetben vizsgáltuk, melynek során igazoltuk, hogy glükózkonzentrációtól függetlenül az inzulin képes csökkenteni a mononukleáris sejtek PARP-aktivációját [24].

A diabetes mellitus szövődményei kapcsán sajnos még napjainkban is számos esetben alakul ki diabeteses láb szindróma talaján nehezen vagy egyáltalán nem gyógyuló fekélyes elváltozás, mely sokszor amputációhoz vezet. A nehezen gyógyuló fekélyek egy lehetséges alternatív kezelési lehetősége a hiperbárikus oxigénterápia. Ennek során a betegek kúraszerűen, több alkalommal egy kesztonkamrában, megfelelő előkészületek után, 3 bar nyomáson 100%-os oxigént lélegeznek be. Így a vérplazmában oldott oxigén koncentrációja mintegy százszorosára növe elősegíti az oxigénhiányos területek megfelelő gázcserejét, több szempontból elősegítve a seb gyógyulását. A hiperbárikus oxigénkezelés során megnövekedett vér és szöveti oxigéntartalom azonban bizonyítottan emeli a vérben, így az erekben és a szívben mérhető oxidatív stresszt [25]. Az ily módon megemelkedett oxidatív stressz ronthatja a betegek cardiovascularis állapotát. Mi azonban azt szeretnénk volna vizsgálni, hogy a kúraszerűen alkalmazott hiperbárikus oxigénkezelést követő későbbi időszakban is megfigyelhetők-e ezek a jelenségek, vagy csak közvetlenül a magas oxigénszinteket követően, akutan vannak jelen. A diabetes mellitus fentebb elmített állapotmodelljében kimutattuk, hogy a diabeteses láb kezelésére kúraszerűen alkalmazott hiperbárikus oxigénkezelés

hosszabb távon nem rontja a cardiovascularis funkciót, mérsékli a plazmában mérhető oxidatív stressz (malonil-dialdehid) és a szívben és aortában mért PARP-aktiváció diabetesben megfigyelt emelkedését [26]. Ez alapján hasonlóság fedezhető fel a hiperbárikus oxigénkezelés és a rendszeres testedzés közép-távú hatásában olyan tekintetben, hogy annak ellenére, hogy mindkettő akutan emeli az oxidatív stressz mértékét, hosszabb távon azonban csökkentik azt [27]. Emellett eredményeink alapján feltételezhető, hogy diabetes mellitusban kúraszerűen alkalmazott hiperbárikus oxigénterápia nem rontja a betegek cardiovascularis rizikóját.

Várandósság

A várandósság sok szempontból is kiemelkedő élet-tani kihívást jelent a női szervezet számára. Ez alól az oxidatív-nitratív stressz és annak terhesség alatti fiziológiás és kóros emelkedései sem jelentenek kivételt. Már a 2000-es évek elején voltak megfigyelések, melyek szerint a várandósság előrehaladtával emelkedik az oxidatív stressz mind a placentában, mind az anyai szervezetben. Elsősorban a harmadik trimeszterben tapasztaltak magasabb plazmaperoxidszinteket az első és második trimeszterhez képest [28]. Egyes feltételezések szerint a terminus közeledtével a placentában felhalmozódó oxidatív stressz szerepet játszhat a szülés beindításában is, sőt egyes gyulladási folyamatok, fertőzések kapcsán fokozódó szabadgyök-termelés a koraszülés patogenezisében is szerepet játszhat [29-31]. Arra utaló vizsgálatok is ismertek voltak, hogy komplikációval (gestatiós diabetes mellitus, praeeclampsia) szövődött terhességekben magasabb oxidatív stressz mérhető a placenta és a köldökzsinór szöveteiben, valamint az anyai és a magzati vérben [32-34]. Azonban e vizsgálatokat elsősorban a harmadik trimeszterben végezték, így a terhesség korábbi időszakáról, akár az adott komplikáció diagnózisának felállítására előtről nem volt információnk az oxidatív stressz alakulásáról.

Ezért munkacsoportunk a terhesség középidéjétől, a 16. gestatiós héttől vonta be vizsgálatába a várandós anyákat, majd a 16–29, illetve 36–40. gestatiós héten vett vérmintákban mérte az oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció mértékét. A gestatiós diabetes mellitus (GDM) kialakulását a vizsgálati kohorszban a 16., illetve negatív eredmény esetében a 26. héten elvégzett orális glükóztolerancia-teszt segítségével mértük fel. A GDM a szénhidrát-anyagcsere zavara, melyet a terhesség során ismernek fel. Kialakulásában szerepet játszanak a terhesség során termelt diabetogén hormonok. Az esetek döntő többségében a terhességet követően a cukorháztartás rendeződik, azonban akut és krónikus szövődményei mind az anyát, mind a magzatot érinthetik.

Vizsgálatunk eredményei alapján szövődménymentes terhességben is lineárisan nő a gestatiós idővel a keringő leukocytákban mért nitratív stressz és a PARP-aktiváció. GDM-mel szövődött terhességben a keringő leukocyták PARP-aktivációja már a terhesség középidéjében (16–24. hét) is kifejezett. Ez a PARP-aktiváció pozitív lineáris összefüggést mutat az OGTT 2 órás értékével. A legmagasabb PARP-aktiváció azokban a betegekben volt mérhető, akik a későbbiekben inzulinkezelésre szorultak. Ezek alapján a terhesség viszonylag korai szakaszában mért magas PARP-aktiváció előre jelezheti a GDM későbbi kialakulását és annak várható súlyosságát. A súlyos, inzulinkezelésre szoruló betegek esetében az inzulinkezelés megkezdése után a leukocytákban csökkent a PARP-aktiváció mértéke. Ezzel szemben a placentában és a köldökzsinór szöveteiben tapasztalható tirozin-nitráció, PARP-aktiváció és AIF-transzlokáció a súlyos, inzulinkezelésre szoruló GDM-mel szövődött terhességekből származó mintákban volt a legmagasabb [35]. Ezen ellentmondás hátterében az inzulin hatására a mononukleáris leukocytákban a már korábban megfigyelt csökkenő PARP-aktiváció is szerepet játszhat [24]. Legújabb, még nem publikált adataink alapján a terhesség 11–13 hete között egy, az oxidatív stresszre utaló plazmában mérhető marker szintje magasabb azon várandós nők esetében, akiknél később GDM alakul ki.

Az első és a második trimeszter határán, a 11–13. héten ultrahangvizsgálat során mért artéria uterina pulzatilitási index, mely az adott ér áramlási karakterisztikáját és ellenállását jellemzi, széleskörben elfogadott markere a fiziológiás placentáció folyamatának. A klinikai gyakorlatban az emelkedett pulzatilitási index magasabb kockázatot jelent olyan terhességi szövődmények kialakulására, mint a praeeclampsia és az intrauterin fejlődési elmaradás. Vizsgálatunkban így olyan várandósokat vizsgáltunk, akiknek alacsony, illetve magas pulzatilitási indexet mértek terhességük 12–13. hetében. Magas pulzatilitási index esetében korábbi eredményeknek részben ellentmondó eredményeket kaptunk. Az eddigi vizsgálatokban a komplikációval szövődött esetekben általában magasabb oxidatív-nitratív stresszt tapasztaltak, mi azonban alacsonyabb plazma összperoxid- és magasabb teljes antioxidáns kapacitást mértünk a magas pulzatilitási indexű csoportban [36]. Az ellentmondás hátterében a placentáció során végbemenő, az oxigén és nitrogén eredetű szabadgyökök termelését befolyásoló folyamatok állhatnak. A placenta fejlődése során erre az időszakra jellemző az anyai vér betörése a intervillósus térbe megemelve a lokális oxigén parciális nyomását nagyjából 20 Hgmm-ről 60 Hgmm-re, így fiziológiás placentáció esetében ebben az időszakban az oxidatív stressz emelkedése várható [37]. Ezt a későbbiekben a placenta antioxidáns kapacitásának növekedése kompenzálja [38]. Az elma-

radó vagy kisebb mértékű oxidatív „robbanás” vizsgálatunkban így a nem megfelelő placentációt tükrözheti, melyet alátámaszthat az e betegekben mért alacsonyabb LDH-szint is [36].

Ismert, hogy többszöri szülést, valamint GDM-et követően magasabb a nők metabolikus és cardiovascularis kockázata [39-42]. Az emelkedett oxidatív-nitratív stressz és PARP aktiváció, valamint a kardiometabolikus betegségek patogenezise közötti összefüggésről már a korábbiakban is esett említés. Ezért következő vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy három évvel a szülést követően kimutatható-e az oxidatív-nitratív stressz és PARP-aktiváció emelkedése egészséges és enyhe vagy súlyos (inzulinnal kezelt) GDM-mel szövődött terhességet követően, valamint ez összefüggést mutat-e a szénhidrát-háztartás és a cardiovascularis rendszer aktuális állapotával. A kontrollcsoportokat korban és BMI-ben egyeztetett nullipara nők és férfiak alkották. Kimutattuk, hogy három évvel a várandósságot követően nőkben emelkedett plazma-összperoxid szint mérhető, mely további emelkedést mutat a terhesség során súlyos, inzulinnal kezelt, GDM-ben szenvedő nők esetében. A plazma-összperoxid szinttel korrelációt mutatott a korábbi terhesség, valamint az aktuális C-reaktív protein szint [43]. Súlyos inzulinnal kezelt GDM-et követően az emelkedett oxidatív stresszel párhuzamosan kimutatható volt a mikrokeringés zavara is [44]. Érdekes megfigyelés, melyre egyéb munkacsoportok is felhívták a figyelmet, hogy az emelkedett oxidatív stressz kialakulásában az életmód és társadalmi-gazdasági tényezők is jelentős szerepet játszhatnak [42, 43]. Az oxidatív stresszel ellentétben, a keringő leukocytákban mérhető tirozin-nitráció és PARP-aktiváció mértéke nem különbözött a csoportok között, azonban szignifikánsan magasabb volt az orális glükóztolerancia teszt 120. percében, azonban a növekedés mértéke függött attól, hogy a három évvel korábbi terhesség során szükség volt-e inzulinkezelésre [43]. Eredményeink alapján a terhességet követően megfigyelhető emelkedett oxidatív stressz szerepet játszhat a korábban súlyos gestatiós diabetesben szenvedő nők magasabb metabolikus és cardiovascularis kockázatának kialakulásában.

Konklúzió

Az emelkedett oxidatív-nitratív stressz és PARP aktiváció szerepet játszik számos metabolikus és cardiovascularis megbetegedés patogenezisében. Klinikai vizsgálatok is alátámasztják a magasabb oxidatív stressz és az alacsonyabb antioxidáns kapacitás összefüggését a magasabb kardiometabolikus kockázattal. Állatkísérletes eredmények alapján a különböző antioxidáns terápiák, a C- és E-vitamintól a flavonoidokon keresztül a szintetikus scavenger molekuláig, javítják e betegségek lefolyását. Az e szerek hatékonyságát

vizsgáló nagy klinikai vizsgálatokban mégsem sikerült áttörő eredményeket elérni [45-47]. Így az oxigén és nitrogén eredetű reaktív vegyületek élettani és kóreltani szerepével kapcsolatban még számos nyitott kérdés vár tisztázásra. Az oxidatív-nitratív stressz és PARP aktiváció összefüggése egyes kardiometabolikus betegségek kockázatával, illetve progressziójával lehetővé teheti e markerek használatát a betegek kockázatbecslésének és terápiautánkövetésének pontosítására.

Pénzügyi támogatás. Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal: NKFIH-FK 129206, OTKA-PD 113022, OTKA-K 105555, OTKA-NK 49488, Semmelweis Egyetem: STIA-18, Zsigmond Diabetes Alapítvány, Harc a Női Szívért Alapítvány, Magyar Hypertonia Társaság, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, Magyar Állami Eötvös Ösztöndíj

Köszönetnyilvánítás. Szerenték köszönetet mondani az Élettani Intézet és a Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet igazgatóinak, *Prof. Dr. Mócsai Attilának, Prof. Dr. Hunyady Lászlónak, Prof. Dr. Benyó Zoltánnak, Prof. emerita Dr. Ligeti Erzsébetnek, Prof. emeritus Dr. Kollai Márknak, és Prof. emeritus Dr. Monos Emilnek.* Témavezetőimnek, *Prof. Dr. Szabó Csabának, Prof. Dr. Benyó Zoltánnak, Prof. emeritus Dr. Sándor Péternek, és Prof. Dr. Lacza Zsombornak.* A bemutatott kutatásokban részt vevő kollaborátorainknak, *Prof. Dr. Ács Nándornak, Prof. Dr. Várbíró Szabolcsnak, Dr. Valent Sándornak, Dr. Török Olgának, Prof. Dr. Vásárhelyi Barnának, Dr. Karvaly Gellértnek, Prof. Dr. Tamás Gyulának, Prof. Dr. Tabák Ádámnak, Dr. Lévárdi Ferencnek, Prof. Dr. Merkely Bélának, Prof. Dr. Radovits Tamásnak, Dr. Zima Endrének, Prof. emeritus Préda Istvánnak, Dr. Tóth-Zsámboki Emesének, Prof. emerita Dr. Somogyi Anikónak, Dr. Tőkés Annamáriának és a Hiperbár központnak. A munkacsoport bemutatott vizsgálatokban részt vevő volt és jelenlegi tagjainak, *Dr. Benkő Ritának, Dr. Gerszi Dórának, Dr. Bányai Bálintnak, Dr. Sziva Réka Eszternek, Dr. Bárány Tamásnak, Dr. Béres Nórának, Dr. Penyige Áronnak, Dr. Sárjai-Szabó Boglárkának, Mezei Zsuzsannának, és Ke Haorannak.* Valamint az idézett saját közlemények összes társszerzőjének.*

Irodalom

1. Virág L, Szabó C. The therapeutic potential of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. *Pharmacol Rev*, 2002. 54(3):375-429.
2. Premont RT, et al. Red Blood Cell-Mediated S-Nitroso-hemoglobin-Dependent Vasodilation: Lessons Learned from a γ -Globin Cys93 Knock-In Mouse. *Antioxid Redox Signal*, 2021. 34(12):936-961.
3. Virág L, et al. Poly(ADP-ribose) signaling in cell death. *Mol Aspects Med*, 2013. 34(6):1153-67.
4. Curtin NJ, Szabo C. Therapeutic applications of PARP inhibitors: anticancer therapy and beyond. *Mol Aspects Med*, 2013. 34(6): 1217-56.

5. Aredia F, Scovassi AJ. Poly(ADP-ribose): a signaling molecule in different paradigms of cell death. *Biochem Pharmacol*, 2014. 92(1):157-63.
6. Zingarelli B, et al. Protection against myocardial ischemia and reperfusion injury by 3-aminobenzamide, an inhibitor of poly(ADP-ribose) synthetase. *Cardiovasc Res*, 1997. 36(2):205-15.
7. Zingarelli B, Salzman AL, Szabó C. Genetic disruption of poly(ADP-ribose) synthetase inhibits the expression of P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ Res*, 1998. 83(1):85-94.
8. Khan TA, et al. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition improves postischemic myocardial function after cardioplegia-cardiopulmonary bypass. *J Am Coll Surg*, 2003. 197(2):270-7.
9. Murthy KG, et al. Activation of poly(ADP-ribose) polymerase in circulating leukocytes during myocardial infarction. *Shock*, 2004. 21(3):230-4.
10. Tóth-Zsámboki E, et al. Activation of poly(ADP-ribose) polymerase by myocardial ischemia and coronary reperfusion in human circulating leukocytes. *Mol Med*, 2006. 12(9-10):221-8.
11. Kass DA, Shah AM. Redox and nitrosative regulation of cardiac remodeling. *Antioxid Redox Signal*, 2013. 18(9):1021-3.
12. Pacher P, et al. The role of poly(ADP-ribose) polymerase activation in the development of myocardial and endothelial dysfunction in diabetes. *Diabetes*, 2002. 51(2):514-21.
13. Pillai JB, et al. Increased expression of poly(ADP-ribose) polymerase-1 contributes to caspase-independent myocyte cell death during heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005. 288(2):H486-96.
14. Molnár A, et al. Activation of the poly(ADP-ribose) polymerase pathway in human heart failure. *Mol Med*, 2006. 12(7-8):143-52.
15. Soriano FG, et al. Potential role of poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial contractile dysfunction associated with human septic shock. *Crit Care Med*, 2006. 34(4):1073-9.
16. de Jonge N, et al. Cardiomyocyte death in patients with end-stage heart failure before and after support with a left ventricular assist device: low incidence of apoptosis despite ubiquitous mediators. *J Heart Lung Transplant*, 2003. 22(9):1028-36.
17. Bárány T, et al. Oxidative Stress-Related Parthanatos of Circulating Mononuclear Leukocytes in Heart Failure. *Oxid Med Cell Longev*, 2017. 2017:1249614.
18. Szabo C. Role of nitrosative stress in the pathogenesis of diabetic vascular dysfunction. *Br J Pharmacol*, 2009. 156(5): p. 713-27.
19. Temelkova-Kurktschiev TS, et al. Postchallenge plasma glucose and glycemic spikes are more strongly associated with atherosclerosis than fasting glucose or HbA1c level. *Diabetes Care*, 2000. 23(12):1830-4.
20. Hanefeld M, et al. Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia*, 1996. 39(12):1577-83.
21. Piconi L, et al. Intermittent high glucose enhances ICAM-1, VCAM-1, E-selectin and interleukin-6 expression in human umbilical endothelial cells in culture: the role of poly(ADP-ribose) polymerase. *J Thromb Haemost*, 2004. 2(8):1453-9.
22. Horváth EM, et al. Rapid 'glycaemic swings' induce nitrosative stress, activate poly(ADP-ribose) polymerase and impair endothelial function in a rat model of diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2009. 52(5):952-61.
23. Horváth E, Szabo C. A rat model of glycaemic variability. Reply to Zaccardi F, Pitocco D, Ghirlanda G [letter]. *Diabetologia*, 2009. 52(8):1691-1692.
24. Horváth EM, et al. Treatment with insulin inhibits poly(ADP-ribose) polymerase activation in a rat model of endotoxemia. *Life Sci*, 2008. 82(3-4):205-9.
25. Efrati S, et al. Hyperbaric oxygen, oxidative stress, NO bioavailability and ulcer oxygenation in diabetic patients. *Undersea Hyperb Med*, 2009. 36(1): 1-12.
26. Benkő R, et al. Hyperbaric Oxygen Therapy Dampens Inflammatory Cytokine Production and Does Not Worsen the Cardiac Function and Oxidative State of Diabetic Rats. *Antioxidants (Basel)*, 2019. 8(12).
27. Kähler W, et al. Influence of hyperoxia and physical exercise on *OH-radical stress in humans as measured by dihydroxylated benzoates (DHB) in urine. *Undersea Hyperb Med*, 2013. 40(3): 231-8.
28. Toescu V, et al. Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated by diabetes. *Clin Sci (Lond)*, 2004. 106(1): 93-8.
29. Nakai A, et al. Changes in maternal lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activities before and after delivery. *J Nippon Med Sch*, 2000. 67(6): 434-9.
30. Yaacobi N, Ohel G, Hochman A. Reactive oxygen species in the process of labor. *Arch Gynecol Obstet*, 1999. 263(1-2):23-4.
31. Fainaru O, et al. Active labour is associated with increased oxidisibility of serum lipids ex vivo. *Bjog*, 2002. 109(8): p. 938-41.
32. Coughlan MT, et al. Altered placental oxidative stress status in gestational diabetes mellitus. *Placenta*, 2004. 25(1):78-84.
33. Rajmakers MT, Dechend R, Poston L. Oxidative stress and preeclampsia: rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension*, 2004. 44(4):374-80.
34. Sankaralingam S, et al. Increased lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 expression in the maternal vasculature of women with preeclampsia: role for peroxynitrite. *Hypertension*, 2009. 53(2):270-7.
35. Horváth EM, et al. Nitrate stress and poly(ADP-ribose) polymerase activation in healthy and gestational diabetic pregnancies. *Diabetologia*, 2009. 52(9):1935-43.
36. Gerszi D, et al. Evaluation of oxidative/nitrative stress and uterine artery pulsatility index in early pregnancy. *Physiol Int*, 2021. 107(4): 479-490.
37. Burton GJ, et al. HYPOXIA AND REPRODUCTIVE HEALTH: Oxygen and development of the human placenta. *Reproduction*, 2021. 161(1):F53-f65.
38. Pereira, A.C. and F. Martel, Oxidative stress in pregnancy and fertility pathologies. *Cell Biol Toxicol*, 2014. 30(5): p. 301-12.
39. Kramer CK, Campbell S, Retnakaran R. Gestational diabetes and the risk of cardiovascular disease in women: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*, 2019. 62(6):905-914.
40. Juan J, et al. Progression to type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes mellitus diagnosed by IADPSG criteria: Systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2022. 13:1012244.
41. Liu B, Jorm L, Banks E. Parity, breastfeeding, and the subsequent risk of maternal type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2010. 33(6): 1239-41.
42. Skilton MR, et al. Parity and carotid atherosclerosis in men and women: insights into the roles of childbearing and child-rearing. *Stroke*, 2009; 40(4):1152-7.
43. Horváth EM, et al. Oxidative-Nitrative Stress and Poly(ADP-Ribose) Polymerase Activation 3 Years after Pregnancy. *Oxid Med Cell Longev*, 2018; 2018:1743253.
44. Horváth EM, et al. The severity of gestational diabetes mellitus affects microvascular dysfunction measured three years after pregnancy that may be related to increased oxidative stress. *Orv Hetil*, 2015. 156(47):1932-6.
45. Asbaghi O, et al. Effect of vitamin E intake on glycemic control and insulin resistance in diabetic patients: an updated systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutr J*, 2023. 22(1):10.
46. Shamsudin NF, et al. Flavonoids as Antidiabetic and Anti-Inflammatory Agents: A Review on Structural Activity Relationship-Based Studies and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci*, 2022. 23(20).
47. Joris PJ, Mensink RP. Effects of supplementation with the fat-soluble vitamins E and D on fasting flow-mediated vasodilation in adults: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*, 2015. 7(3):1728-43.

Modern májsebészet, a Prométheus legenda újraéledése

Modern liver surgery: The legend of Prometheus reborn

Jendrassik Ernő emlékérem és jutalomdíj

Dr. Szijártó Attila

Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinika, Semmelweis Egyetem
steg@semmelweis-univ.hu

ÖSSZEFOGLALÁS *Bevezetés:* A májsebészet fejlődését meghatározó kutatási eredmények a molekuláris folyamatok pontosabb feltérképezése révén lehetővé tették a klinikai gyakorlatban alkalmazható biztonságosabb eljárások elterjedését. A kutatási eredmények számos potenciális kísérleti irányt vetettek fel, melyek elősegíthetik a perioperatív időszak mélyebb megértését.

Célkitűzés: Munkásságom során célom volt olyan hepatopancreobiliaris sebészeti munkacsoport létrehozása, ahol transzlációs kutatások segítik a mindennapos májműtétek biztonságos és szakszerű elvégzését.

Módszerek: Kutatásaink során rágcsálómodelleken vizsgáltuk a májregeneráció folyamatait. A morfológiai és szövettani változások mellett a funkcionális kapacitást ICG-clearance, 99mTc-mebrofenin, és PET tesztekkel jellemeztük.

Eredmények: Vizsgálataink során kimutattuk, hogy a két-lépcsős hepatectomiákat követő funkcionális regeneráció elmarad a morfológiai regenerációhoz viszonyítva, mely háttérben a mitochondriumok energetikai diszbalanca áll. Azonban a preoperatív időszakban alkalmazott prehabilitációs program ezt képes kiküszöbölni, a gyulladós folyamatok csökkentése mellett.

Következtetések: Vizsgálatainkkal bebizonyítottuk, hogy a megfelelő betegszelekció és kellő preoperatív terápia kedvezően befolyásolja a máj regenerációs folyamatain túl a morbiditási és mortalitási arányok változását, a nagyfokú regeneráció háttérben ismertté vált molekuláris folyamatokon keresztül.

KULCSSZAVAK májsebészet, kisállat modell, máj regeneráció, mitochondrialis diszfunkció, prehabilitáció

SUMMARY *Introduction:* Understanding the signal transduction pathways of the liver was crucial in the development of liver surgery as it enabled novel operative approaches. As we understand more about liver regeneration, new research questions arise, e.g. related to the influence of the perioperative period.

Aim: My aim was to establish a hepato-pancreo-biliary surgical research group to be able to perform safer and state-of-the-art liver surgeries by applying the results of translational research.

Methods: We study the mechanism of liver regeneration in rodent models. Our experiments rely on the apparent changes of liver morphology and histology. Furthermore, the functional capacity is examined by ICG-clearance, 99mTc-mebrofenin scintigraphy, and PET-CT.

Results: According to our results, following a two-staged hepatectomy, the liver function is delayed compared to the morphological changes due to the energetic disbalance of the mitochondria. However, by the application of physical prehabilitation, we were able to overcome the mitochondrial dysfunction. This shows an advantageous effect on liver regeneration with a significant decrease in the inflammatory response.

Conclusions: Our studies demonstrated that liver regeneration could be increased by proper preoperative management and patient selection. Furthermore, it improves the morbidity and mortality rates. This enhanced regeneration is due to newly described molecular pathways.

KEY WORDS liver surgery, rodent modell, liver regeneration, mitochondrial dysfunction, prehabilitation

Rövidítések

ALAT Alanine Aminotransferase
ALPPS Associating Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy
ASAT Aspartate Aminotransferase
CT Computed Tomography

EGF Epidermal Growth Factor
FLR future liver remnant
HABR Hepatic Arterial Buffer Response
ICG-clearance Indocyanine green clearance test
MRI Magnetic Resonance Imaging
NFκB Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cell
NOS Nitric Oxide Synthase

PET	Positron emission tomography
PHLF	Posthepatectomy Liver Failure
PVE	portal vein embolisation
PVL	portal vein ligation
PVO	portal vein occlusion
RO	Residual tumor 0
SPECT	Single Photon Emission Computerized Tomography
TGF	Transforming Growth Factor
TNF α	Tumor Necrosis Factor-alpha

Modern májsebészet, a Prométheus legenda újraéléde

„... ahol egy az élet, egy lehet csak az élettan, egy a boncz- és kórtan is. A ne legyen egyedül külformákban alapuló, ész nélküli kézmű, hanem az egészet egyes részeiben feltaláló tudomány.”

Balassa János

Világunk jelenének és jövőjének alapját az elmúlt évszázadok tudományos kutatásai és innovatív ötletei határozzák meg. Az elmúlt 100 év technológiai fejlődésének köszönhetően az egészségügy is olyan szintre ért, ahol a pontos diagnosztikai eljárások mellett, a kezelések személyre szabottá váltak, valamint a tüneti terápiákat felváltotta a megbetegedések pontos molekuláris útvonalak mentén történő gyógyítása. A sebészeti szakmákat tekintve alkalmunk nyílt többek között laparoscopus és robotasszisztált műtétek elvégzésére, a nagyobb megterhelést jelentő nyitott hasi műtétekkel szemben, mely szintén a betegek jobb életminőségét és kisebb fokú megterhelését mozdítja előre. Mindezen eredmények eléréséhez számos kutatómunkára volt szükség, mely képes volt feltérképezni például az intraoperatív vérzéscsillapítás lehetőségeit, valamint lefektetni a modern anesztézia elméleti és farmakológiai alapjait is. Utóbb említett kutatási eredményeknek köszönhetően tudott a májsebészet fejlődni és újszerű technikákat kifejleszteni. Kísérletek százai mára elvezettek minket oda, hogy a májban zajló molekuláris folyamatokat pontosabban ismerjük, így a mindennapi sebészetben alkalmazott műtéti technikák ezen eredmények mentén léptek a fejlődés útjára [1]. A fenti idézet, mely világhírű sebész professzorunktól, *Balassa Jánostól* származik, hasonló gondolatok mentén született.

A májsebészetben a fent említett technikai fejlődések, illetve az egyre szélesebb körű onkológiai kezelések eredményeként a radikális és „visszafogott” sebészi megközelítések változva követték egymást. Kezdetben a modern sebészet megszületésével, és a tumorbiológia nem teljesen pontos ismeretében az agresszívabb, radikálisabb sebészeti megoldások jelentek meg. Ennek eredményeként a kiterjesztett májresectiók szinte „velejárója” volt a magas mortalitás. 1977-ben megjelent közleményben elfogadható volt, hogy a megoperált

májsebészeti esetek 20%-a meghalt a műtőasztalon a masszív vérzés miatt, majd további 14%-os mortalitás volt észlelhető a közvetlen posztoperatív időszakban, melynek oka a további nagyfokú vérvesztés volt, majd akár további 15% a posztoperatív májelégtelenségben hunyt el. A mortalitás mindösszesen 49%-os volt. Ma, egy komplex májsebészeti centrumban kórházi mortalitás nem lehet több 3%-nál [1, 2].

A kezdeti, radikalitást hozó lelkesedést felváltották a visszafogottabb, csupán az áttéti laesiók resectiói, melyek kevesebb műtéti szövödményt hoztak, ugyanakkor az onkológiai láb akkori hiánya miatt, újra a radikális vonal erősödött. A fejlődő sebésztechnikai eszközök (pl. ultrahangos vágók, vérzéscsillapító eszközök) és a fejlődő aneszteziológia és intenzív terápia ismét bátorságot adott a sebészeknek, mely eredményeként a kiterjesztett resectiók kora reneszánszát élte. A kiterjesztésnek csupán az elegendő visszamaradó volumen szabott gátat. Mivel a májszövet primer és szekunder megbetegedéseinek resectióját kezdetben az ismert anatómiai képletek alapján végezték el, azonban a nagykiterjedésű és multiplex daganatok esetében a nagymértékű parenchymavesztés posthepatectomiás májelégtelenséghez (PHLF: posthepatectomy liver failure) vezetett. Ebben az időszakban a műtétek elvégzését nagyban befolyásolta a májban diagnosztizált metastasisok száma, mérete, valamint a neoplasma extrahepaticus megjelenése [3]. A primeren resecabilis áttéti tumorok aránya az összes eset közel csak 20–30%-át jelentette. A nagykiterjedésű daganatos megbetegedésben szenvedő páciensek jelentős aránya (közel 70%-a) nem bizonyult resecabilisnek, hiszen a kismértékben visszamaradó májparenchyma (FLR: future liver remnant) posthepatectomiás májelégtelenséghez vezetett volna. Az FLR megnövelése és így nagyobb fokú resectiók kivitelezésére egyre nagyobb igény támadt. A betegek közel 10–15%-a úgynevezett borderline resecabilis csoportba tartozik, azaz sebésztechnikailag a resectio elvégezhető lenne, de ugyanakkor a megmaradó májszövet (FLR) kevésnek bizonyulna [4-6].

Korábbi leírások alapján már ismert volt a máj nagyfokú regenerációs képessége, azonban a vena portae occlusio következtében indukálható májregeneráció meglepő eredménynek számított. A mechanizmus felismerése vezette el a sebésztársadalmat oda, hogy a visszamaradó májszövet térfogatát megnövelve képesek legyenek multiplex, akár mindkét lebenyt érintő elváltozások, akár időben eltolással végzett resectiójára. Ezen eljárásokat kétlépcsős hepatectomiának nevezzük, mivel az első lépcsőben elvégezzük a tumoros (döntően jobb) oldalhoz futó vena portae lekötését vagy embolizációját majd 4–6 hét várakozást követően, az ipsilaterlis oldal zsugorodása és a contralaterlis oldal hypertrophiája után elvégezhető a tumoros rész resec-

tiója, mivel a bent maradó (általában bal) oldal kellő nagyságot elérve kiküszöböli a PHLF kialakulását.

A kétlépcsős resecestiók típusai magukba foglalják a vena portae occlusió technikákon belül a vena portae ligaturát (PVL) és embolizációt (PVE), valamint az ALPPS-nak (Associating Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy) nevezett beavatkozást, műtéti eljárást. Az utóbbi eljárás a máj jobb oldali portaág lekötésén túl a parenchyma egyidejű szétválasztását is jelenti, a regenerációs folyamatok gyorsítása érdekében. Ennek eredményeként napjainkra szinte elegendő lett az R0 resectióra és a megfelelő mennyiségben visszamaradó, ép biliovascularis nyéllel és jó vénás elfolyással bíró májszövetre (FLR) figyelemmel lenni az operációt megelőzően [3].

Az ALPPS legnagyobb előnye abban mutatkozott meg, hogy az I. (vena porta lekötés és paranchyma tervezett átvágása) és II. műtétek (a zsugorodott tumoros rész eltávolítása) közötti időszak 3–4 hétről, mely a PVO két lépése között szükséges várakozási idő, mindössze 6–10 napra rövidült. A volumenregeneráció tekintetében sokkal robusztusabb változás következett be ALPPS esetén, azonban a kezdeti lelkesedést és reményt hamar visszájára fordította a posztoperatív időszak során tapasztalt rendkívül magas morbiditási és mortalitási arány, mely utóbbi akár 10–30% is lehetett [7]. Bár az elvégzett CT-volumetriás vizsgálatok a szerv visszamaradó parenchyma mennyiségét elegendőnek ítélték meg, a klinikai tapasztalatok ezt mégsem igazolták. Mindezen folyamatok háttérben számos okot feltételeztek, azonban a májban zajló pontos mechanizmusok megértéséhez további kutatásokra volt szükség.

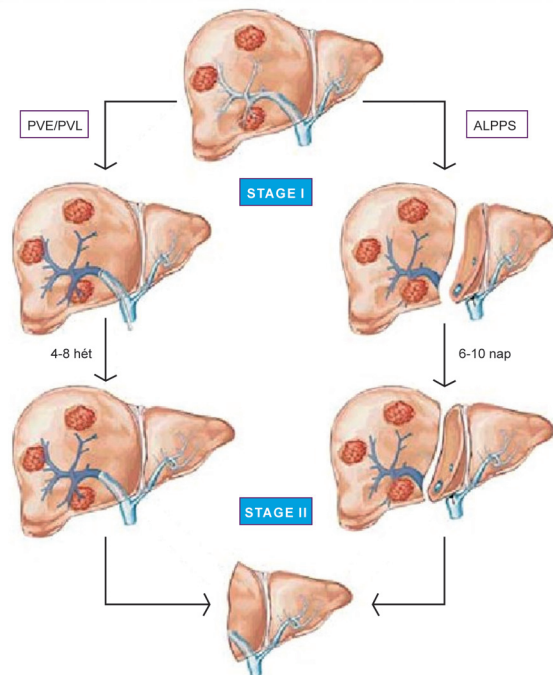
Munkásságom során igyekeztem ennek megfelelően, olyan kutatócsoportot és egyben tudományos műhelyt kialakítani, mely a translációs kutatások révén képes hozzájárulni jelen tudásunk bővítéséhez, a bizonytalan rejtő folyamatok pontosabb leírásához. A fent említett eljárásokra alapozott kutatásainkat és elméleti háttérüket szeretném a továbbiakban ismertetni.

Kétlépcsős hepatectomiák (PVO, ALPPS)

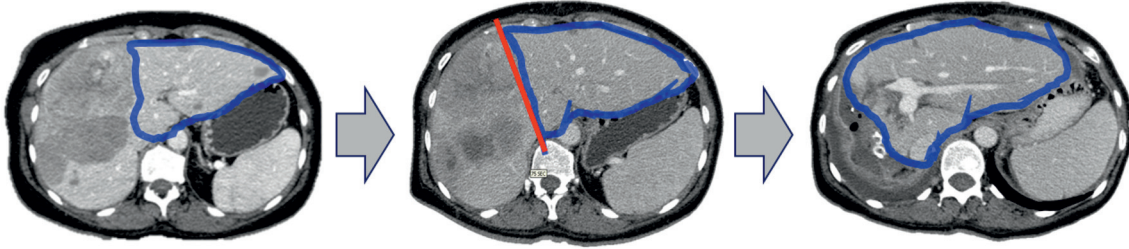
1879-ben *Theodor von Frerichs* [8], német patológus érdekes megfigyelést tett a máj regenerációs képességével kapcsolatban, mely később jelentősen meghatározta a májsebészet fejlődését. Elsőként dokumentált egy olyan esetet, melyben a májkapuban növekvő szifilisz gumma a vena portae elzáródását okozva az azonos oldali parenchyma atrophiját és az ellenoldali lebeny hypertrophiáját okozta. Bár megfigyelését csak érdekes esetként közölte, *Peyton Rous* és *Louis Larimore* potenciális lehetőséget véelve benne, kutatásaikkal 1920-ban nyulakon bizonyították, hogy a vena portae ágainak elzáródása esetén az érintett lebenyré-

szek atrophyat szenvednek el, míg az intakt lebenyek esetén kompenzatórikus hypertrophia megy végbe [9]. A pontos mechanizmus megértéséhez számos állatmodell kidolgozása történt a 20. században, mely lehetővé tette többek között a különböző százalékos arányban deportalizált lebenyekben végbemenő parenchyma változások és a májregeneráció kapacitásának vizsgálatát rágszálakon, kutyákon, sertéseken és majmokon [10-12]. Bebizonyosodott, hogy a máj nagyfokú regenerációs képessége számos előnyt hoz a májsebészetben, így 1990-ban *Makuuchi* munkatársaival elvégezte az első, humán gyógyászatban alkalmazott vena portae occlusiót [13, 14]. Az eljárás legnagyobb előnyét a máj daganatsebészetében az adja, hogy az atrophia-hypertrophia komplex kialakulásának következtében lehetővé válik a visszamaradó májszövet volumennövekedése, indukált májregeneráció révén, mely két műtéti lépésben a teljes daganat eltávolítását eredményezi. A vénás ág occlusioja ligatúrával (PVL) vagy embolizációval (PVE) érhető el, majd 3–4 hetet követően elvégezhetővé válik a második operáció. A két lépés közötti időszak az ALPPS eljárás elterjedésével rövidült csupán 6–10 napra (1. ábra). A két fő occlusió technika közötti különbség az első operáció során történik, hiszen a megfelelő portalis ágak lekötése mellett, a lekötött-nem lekötött lebenyek határán, az ischaemiás vonal mentén, parenchyma transseciót hajtunk végre.

Az első operációt követően elvégzett CT-volumetria vizsgálatok sok esetben az FLR kellő fokú volu-



1. ábra. Kétlépcsős hepatectomiák: felosztás a műtéti lépések alapján valamint az I. és II. műtét között eltelt idő szerint. Az FLR növelését célzó eljárások közé soroljuk a PVO technikákat (PVL és PVE) valamint az ALPPS operációt [15].



2. ábra. Visszamaradó májszövet hypertrophiája: Az FLR (kék vonal által körülhatárolt terület) növekedése jól nyomon követhető a CT-volumetria során. Az ábrán a piros vonal mutatja a lekötött és nem lekötött lebenyek közötti parenchyma transsectiót.
Forrás: az ábra a Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinika saját képanyaga

mennövekedését jelzik, melyek alapján a második műtét is elvégezhetőnek minősül, azonban a visszamaradó májleány funkciója számos esetben elégtelen, mely CT-volumetria alapján nem mérhető fel (2. ábra). Ennek következménye az ALPPS műtétet követő rendkívül magas morbiditási és mortalitási arány.

A következő fejezetekben ismertetett kutatási eredményeink a szakirodalomban fellelhető három fő hipotézist vizsgálják sorra. A kompenzatorikus hypertrophia kialakulását elsőként a jelentős funkcionális májparenchyma-vesztésnek titulálták, hiszen a bekövetkező hypertrophia arányos az eltávolított májszövet mennyiségével [16]. *Lamotte és munkatársai* azonban bebizonyították, hogy az atrophia kialakulását megelőzően számos korai változás megy végbe az ép szövetben, mely az indukált sejtproliferációt megelőzi és előkészíti. Mindezek alapján a vena portae ágainak lekötését követő haemodinamikai változások mentén született meg az áramlási teóriaként elterjedt hipotézis, mely koncepciója az oclusio következtében az intakt ereken keresztülhaladó vér, érfalakra kifejtett hatására épül [17-19]. Ez egyben magába foglalja a harmadik, humorális teória kérdéskörét, tekintve hogy az intakt lebenyekben áramló vér minőségében változik meg az oclusiót követően [20-23]. Számos növekedési faktorról és molekuláris bizonyították, hogy a gastrointestinalis rendszer felől áramló vérben szintjük, a vena portae oclusiót követő percekben, jelentősen megemelkedik.

Tekintettel arra, hogy a műtét indukálta, valamint posztoperatív időszakban bekövetkező folyamatok molekuláris szinten változtatják meg a májban zajló szignáltranszdukciós útvonalakat, kutatásaink során igyekeztünk körüljárni ezen témaköröket kisállat modellek segítségével, melyek válaszul szolgáltak a műtétet háttérben húzó kedvező és kedvezőtlen hatásokra.

Hemodinamikai és morfológiai változások, indukált májregenerációt követően

Elsősorban megvizsgáltuk a különböző műtéti eljárások által előidézett hemodinamikai és szövettani változásokat, hiszen a májregenerációt indukáló vena

portae oclusio számos olyan keringésszervi változást hoz létre, mely kulcsfontosságú a hypertrophia-atrophia komplex kialakulása és így a regenerációs folyamatok aktiválódása szempontjából. Továbbá megváltoztatja a lobulusok és a vénás hálózat (portalis és centrális vénák) morfológiáját [24, 25].

A vena portae bizonyos ágainak lekötése ugyan a szervezet szintjén nem befolyásolja a főbb keringési paramétereket, azonban a splanchnicus keringési rendszerben jelentős változásokat idéz elő. A ligatura következtében redukálódott érkeresztmetszet, a portalis nyomás jelentős emelkedését okozza, mely a lekötött lebenyek esetén 45–50%-os keringésszervi csökkenéshez vezet a teljes hepaticus vérellátást tekintve [26]. A lekötés mértékéhez képest kismértékű változás háttérben, a „hepatic arterial buffer response” (HABR) áll, mely hatására a lecsökkent portalis keringéssel rendelkező lebenyekben az artériás áramlás a 3–4-szeresére emelkedik. Azonban a lecsökkent portalis véráramlás következményeként elégtelenné válik a sinusok perfúziója, hypoxia alakul ki az érintett területeken. Ezzel szemben a nem lekötött lebenyekben 230%-kal megnő a teljes hepaticus keringés, hiszen a gastrointestinalis rendszer felől érkező teljes vérmennyiség itt kényszerül keresztülhaladni. A megnövekedett portalis beáramlás miatt az artériás keringés csökkenő tendenciája tapasztalható [27]. Kezdeti kísérleteink az előzőekben ismertetett folyamatokat vizsgálta 80%-os PVL patkány modellben. Amint az az eredményeinkből is látható volt, a portalis ágrendszerbe történő beavatkozás, gyors és heves reakciót vált ki a splanchnicus keringési rendszerben, azonban néhány nap (állatkísérletek esetén 7 nap) leforgása alatt a pre-PVO szintre térnek vissza [25]. Mindezen változások észlelése mellett kimutattuk, hogy a nem lekötött lebenyekben a regenerációt követően a májlobulusok megnövekednek, illetve a portalis és centrális vénák meghosszabbodnak és elágazóbbá válnak. Fontos felismerés volt, hogy a máj alapszerkezeti egységei az acinusok nem osztódnak a regeneráció alatt, de a benne lévő sejtek hyperplasiájának eredményeként az acinus mérete megnő. Ez a későbbiekben egy fixálódó, moderált portalis hipertenzióhoz vezet, hiszen csupán a

megemelkedett nyomás képes a rendszerben az acinus vascularis hajtóerejét fenntartani.

Az eredményeink alapján felmerült a kérdés, hogy a microcirculációs és a mikroszkopikus morfológiai változások miként változtatják meg a máj makroszkópos szerkezetét?

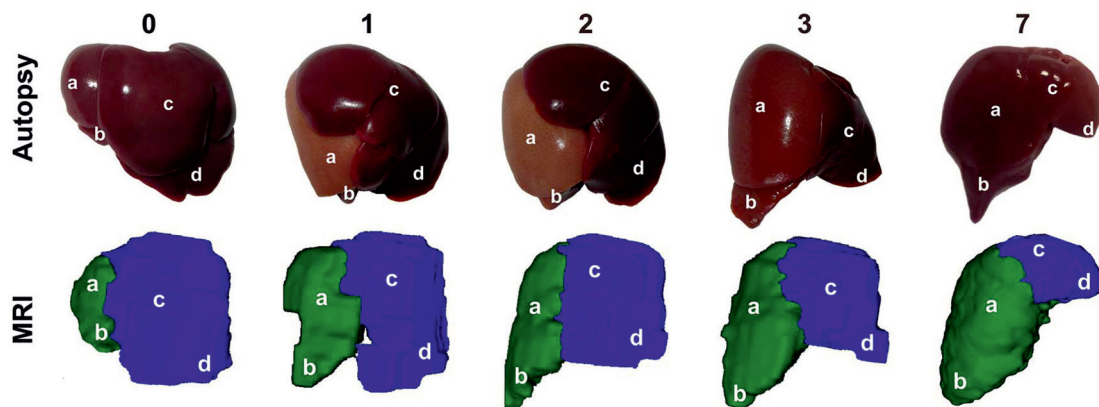
Ennek vizsgálatára PET-MR segítségével következtettünk. A regenerálódó és nem regenerálódó lebenyek térfogatát MR-rel, míg a hepatocyták metabolikus aktivitását PET-tel követtük nyomon. Az irodalmi adatokkal is egybecsengő eredményeink azt mutatták, hogy egészséges májszöveten végzett PVL-t követően a lekötött lebenyekben atrophia alakul ki, a kezdeti májtömeg egynegyedére történő csökkenése következtében, a centrolobularis necrosis és apoptoticus folyamatok miatt. Ezzel szemben a nem lekötött lebenyekben kialakuló kompenzatorikus hypertrophia szövettanilag bizonyított valódi sejtes regenerációnak bizonyult, mely előidézte a lobulusok hypertrophiáját. Mindezen változások 7 nap alatt úgy következtek be, hogy a teljes májtömeg mindvégig konstans maradt. A máj ezen morfológiai változását nevezzük atrophia-hypertrophia komplex kialakulásának [28] (3. ábra).

Bár az atrophia-hypertrophia komplex kialakulásának folyamatával számos közlemény foglalkozott, nem találtunk választ azon kérdéseinkre, hogy a májszövetet ellátó portalis ágak nagyobb arányban történő occlusiója miként befolyásolja a májregeneráció dinamikáját. Vajon tovább fokozható a regeneráció mértéke vagy éppen ellenkezőleg, határt szab az indukált folyamatoknak? Hipotézisünk alapja az irodalomban is fellelhető áramlásos teória („blood-flow” theory) volt, mely véleményezte a vena portae occlusio következtében megemelkedő vérátáramlás szerepét a máj regenerációs folyamataiban. A megnövekedett áramlás következtében a sinusoidok falára kifejtett nyírófeszültség, olyan molekulák aktiválódását vonja maga után (pl. NOS, c-fos, c-myc, c-jun, TGF, EGF), melyek nagy

szerepet játszanak a szerv megújulásában. Vizsgálataink során olyan patkánymodellt dolgoztunk ki, mely lehetővé tette a májszövet ellátását szolgáló portalis erek 70–80–90%-ának occlusióját [29–32]. A meghatározott posztoperatív órákban azt tapasztaltuk, hogy a teljes májtömeg ugyan nem növekedett az atrophia-hypertrophia komplex kialakulása során, azonban a májregeneráció dinamikája szignifikánsan megváltozott. Tapasztalataink azt mutatták, hogy a nagyobb arányú, tehát 90%-os PVL, nagyobb fokú regenerációt eredményez. A műtétek során alkalmazott leköteket azonnal a portalis nyomás emelkedése kísérte, mely megfigyeléseink ennek következtében pontosan illeszkedtek a nemzetközi kutatócsoportok előzetes vizsgálataihhoz, továbbá bebizonyítottuk, hogy a vena portae ágainak nagyobb arányú leköteése nem veti vissza a regeneráció folyamatát, nem okoz az intakt lebenyek esetén apoptosist vagy necrosist, éppen ellenkezőleg, megnöveli a hepatocyták mitotikus aktivitását és szignifikánsan megnöveli a májregeneráció dinamikáját. A legerősebb összefüggést a mitotikus index és a portalis nyomásnövekedés között tapasztaltuk, illetve eredményeink azt mutatták, hogy a 90%-os occlusiót követően egy nappal hamarabb bekövetkezik a sejtosztó-dási csúcs.

Érdekes megfigyelés volt egyben az is, hogy a lekötött oldalon a májfunkció elmarad, hiszen a máj metabolizmusának alapját képező portalis vér nem jut be. Egyfajta funkcionális atrophia jön létre, melynek egyik jele, hogy a lekötött lebenyben a kapillárisokon észlelhető fenesztráció eltűnik. A májszövet az anyagcsere szempontjából addig teljesen átjárható endothelrendszer felváltja a kisebb pórúsméret, mely a „csupán” artériás ellátású szervekre jellemző kapilláris-endothel mintázatot adja. Ez a jelenség a pszeudokapillarizáció.

Annak ellenére, hogy a különböző vizsgálótechnikák lehetővé tették a sejtosztódás kimutatását és egyben bizonyították azt, hogy a máj hypertrophiája során



3. ábra. Atrophia-hypertrophia komplex kialakulásának folyamata: PVL-t követően az 1, 2, 3. és 7. posztoperatív napokon mind makroszkóposan, mind MR-vizsgálattal jól nyomonkövethető a lekötött lebenyek (kék) atrophija és a nem lekötött lebenyek (zöld) hypertrophiája [28]

nem oedemásan duzzad meg, illetve nem csupán a sejtek mérete növekszik meg, mégsem mutatták ki az akkori kutatási eredmények, hogy a regenerációs folyamat alatt aktívan funkcionáló lebenyeket alakítunk-e ki, vagy a nagy energiaigényű regeneráció miatt éretlen, nem vagy alulműködő sejtek alkotják a parenchymát. Következő kísérleteinkben ennek megfelelően figyelmünk a funkcionális regeneráció vizsgálatára irányult, PVL és ALPPS műtétek esetén [33].

A funkcionális regeneráció, mint a műtétek időponttervező faktora

A kétlépcsős hepatectomiák során láthattuk, hogy a második műtét elvégezhetőségét a CT-volumetria során meghatározott visszamaradó májparenchyma mennyisége befolyásolta. Azonban a volumennövekedés mellett a kellő fokú funkcionális regenerációról sem szabad elfeledkezni, hiszen végső soron megfelelően működő májszövet kell, hogy visszamaradjon a második műtét végére. Ezen problémakör vizsgálatára számos metodikai vizsgálat honosodott meg, a laborparaméterek (ASAT, ALAT) értékelésétől kezdődően, az ICG epébe történő szekrecióján át, az objektíven értékelhető képalkotó vizsgálatokig. Bár kísérleteink során mi is elvégeztük az ICG-clearance vizsgálatokat, az objektivitás és standardizálás következtében a legmegbízhatóbb eljárásnak a technécium-mebrofeninnel történő SPECT-vizsgálatot tekintettük, hiszen a máj globális és regionális funkciójáról is pontosabb képet szolgáltat.

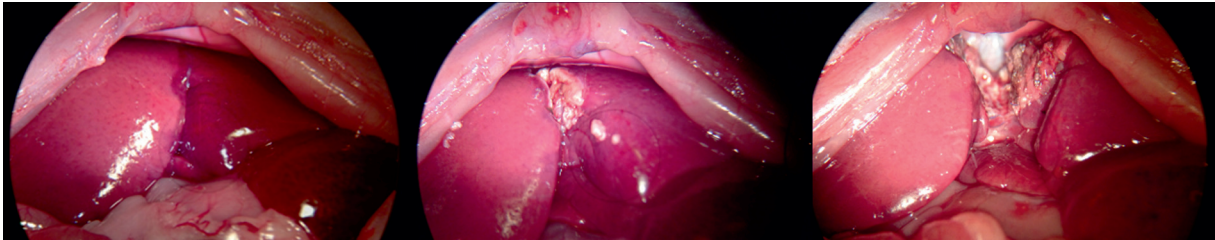
A PVL által indukált regeneráció során azt láttuk, hogy a morfológiai regenerációhoz képest a funkcionális regeneráció hamarabb következik be, annak ellenére, hogy kezdetben globális funkciócsökkenést tapasztaltunk. A lekötések követően a regenerálódó lebenyek funkciójában egy átmeneti csökkenést követően növekvő volt a tendencia, hiszen a nem leköött lebenyek a deportalizált lebenyek funkcióját átvenni kényszerültek. Meglepő felfedezés volt az a tény, miszerint a leköött lebenyekben még a műtétet követő 2. héten is találhatóak voltak funkcionálisan aktív hepatocyták [32, 34, 35]. Ezen megfigyelés szolgált alapul azon elképzelésünknek, mely alapján szelektíven és reverzibilisen embolizált portális ágak által kívántuk megnövelni az intakt májlebenyeket. A felhasznált embolizációs anyag mindaddig elzárva tartja a portális ágakat, míg az atrophia-hypertrophia komplex kialakul. Az occlusiós anyag abszorpcióját követően az atrophizálódásnak indult lebenyek újra működőképessé válhatnak. Ezen folyamat megvalósítása révén a májsebészet másik ágának, a májtranszplantációnak problematikája is válaszra találna, hiszen a májbeültetések elvégzésének egyik fő limitálótényezője az elégtelen számú donorszerv. Amennyiben képesek lennének reverzibilis embolizáció révén egészséges egyének máját megnövelni, úgy jelentősen több májtranszplantáció elvégzésére lenne

lehetőségünk. Hipotézisünk vizsgálata még számos kutatást igényel, azonban nagy előrelépést jósol.

Az előzőekben ismertetett eredményeink elvezettek minket azon felismerésekre, hogy a vena portae ágainak lekötésével indukálható a máj regenerációja, mely során a funkcionális regeneráció mértéke meghaladja a volumenregenerációt a vizsgált posztoperatív időszak alatt. Ezen stabilabb energetikai folyamat bár időben 3–4 hetet igényel, azonban a posztoperatív időszakot morbiditás és mortalitás tekintetében kedvezően alakítja. Továbbiakban vizsgáltuk az ALPPS módszer esetén a volumen- és a funkcionális regeneráció kapcsolatát, hiszen ezen Prométheuszi szintre emelt májregeneráció számos előnnyel kecsegtetett.

Az ALPPS névre keresztelt újszerű műtéti eljárás, a kétlépcsős hepatectomiák I. és II. műtete közötti hosszú várakozásból adódó hátrányt csökkentette le, hiszen az elvégzett beavatkozások alapján már kezdetben is azt tapasztalták, hogy 6–10 napra redukálódik a két operáció közötti időszak. A rendkívül nagyfokú volumenregenerációra magyarázatként két fő hipotézist állítottak fel. Nagy szerepet tulajdonítottak az ALPPS során átvágásra kerülő portoportalis collateralisoknak, mely eredményeképp teljes elválasztás valósulhat meg a regenerálódó és a nem regenerálódó lebenyek között. Mindezen kívül a regeneráció hátterében a kauterizáció által indukált nagyfokú gyulladással választ sejtették kulcsfontosságú tényezőnek. A magas morbiditási és mortalitási adatok azonban nem igazolták a vélt előnyök hatékonyságát. Szükségessé vált az ALPPS-sel kapcsolatos ismeretek bővítése, a háttérben húzódó folyamatok feltérképezése, melybe kutatócsoportommal is bekapcsolódtunk, ezzel is lehetővé téve, hogy ALPPS I. műtét után bekövetkező molekuláris változások ismerete elősegítse betegeink minél biztonságosabb ellátását. Kisállatokon elvégezhető, a humán operáció lépéseit hűen reprezentáló, műtéti modellt kerestünk és állítottunk fel laborunkban. A PVL műtétek során begyakorolt lépéseket, a deportalizált és nem deportalizált lebenyek között húzódó vonal mentén történő parenchyma transsectionnal egészítettük ki [15] (4. ábra).

A modell felállítását követően először megvizsgáltuk, hogy a kialakuló gyulladással választ milyen mértékben befolyásolja a májregenerációt PVL és ALPPS esetén. A sejtproliferáció és a regenerációs ráta függvényében értékelve a gyulladással választ sejtették kulcsfontosságú. A vena portae ágak lekötését követő parenchyma transsectio által kiváltott gyulladással választ sejtették kulcsfontosságú. A gyors proliferációs válaszáért. Bár a proinflammatorikus folyamatoknak kedvező szerepet tulajdoníthatunk, a



4. ábra. Rágcsádon elvégzett ALPPS operáció intraoperatív képe: Az első képen látható a lekötött (élénk bordó) és a nem lekötött (halvány bordó) lebenyek éles határa. A középső kép szemlélteti az ischaemiás vonal elektrokauterrel kijelölt vonalát, míg a harmadik képen az elvégzett parenchyma-transsectio látható. Forrás: Sebészeti, Transzplantáció és Gasztroenterológiai Klinika, Kísérleti Műtőjének saját képanyaga

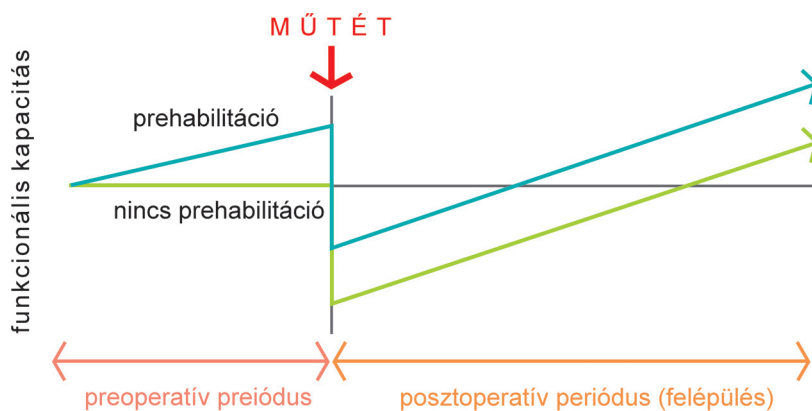
posztoperatív morbiditási és mortalitási arányokra ez mégsem adott kielégítő választ.

A klinikai megfigyelések szerint a két műtéti fázis (I. és II.) között bármilyen nem várt hatásra (szeptikus góc, vérzés stb.) a betegek igen magas mortalitási aránnyal reagáltak. Úgy tűnt, hogy hiányzik az akut fázis válasz a máj részéről. Tovább vizsgálódva, figyelmünk a nagy energetikai igénybevétel miatt a mitochondriumok felé fordult. A szövettani és elektronmikroszkópos elemzések alapján ALPPS-ot követően a mitochondriumok alapterületét vizsgálva, azok szignifikáns csökkenését tapasztaltuk a PVL eljáráshoz képest. Ezen kis sejtalkotók biogenezisét jellemző molekulák vizsgálata mutatott rá arra, hogy a csökkent alapterület mellett a funkcionalitás és a biogenezis kisebb mértékű volt, ALPPS-ot követően. Mindezek alapján bebizonyosodott, hogy ALPPS esetén a regeneráció során olyan éretlen mitochondriumok jönnek létre, melyek nem képesek megfelelően ellátni funkciójukat. Következtetésünk alapján ez az energetikai disbalance a hepatocyták diszfunkcióját okozva jelentősen meghatározza a regenerálódó lebenyek funkcióját, mely a posztoperatív időszakban megemelkedett morbiditási és mortalitási arányokat megmagyarázza [36-39]. Amennyiben lehetőség lenne a műtét előtti időszakban olyan mitochondrialis terápia alkalmazására, mely le-

hetővé tenné a sejtalkotó prekoncionálását, abban az esetben a posztoperatív időszakban a funkcionális regeneráció kellően biztosítható lenne [40, 41]. További kísérleteinkben célul tűztük ki olyan molekulák és terápia azonosítását, amelyekkel a mitochondriumok prekoncionálása megvalósíthatóvá válik.

Preoperatív testezés a májregeneráció elősegítése érdekében

Számos kedvező hatását bizonyították már a testezésnek, melyek közül a mindennapokban a cardiovascularis és pulmonológiai előnyök kerülnek kihangsúlyozásra, azonban a molekuláris és endokrin változásokról sem szabad elfelejtkezni. Testezés hatására a szervezet energiaháztartásának megváltozása számos molekuláris útvonalat aktivál a szükségessé váló energia előállításához, mely következtében kommunikációs kapcsolat alakul ki a vázizmok és a máj között. Erre bizonyíték volt kísérletünk is, ahol azt láttuk, hogy testezés hatására a mitochondriumok funkciója és biogenezise is kedvezően változott meg. Mindezek alapján a testezés kedvező terápiás beavatkozásnak tűnik a szervezet homeosztázisának fenntartásához és a stabil energetikai háttér biztosításához. Tekintettel arra, hogy a nemzetközi vizsgálatok figyelve is a preoperatív időszakban végzett testezés felé irányult, feltételeztük,



5. ábra. Prehabilitáció koncepciója. Az ábra jól szemlélteti, hogy a preoperatív időszakban alkalmazott prehabilitációs program megnövelve a funkcionális kapacitást, elősegíti a posztoperatív időszakban bekövetkező kisebb mértékű fizikális státusz csökkenést, valamint a korábbi rehabilitációt [42].

hogya a preoperatív testedzés a mitochondriumok stabilizálása és egyéb kedvező hatása mellett, képes lesz a májregenerációt is erősíteni, növelni. Az egyre szélesebb körben elterjedő prehabilitáció gondolata, olyan trimodális preoperatív kezelés, mely lehetővé teszi a betegek preoperatív statusának műtét előtti rendezését [42] (5. ábra).

A kórházi felvételek során a betegpopuláció jelentős hányada mind fizikális, tápláltsági, mind pszichés tekintetben elégtelen állapotú. Azonban a kedvezőtlen status adta nagyobb perioperatív rizikó kezelhetővé válhat a prehabilitációs program segítségével. Az előzőekben ismertetett előnyök alapján megfogalmazott hipotézisünk vizsgálatához ALPPS modellt, majd később 70%-os hepatectomia modellt alkalmaztunk. A kísérleti eredmények alapján bizonyítani tudtuk a preoperatív időszakban végzett testedzés jótékony hatását a májregeneráció és májfunkció tekintetében. A kiváltott hatások a hepatocyták mitochondrium funkcióját és biogenezisét pozitívan befolyásolva, felkészítik a szervet és a szervezetet a műtét megterhelésre. Ezenkívül a mérések során fény derült a testedzés hatására csökkenő tendenciát mutató gyulladásos folyamatokra, mely következtében mérséklődik a proinflammatorikus citokinek gátló hatása a mitochondrialis funkció és biogenezis tekintetében. A kisebb gyulladásos válasz és megtartottabb mitochondrialis funkció eredményezi a máj regenerációjának nagyfokú megemelkedését. Mint oly sok folyamatban, itt is a megfelelő egyensúly kialakítása szükséges az optimális eredmény eléréséhez. Következtéseink alapján elmondható, hogy a gyulladásos válasz elengedhetetlen kulcsszerepet tölt be a regeneráció indukciójában ALPPS-t követően, mégis egy bizonyos szint felett negatívan befolyásolja a hepatocyták működését. A megfelelő preoperatív kezelés előnyös hatásai nemcsak a volumennövekedésben voltak tapasztalhatók, hanem a máj funkcionális regenerációjában és a posztoperatív időszak alakulásában is. Tekintettel arra, hogy a funkcionális regeneráció javul a fizikai prehabilitáció következtében, a műtét szempontjából legvulnerabilisabb időszak alatt is, összességében a morbiditási arány csökkenéséhez vezet.

Vajon megvalósítható az elesett állapotú, idős betegek prehabilitációja? Kisebb megterhelést jelentő operációk esetén is érvényesül a testedzés kedvező hatása a máj morfológiai és funkcionális regenerációjára? Helyettesíthető a fizikai prehabilitáció farmakológiailag? A felsorolt kérdések megválaszolásán dolgozunk jelenleg is kutatócsoportommal egy 70%-os hepatectomia modell segítségével. Transzlációs kutatásunk azon betegek számára is reményt adhatna a műtét elvégzésére, akik elesett állapotuk, idős koruk miatt nehezen lennének képesek elvégezni a fizikai prehabilitációt. Amennyiben a jövőben megvalósul a testedzés farmakológiai helyettesítése, az számos új lehetőséghez fog

elvezetni bennünket, nemcsak a hepatopancreatobiliaris sebészet területén, hanem az egyéb sebészeti szakmákban is.

A Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinikán létrehozott hepatopancreatobiliaris kutatócsoport az elmúlt években beváltotta megalapításához fűzött reményeket. Transzlációs kutatásaink révén számos esetben hozzá tudunk járulni olyan komplex mechanizmusok leírásához és megoldásához, mely a betegek jólétét és a műtétet követő felépülését szolgálja. Amint az a korábban ismertetésre került eredményeinkből látható, kutatócsoportommal a májregeneráció alapvető útvonalaival vizsgálatától egészen a perioperatív időszakot befolyásoló mechanizmusok folyamatainak feltérképezéséig jutottunk el. Az évek alatt érdekes volt megfigyelni, miként válik szerteágazó, de mégis szorosan összekapcsolódó egészé egyetlen kérdésre keresett válasz. A klinikai tapasztalatokból adódó elégtelen mennyiségben visszamaradó májszövet növelésére irányuló törekvéseink vezettek el minket arra a felismerésre, hogy a kismértékű FLR által előidézett posthepatectomiás májelégtelenség hátterében a hepatocyták mitochondriumainak éretlensége, elégtelen funkciója húzódik. Ezen folyamat válaszul szolgált a volumenregenerációhoz képest elmaradó funkcionális regenerációra, mely javítására mitochondrialis terápia alkalmazásába kezdtünk. Bebizonyítottuk, hogy a preoperatív időszakban alkalmazott testedzés kedvezően hat a mitochondrialis funkcióra és biogenezisre, mely a májregenerációt elősegítve, javítja a morbiditási és mortalitási arányokat. Jelenleg is zajló kutatásunk új irányvonalként a farmakológiai prehabilitáció innovatív koncepcióját jelölte ki, a tudományos ismeret növekedése érdekében. Habár a hétköznapi problémái számtalanszor nehéz akadályokat gördítenek elénk, a kutatás izgalma és a felfedezés öröme oly lendülettel bír, mely megteremti az úttörő gondolatok bizonyított tényé, majd elengedhetetlen terápiás lépéssé válásának lehetőségét.

Irodalom

1. Dokmak S, et al. 2012 Liver resections in the 21st century: we are far from zero mortality. *HPB (Oxford)*, 2013. 15(11):908-15.
2. Foster JH, Berman MM. Solid liver tumors. *Major Probl Clin Surg*, 1977. 22:1-342.
3. Aghayan DL, et al. Evolution of laparoscopic liver surgery: 20-year experience of a Norwegian high-volume referral center. *Surg Endosc*, 2022. 36(5):2818-2826.
4. Ott R, Wein A, Hohenberger W. Liver metastases—primary or multimodal therapy?. *Chirurg*, 2001. 72(8):887-97.
5. Delaunoy T, et al. Chemotherapy permits resection of metastatic colorectal cancer: experience from Intergroup N9741. *Ann Oncol*, 2005. 16(3):425-9.
6. Barone C, et al. Final analysis of colorectal cancer patients treated with irinotecan and 5-Fluorouracil plus folinic acid neoadjuvant

- chemotherapy for unresectable liver metastases. *Br J Cancer*, 2007. 97(8):1035-9.
7. Kang D, Schadde E. Hypertrophy and Liver Function in ALPPS: Correlation with Morbidity and Mortality. *Visc Med*, 2017. 33(6):426-433.
 8. Frerichs TV. A clinical treatise on diseases of the liver. 1879, New York: Wood and Co.
 9. Rous P, Larimore LD. Relation of the portal blood to liver maintenance : a demonstration of liver atrophy conditional on compensation. *J Exp Med*, 1920. 31(5):609-32.
 10. Sugimoto T, et al. Two-stage portal vein ligation facilitates liver regeneration in rats. *Eur Surg Res*, 2009; 42(3):181-8.
 11. Liska V, et al. Interleukin-6 augments activation of liver regeneration in porcine model of partial portal vein ligation. *Anticancer Res*, 2009; 29(6):2371-7.
 12. Liska V, et al. Intraportal injection of porcine multipotent mesenchymal stromal cells augments liver regeneration after portal vein embolization. *In Vivo*, 2009; 23(2):229-35.
 13. Makuuchi M, et al. Preoperative portal embolization to increase safety of major hepatectomy for hilar bile duct carcinoma: a preliminary report. *Surgery*, 1990. 107(5):521-7.
 14. Honjo I, et al. Ligation of a branch of the portal vein for carcinoma of the liver. *Am J Surg*, 1975. 130(3):296-302.
 15. Budai A, et al. Animal Models for Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy (ALPPS): Achievements and Future Perspectives. *Eur Surg Res*, 2017. 58(3-4):140-157.
 16. Jeppsson RJB, Bengmark S. Portal branch ligation in the rat. Reevaluation of a model. *Am J Pathol*, 1986. 125(2):300-8.
 17. Abshagen K, Eipel C, Vollmar B. A critical appraisal of the hemodynamic signal driving liver regeneration. *Langenbecks Arch Surg*, 2012. 397(4):579-90.
 18. Sato, Y, et al. Acute portal hypertension reflecting shear stress as a trigger of liver regeneration following partial hepatectomy. *Surg Today*, 1997. 27(6):518-26.
 19. Mueller L, et al. The induction of the immediate-early-genes *Egr-1*, *PAI-1* and *PRL-1* during liver regeneration in surgical models is related to increased portal flow. *J Hepatol*, 2002. 37(5):606-12.
 20. Mortensen KE, et al. Increased sinusoidal flow is not the primary stimulus to liver regeneration. *Comp Hepatol*, 2010. 9:2.
 21. Adibi S, Paschke KE, Cantarow A. Stimulation of liver mitosis by blood serum from hepatectomized rats. *Experimental Cell Research*, 1959. 18(2):396-398.
 22. Stärkel P, et al. After portal branch ligation in rat, nuclear factor kappaB, interleukin-6, signal transducers and activators of transcription 3, c-fos, c-myc, and c-jun are similarly induced in the ligated and nonligated lobes. *Hepatology*, 1999. 29(5):1463-70.
 23. Stärkel P, et al. After portal branch ligation in the rat, cellular proliferation is associated with selective induction of c-Ha-ras, p53, cyclin E, and Cdk2. *Gut*, 2001. 49(1):119-30.
 24. Papp V, et al. Architectural changes during regenerative and ontogenic liver growth in the rat. *Liver Transpl*, 2009; 15(2):177-83.
 25. Fülöp A, et al. Alterations in hepatic lobar function in regenerating rat liver. *J Surg Res*, 2015. 197(2):307-17.
 26. Kollmar O, et al. Portal branch ligation induces a hepatic arterial buffer response, microvascular remodeling, normoxygenation, and cell proliferation in portal blood-deprived liver tissue. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007. 292(6):G1534-42.
 27. Szijártó A, Fülöp A. Triggered liver regeneration: from experimental model to clinical implications. *Eur Surg Res*, 2015. 54(3-4):148-61.
 28. Fülöp A, et al. Demonstration of metabolic and cellular effects of portal vein ligation using multi-modal PET/MRI measurements in healthy rat liver. *PLoS One*, 2014. 9(3):e90760.
 29. Kogure K, et al. A comparative study of the anatomy of rat and human livers. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 1999. 6(2):171-5.
 30. Martins PN, Neuhaus P. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. *Liver Int*, 2007. 27(3):384-92.
 31. Lauber DT, et al. Liver regeneration after different degrees of portal vein ligation. *J Surg Res*, 2016. 203(2):451-8.
 32. Szijártó A, et al. Two-staged procedure of portal ligation and hepatectomy monitored by ICG clearance. *J Invest Surg*, 2009; 22(1):63-8.
 33. Tihanyi DK, et al. Systematic Review on Characteristics and Reporting Quality of Animal Studies in Liver Regeneration Triggered by Portal Vein Occlusion and Associating Liver Partition and Portal Vein Ligation for Staged Hepatectomy: Adherence to the ARRIVE Guidelines. *J Surg Res*, 2019. 235:578-590.
 34. Kovács T, et al. Functional shift with maintained regenerative potential following portal vein ligation. *Sci Rep*, 2017. 7(1):18065.
 35. Kovács T, et al. Isoform-Dependent Changes in Cytochrome P450-Mediated Drug Metabolism after Portal Vein Ligation in the Rat. *Eur Surg Res*, 2018. 59(5-6):301-319.
 36. Budai A, et al. Mitochondrial function after associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy in an experimental model. *Br J Surg*, 2019. 106(1):120-131.
 37. Hahn O, et al. Decreasing morbidity after Associating Liver Partition and Portal vein ligation for Staged hepatectomy (ALPPS) with technical modification and patient selection. *Orv Hetil*, 2019. 160(32):1260-1269.
 38. Fard-Aghaie MH, et al. The effects of physical prehabilitation: Improved liver regeneration and mitochondrial function after ALPPS operation in a rodent model. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2021. 28(8):692-702.
 39. Daradics N, et al. Physical prehabilitation improves the postoperative outcome of associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy in experimental model. *Sci Rep*, 2022. 12(1):19441.
 40. Daradics N, et al. The effect of Cyclophilin D depletion on liver regeneration following associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy. *PLoS One*, 2022. 17(7):e0271606.
 41. Daradics N, et al. The Role of Farnesoid X Receptor in Accelerated Liver Regeneration in Rats Subjected to ALPPS. *Curr Oncol*, 2021. 28(6):5240-5254.
 42. Carli F, et al. Surgical Prehabilitation in Patients with Cancer: State-of-the-Science and Recommendations for Future Research from a Panel of Subject Matter Experts. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 2017. 28(1):49-64.

A melanoma áttétképzésének molekuláris titkai: kísérletes és transzlációs kutatások, 1992–2023

Molecular secrets of the metastatization of melanoma: preclinical and translational studies, 1992–2023

Semmelweis Ignác emlékérem és jutalomdíj

Dr. Tímár József

Semmelweis Egyetem, Patológiai, Igazságügyi és Biztosításorvostani Intézet, Budapest
jtimar@gmail.com

ÖSSZEFOGLALÁS Mivel a melanoma a leginkább áttétképző daganat, ennek a folyamatnak a molekuláris alapjainak kutatására kiváló kísérletes modellt szolgáltat. Korai kutatásaink során kiderítettük, hogy ennek a nagyfokú áttétképző képességnek egyik alapja a sejtfelszíni heparán-szulfát proteoglikánok dominanciájában keresendő, olyannyira, hogy ennek bioszintézisének blokkolásával vagy interferenciával (heparin) a folyamat hatékonysága jelentősen csökkenthető. Másik sajátossága a melanomának az ectopiás thrombocytá gén expresszió, ami a sajátos integrint ($\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$) és thrombocytá 12-lipoxigenázt jelenti, amelyek a matrix kölcsönhatások széles spektrumában vesznek részt és a daganatsejtek mozgékonyságának is stimulálói. Ennek alapján az anti- $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ antitest kezeléssel az áttétképzési folyamat hatékonyan gátolható. A melanoma klasszikus prognosztikus faktora szinte évtizedek óta változatlanok, de ezek elsősorban a lokoregionális terjedés prognosztikus markerei. Kutatásaink során számos új prognosztikus markert azonosítottunk, amelyek a szervi áttétképzés és a túlélés becslésére alkalmasak (CD44v3, érdenzítés, AQP1, T-sejt-aktivációs markerek, B-sejt-denzitás stb.) Újabb genomikai vizsgálataink pedig azt mutatták ki, hogy a daganat genetikai progressziója a szervi áttétekig folyamatos és szervspecifikus módon zajlik, ami esetleg utat nyithat a szervi áttétekre szelektív terápiás stratégiák kijelölésére.

KULCSSZAVAK bőr malignus melanoma, áttétképzés, patomechanizmus, prognosztikai markerek

SUMMARY Malignant melanoma provides an ideal model to study molecular basis of metastatic propensity. our earlier research revealed a fundamental role in this capacity of cell surface heparan sulphate proteoglycans (like CD44v3). Furthermore, we have proven that targeting the heparan sulphate biosynthesis by specific inhibitor or a small ligand compatitor (heparin) the efficacy of the metastatic process can be abrogated. It is another unique feature of melanoma identified, its potential to ectopically express thrombocyte genes like $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ or p-lipoxygenase, which are involved various aspects of cell-matrix interactions. Based on these observations administration of anti- $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ antibody in vivo was able to inhibit metastatization. Classical prognostic markers of melanoma are known for decades but they are better to predict locoragional dissemination than distal ones. Our translational studies identified several novel markers which are able to predict organ metastatic capacity and overall survival of patients (Cd44v3, vascular density, AQP1, T cell activation markers , dendritic cells or B cells). Recent genomic studies on cutaneous malignant melanoma revealed that the genetic progression is continuous till the metastases and is organ-specific which pave the way to develop organ metastasis specific therapeutic strategies.

KEY WORDS cutaneous malignant melanoma, metastasis, pathomechanisms, prognostic markers

Bevezető

Közel 40 éve foglalkozom a daganatok áttétképzésének kutatásával, ami annak köszönhető, hogy tanáram *Krompecher* nyomdokán járva azt tanították, hogy a malignitás végső definíciója az áttétképző képesség, mivel minden egyéb jellemző megtalálható a jóindulatú daganatok valamelyikében... A malignus melanoma pedig azért lett a kutatásaink tárgya, mert véleményem szerint a legnagyobb áttétképző képességgel rendelke-

ző daganat, amit az bizonyít, hogy az ún. T1, tehát legkisebb daganat esetében már 10% körüli az esélye a valamikori progresszió esélyének, ami ez esetben egy 1 mm-nél vékonyabb daganatot jelent, melyben néhány milliő daganatsejt található [1].

Az elmúlt évtizedek a (melanoma) áttétképzésének sok érdekes aspektusáról rántották le a leplet, de őszintén meg kell vallani, hogy nem hoztak áttörést abból a szempontból, hogy a betegség kimenetelének megjós-

lása pontosabb és az áttéti daganatos betegség kezelése sokkal hatékonyabb legyen. Ezt a lesújtó véleményemet még úgy is fenntartom, hogy a terület vezető kutatói és jómagunk is számos apró kis felfedezést tettünk, tettünk, de ezek gyakorlati hasznosulása még mindig várta magára. Az alábbiakban, csak saját megnyugtatósomra is, megkísérelem összefoglalni kutatásaink eredményeit és értékelni abból a szempontból, hogy ezek mennyiben segítettek előrelépni vagy miért nem vezetnek klinikai eredményre.

Preklinikai kutatások

Az áttétképző képesség molekuláris alapjai

Heparán-szulfát proteoglikán (HSPG) és CD44v3/v6

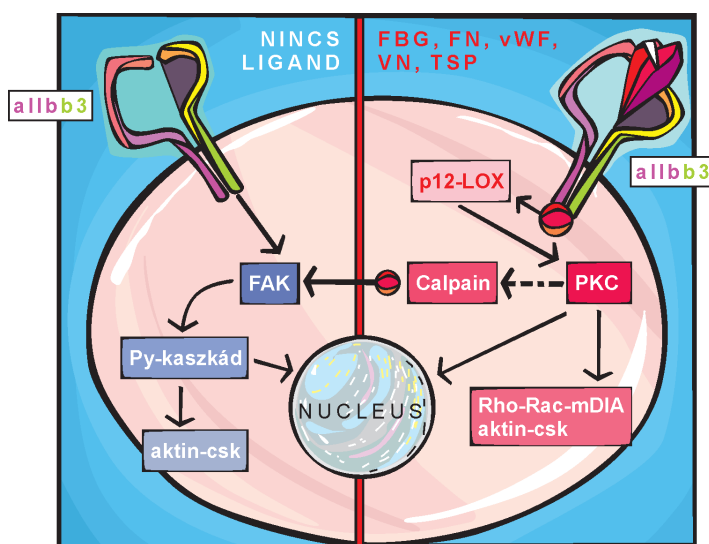
BRAF mutáns humán melanoma kísérleti áttétképző modelleken fokozott májáttétképző sejt vonalat szelektáltunk. A kiindulási és az új sejt vonal proliferációs képességében *in vitro* és *in vivo* nem volt eltérés. Ugyanakkor megállapítottuk, hogy a két sejt vonal eltérő proteoglikán (PG) expressziót mutat, ami elsősorban a heparán-szulfát-tartalmú proteoglikánokat (HSPG) érintette, míg változatlan maradt az ún. melanomakondroitin-szulfát proteoglikán expresszió (CSPG). Ezen fenotípusos változásoknak megfelelően a fokozott áttétképző képességű melanomasejtekben csökkent a CS(PG)-szekréció és megnövekedett a HS(PG)-szekréció. A daganatsejtek a megváltozott PG-eket a sejt-matrix adhéziós felületeken tartalmazzák, jelezve ezen folyamatokban játszott szerepüket [2].

A HSPG-molekuláknak sejt felszíni, intracelluláris és szekretált formái vannak, ezek közül mi a sejt felszíni (transzmembrán) formákra összpontosítottunk, amelyek között a szindekánok az egyik és a CD44 a másik nagy

család. Kutatásaink során elsősorban a CD44 merült fel olyan membránreceptorként, amely esetleg felelős lehet a fentebbi fenotípusos változásokért miután mind CS, mind HS glikanációval rendelkezhet. Újgenerációs szekvenálással igazoltuk, hogy a CD44 egy melanoma-specifikus hasítási mintázattal rendelkezik, amelyekben a CS glikanált formák (v1,v2,v4,v5-10) és a HS glikanált formák (v3, v6) sajátos egyveleget alkotnak. Egy spontán humán melanomametasztázis modellben igazolódott, hogy az áttétképző melanoma primer tumoraiban és áttéteiben megemelkedik a HS-glikanált v3/v6 splice-variáns tartalmú CD44 expresszió, ami támogatta a korábbi megfigyeléseinket [3]. Bár az irodalmi adatok a CD44 növekedési faktor koreceptor funkcióra koncentráltak, a mi kísérletes adataink arra utaltak, hogy az emberi melanoma modelljeinkben a CD44-HSPG a daganatsejtek motilitásában játszhat kiemelkedő szerepet.

Ectopiás α IIb β integrin expresszió

A malignus daganatok egy újonnan elismert/felismerett sajátossága a fenotípusos plaszticitás vagy változékonyság, aminek első és legjobban ismert formája az ún. epithelialis-mesenchymalis átalakulás (EMT). Ugyanakkor ez a jelenség más formában is megvalósulhat, mint a vaszkulogén mimikri vagy a thrombocyta-mimikri [4]. Kísérletes egérmelanoma, majd humánmelanoma modelleken kimutattuk hogy ezen daganatokban előfordul a thrombocyta integrin α IIb lánc ectopiás expressziója és a daganatsejtek a kifejeződő α IIb β integrint felhasználják a matrix adhézióban és a sejtmozgásukban [5, 6]. Továbbmenve, az ilyen ectopiás expresszióval párhuzamosan fokozódik a bFGF expresszió és erősödik a daganatsejtek angiogén fenotípusa [7]. Miután az ectopiás α IIb β expresszióval pár-



1. ábra. Az ectopiás α IIb β integrin jelátviteli sajátosságainak sémája melanómában. csk: citoskeleton, FBG: fibrinogén, FN: fibronectin, vWF: VIII faktor, VN: vitronektin, TSP: trombospondin

huzamosan a megakariocytar sejtvonalban jelenlévő α Ib-szabályozó rendszerek nem expresszálódnak, ennek eredménye az, hogy az integrin ligandkötődés nélkül is aktív konformációban van és jelátviteli szempontjából konstitutívan aktív, ami a FAK és PKC rendszereket érinti [8] (1. ábra).

A motilitási jelpálya sajátosságai

Az autokrin motilitási faktor szerepét egérmelanoma-modelleken fedezték fel a 90-es években, majd később a sejtfelszíni receptorának, az AMFR-nek azonosítása is megtörtént, amely egy kemokin receptor. Vizsgálataink emberi melanoma-sejtvonalakon igazolták, hogy ezek is kifejezik az AMF-receptort, ami összefüggésben van a daganatsejt áttétképző képességével, amit *in vitro* és *in vivo* is igazoltunk [9]. Vizsgálataink kimutatták, hogy az AMF/AMFR rendszer aktiválódása integrinmediált motilitási jelpályát aktivál, aminek eredménye az inváziós folyamat elindulása [10]. A melanoma motilitásának parakrin ligandjaként a 12-HETE bioaktív lipid szerepe merült fel [11]. Később derült arra fény, hogy egér és emberi melanomákban a thrombocytá 12-lipoxigenáz enzim mintegy ectopiásan kifejeződik, ezzel kialakítva egy ún. autokrin szabályozási hálózatot [12]. Az elemzések azt mutatták, hogy a p12-LOX enzim elsősorban a motilitási jelpályák aktív résztvevője és az integrin-jelpályában is fontos szerepet játszik. Ennek jelentősége abban állhat, hogy a melanomasejtek véráramba kerülésekor a vérlemezkékkel kapcsolatba lépve és azokat aktiválva nagy mennyiségű exogén 12-HETE-hez is hozzájuthatnak, amivel a túlélési és motilitási jelátviteli útvonalak aktiválódhatnak éppen akkor, amikor erre a legnagyobb szükség van [13].

Az emberi melanoma genomjának jellemzésekor kiderült, hogy egy meglehetősen gyakori génhiba a Ca-csatorna-alkotó RyR1/2 mutáció (~30%), bár ennek jelentőségéről nem sok adat van. Emberi melanoma sejtvonalakon azt tapasztaltuk, hogy a RyR2 és a P2X7 csatornaelemek gyakran fokozottan fejeződnek ki a melanocytákhoz képest, ami felvetette annak lehetőségét, hogy a Ca-jelpálya működése is megváltozott. Funkcionális vizsgálatok kimutatták, hogy a RyR2 nem funkcionális (talán a mutációs státusza miatt), szemben a P2X7 csatornával, amely erős antiapoptotikus funkcióval bír [14].

Új terápiás célpontok és lehetőségek azonosítása

Az első szelektív heparán-szulfát-szintézis-modulátor: 5-HUdR

Miután kísérleti vizsgálataink során kimutattuk, hogy egér- és emberi melanomasejtek áttétképzése a HS dominancián alapul, felmerült annak a lehetősége, hogy ennek módosításával magát az áttétképzési folya-

matot is befolyásolni lehet. Az 1990-es években sok vizsgálatot folytattunk az 5-hexil-deoxiuridin vegyülettel, amely sejtosztódás gátlás alternatívájaként került kifejlesztésre, azonban ilyen képességekkel nem rendelkezett. Ugyanakkor észleltük a vegyület *in vivo* antimetasztatikus hatásait, így elemezni kezdtük a patomechanizmust, és meglepve tapasztaltuk, hogy ez a vegyület a glikozaminoglikán-bioszintézis hatékony modulátora, amely a CS-glikanáció meghagyása mellett hatékony HS-bioszintézis-blokkoló [15]. Funcionálisan a vegyület a sejt-matrix kölcsönhatás inhibitora, ami migráció blokkolásban is megnyilvánul. Fontos megjegyezni, hogy ez a vegyület *in vivo* körülmények között nem gátolta a primer tumor növekedését, csak is és kizárólagosan a májráttétképzést. Sajnos, a vegyület klinikai kifejlesztésére nem került sor.

Heparin, mint metasztázis inhibitor

Klinikai kutatások és vizsgálatok igazolták, hogy a heparinoknak és főleg származékaiknak (LMWH) a véralvadásgátlás mellett daganatgátló hatásuk is van, bár a mechanizmus tisztázatlan volt. Miután a melanomasejtek felszíni HS-PG molekulái kulcsszereplőnek tűnnek az áttétképző képességükben, felmerült, hogy a HS-oldallánccal mintegy kompetícióba hozva a hasonló kémiai szerkezetű heparinszármazékokat, esetleg daganatellenes hatást lehet elérni. Humán melanomamodellekben ezért elemeztük a heparin és az LMWH biológiai hatásait. Mi is azt tapasztaltuk, hogy ezeknek nincsen proliferációblokkoló hatásuk. Ugyanakkor kimutattuk, hogy mind a heparin, mind pedig az LMWH tüdő- és májráttétképző hatással rendelkezik. A hatásmechanizmus elemzésekor azt találtuk, hogy mindkét alvadásgátló migráció- és inváziógátló hatással rendelkezik [16]. Miután a heparin, de még az LMWH is különféle kémiai struktúrák keveréke, specifikus oligoszaharid-egységeket izoláltunk belőle (dp4-22), amelyeket egyenként teszteltünk. Csak egy fragment, a dp18 rendelkezett sejtosztódásgátló képességgel, de a legtöbbnek volt antimigráció hatása, ugyanakkor egyik sem rendelkezett véralvadásgátlóval. Különösen izgalmas volt, hogy a dp4 és a dp18 fragmentek is jelentős *in vivo* antimetasztatikus hatásúak voltak emberi melanomamodellekben [17]. Bár klinikai vizsgálatok nem követték ezen megfigyeléseinket, de miután az LMWH-k alkalmazása széleskörben elterjedt, így előrehaladott melanoma esetében alkalmazásuknak klinikai jelentősége lehet.

Anti- α Ib β 3 antitest

Az α Ib β 3 ectopiás expressziója melanomában felvetette annak a lehetőségét, hogy ezt a melanomasajátosságot esetleg terápiás célpontként ki lehessen aknázni. Egérmelanoma-modellekben, amelyben csak az α Ib β 3 integrin fejeződik ki, az aktív konformációban

lévő integrin elleni PAC-1 antitest gátolta az integrin konstitutívan aktív jelpályáját a FAK blokkolása révén. Ennek következménye proliferáció- és motilitásblokkolás lett. Ami ennél még fontosabb, a PAC-1 intravénás kezelés jelentősen lecsökkentette az egérmelanoma-sejtek tüdőkolonizáló képességét [18]. Ezen eredményekre alapozva emberi melanoma kísérletes modelljét vettük elő. Ebben az időben még forgalomban volt az emberi α IIb β 3 elleni antitest, a RheoPro (Centocor). Kísérleti májáttétképzési modellben kezeltük az állatokat RehoProval, és azt tapasztaltuk, hogy az anti- α IIb β 3 antitest kezelés szignifikánsan képes az áttétképzés gátlására. Sajnálatos módon a RheoPro szabadalmának lejártával a gyártó nem kívánt már új klinikai indikáció kutatásába fogni.

Cannabinoidok és a CB1-receptor

Metasztatikus humán melanoma génexpressziós profiljának vizsgálatakor feltűnt, hogy a daganatsejtek CB1-receptort expresszálnak. Az általunk használt emberi melanomavonalakban igazoltuk a *CNR1* gén és fehérjetermékének, a CB1-nek az expresszióját. In vitro a fiziológias és szintetikus CB1 ligandok antiproliferatív,

proapoptotikus és antimigrációs hatásúak voltak. In vivo szintetikus stabil CB1 ligand kezelés szignifikánsan gátolta az emberi melanomasejtek májáttétképző képességét [19].

A HIF transzkripció faktor és a Zn⁺⁺

HIF transzkripció faktorok konstitutívan aktívak melanomában a BRAF vagy NRAS mutációk következtében, aminek mélyreható biológiai hatásai lehetnek nemcsak a hypoxia toleranciára, hanem más funkciókra is. Miután kísérleti adatok szerint a Zn-nek antitumorális hatásai lehetnek, emberi melanoma sejtvonalakon és metasztázismodellben elemeztük a ZnSO₄ biológiai hatásait. In vitro megfigyelhetjük a proliferációgátlást és a proapoptotikus hatást. In vivo kezelések során érdekes módon a ZnSO₄ kezelés nem befolyásolta a primer tumor növekedését, hanem szelektív antimetasztatikus hatású volt májáttét modellben. A lehetséges molekuláris mechanizmus azonosítására megvizsgáltuk, hogy a ZnSO₄ kezelésnek van-e hatása a Zn-transzkripció faktorok kifejeződésére, és azt találtuk hogy a Zn-kezelés szelektíven gátolja a HIF1a fehérje expresszióját [20]. A HIFa mint terápiás célpont régóta izgatja a kutatók fantáziáját, de csak nemrég sikerült az első HIF2a inhibítor klinikai körülmények között sikeresen használni veserákban. Az általunk észlelt Zn-hatás izgalmasan bővítheti az ilyen terápiás lehetőségek körét.

Transzlációs kutatások

Prognosztikai faktorok kutatása (1. táblázat)

Az elsőként felfedezett, ún. metasztázis szupresszor fehérje az NM23 volt, amely azonban csak az emlőrákokban nyert igazán bizonyítást. Egy relatíve kis bőrmelanoma kohorszon elemeztük az NM23 fehérje kifejeződését és ennek kapcsolatát a nyirokcsomó-, illetve szervi áttétképzéssel és a betegek túlélésével. A primer daganatok igen heterogén NM23 expressziós profil mutattak, amely a nyirokcsomóáttétekben is megőrződött. Az NM23 expresszió elvesztése nem függött össze a távoli áttétek keletkezésével, illetve a betegek túlélésével, csak is és kizárólagosan a regionális nyirokcsomó-pozitivitással. Ez arra utal, hogy az NM23 melanoma esetében nem játszik meghatározó szerepet az áttétképző képesség alakításában [21].

A daganatok erezettsége alapvető szerepet játszik a hematogén terjedés kialakulásában. Emberi melanomás betegeken elemeztük az ereződés módját és az érdenizálás esetleges prognosztikai szerepét. Igazolást nyert, hogy a kután melanoma bár neoangiogenezist indukál a tumor stromájában, de a tumorszövet vérellátásában az ún. inkorporált erek játszanak szerepet. Ennek megfelelően arra is fény derült, hogy a peritumorális érdenizálásnak nincsen prognosztikai szerepe, csakis és kizárólagosan a daganat központi zónájában lévőknek. Ennek

1. táblázat Új prognosztikus markerek bőr melanomában				
MARKER	POZ/NEG: +/- MAGAS/ ALACSONY	LRLND-M	VM	OS
Tradicionális				
Breslow (mm)	m	+	+	+
Mi	m	+		
Ki-67	m	+		+
ulceráció	+	+		
TIL-B/A	a	+		
LV invázió	+	+		
sLND	+		+	+
Új markerek				
NM23	+	+	-	-
MVD/C	m	-	+	+
AQP1	m	-	+	+
TIL				
CD25/OX40	a	-	+	+
DC-LAMP	a	-	+	+
B sejt	a	-	+	+

a: alacsony, m: magas, lr: lokoregionális, LND: nyirokcsomó, LV: limfociták, M: metasztázis, Mi: mitotikus index, MVD: mikrovaszkuláris denzitás, OS: teljes túlélés, TIL: tumorinfiltráló lymphocyták, VM: vizcerális metasztázis

viszont igen erős negatív hatása volt a betegek 5 éves túlélésére [22].

Miután kutatásaink során a HSPG és ezen belül is a CD44v3-nak jelentős szerepét találtuk az áttétképzésben kísérletes melanomarendszerekben, megvizsgáltuk hogy kután melanoma esetében is igazolható-e ilyen szerep. Vizsgálataink szerint a CD44v3 alternatív hasítási termék 1 mm vastagság felett jelenik meg a daganatokban, de mindig csak a daganatsejt-populáció egy kisebb részét érinti, sokszor csak szubklónként. Ugyanakkor igazolódott, hogy a CD44v3-pozitivitás igen erős negatív prediktora a távoli áttétek kialakulásának és az 5 éves túlélésnek, míg nem mutat kapcsolatot a limfaticus áttétképzéssel. Elemzéseink szerint ugyanakkor a CSPG-típusú CD44v6 hasítási terméknek nem volt prognosztikus szerepe, tovább erősítve korábbi kísérletes adatainkat [23].

Korábbi génextpressziós profilozási kísérleteinkben, melyeket áttétképző képességű humán melanomasejtvonalakon végeztünk, észrevettük, hogy az ilyen daganatokban gyakran figyelhető meg az AQP1 csatorna fokozott expressziója. Egy nagy, jól követett kután melanomás beteganyagon elemeztük az AQP1 fehérje expressziójának esetleges prognosztikus szerepét. Megállapítottuk, hogy az AQP1 expresszió összefüggést mutat a daganatok BRAF mutációs státuszával. Másrészt kvantitatív morfometriai elemzésünk azt mutatta, hogy az emelkedett AQP1-szint a primer tumorban erős negatív prognosztikai tényezőnek bizonyult mind a progressziómentes, mind pedig a teljes túlélés szempontjából [24].

A szérumban S100B egy hasznos markere a metasztatikus melanoma monitorozásának. Kérdés volt ugyanakkor, hogy alacsonyabb stádiumú betegségben is van-e klinikai haszna. Egy nagy beteganyagon párhuzamosan követtük a szérumban S100B-szintjét, és meghatároztuk a daganatban az S100B expressziójának mértékét. Vizsgálataink azt mutatták, hogy a melanoma az S100B expresszió szempontjából is heterogén és ez korellál a szérumban S100B-szintekkel. Bár a magas S100B-expressziót mutató tumorok esetében a szérumban S100B-szint jó biológiai marker a folyamat érzékeny monitorozására, amennyiben a daganat alacsony expressziójú, a szérumban tumormarker-vizsgálat haszontalan vagy éppen még félrevezető is lehet [25].

Daganatimmunológia

TIL-denzitás egy klasszikus prognosztikus markere a kután melanomáknak, azonban egyéb prognosztikus faktorokhoz képest, mint a Breslow-vastagság vagy ulceráció, kevésbé erős. A TIL összetétele azonban nagyon változatos lehet, hiszen tartalmazza a T- és B-sejteket, NK-sejteket, makrofágokat, így prognosztikus jelentősége eltérő lehet attól függően, hogy milyen összetételű. Nagy beteganyagon elemeztük az aktivált

T-sejt-denzitás prognosztikus jelentőségét, amihez CD25 és OX40 aktivációs markereket használtunk. Ahogy azt várni lehetett, a daganatok körüli aktivált T-sejt-denzitás nagy eltéréseket mutatott, és nem függött össze a tumor vastagságával. Ugyanakkor az alacsony denzitása az aktivált T-sejteknek a primer tumorban szignifikáns összefüggést mutatott azzal, hogy ha a betegség távoli áttéteket adott. Ezzel összhangban, a magas aktivált T-sejt-denzitás független pozitív prediktornak bizonyult az 5 éves túlélésnek, ami arra utal, hogy a lokális daganatellenes immunitás aktivitása fontos prediktora a metasztatikus betegség kialakulásának és így a túlélésnek is [26].

A daganatellenes immunválasz fontos kezdeti lépése a daganat antigének felismerése és azok prezentálása a T- és B-sejtek számára, mit a dendritikus sejtek végeznek. A primer melanomában igen heterogén a dendritikus sejtek denzitása, és az is változó, hogy az érett, tulajdonképpen aktív forma milyen gyakori. Ahogy az várható volt, önmagában a dendritikus sejt denzitás a primer tumorban nem prognosztikus értékű, ilyen marker szerepe csak az érett dendritikus sejteknek van, amelyek magas denzitása kedvező túléléssel kapcsolódik. Ugyanakkor ennél még erősebb kedvező prognosztikus marker a magas érett dendritikus sejt (DC-LAMP) kapcsolódása a magas aktivált T-sejt-denzitással (OX40) [27].

A melanoma TIL-ben jelen vannak a Treg-sejtek amelyek az immunválasz gátló tényezői szoktak lenni, melyek markere a FOXP3. Nagy beteganyagon megvizsgálva kután melanomákban a Treg-sejtek denzitásának nincsen prognosztikus szerepe. Hasonlóképpen, a primer tumor körüli TIL-ben a makrofág sejtek denzitásának sincsen prognosztikus szerepe.

Ugyanakkor a melanoma TIL-ben meglepően nagy gyakorisággal lehet találni B-sejteket. A magas peritumorális B-sejt-denzitás erős kedvező prognosztikus faktor volt a távoli áttét nélküli betegségre nézve. Ugyanakkor ennél még erősen független prognosztikus marker volt, ha a B-sejt-denzitást az aktivált T-sejtek (OX40) denzitásával kombináltuk, mert ezen betegek 5 éves túlélése volt a legkedvezőbb [28].

Az I-típusú IFN sokáig a melanoma adjuváns terápiajában alapja volt. Használatának elvi alapja az volt, hogy segít a daganatellenes immunválasz erősítésében és direkt daganatellenes hatása is lehet. Hogy megismerjük az IFN-I rezisztencia genetikáját, in vitro IFN kezeléssel IFN-rezisztens emberi melanomavonalat alakítottunk ki, amely in vivo is megőrizte ezen sajátosságát néhány passzáson át. Globális génextpressziós analízis segítségével meghatároztunk egy 79 génből álló expressziós profilt (GEP), amely a melanoma IFN-rezisztenciáját jellemezte. Sajnos, ez a GEP nem volt nagyon stabil in vitro és in vivo sem. Mindenesetre ennek a nagy profilnak találtunk egy relatíve stabil mag-

ját, amelyet 9 gén alkotott, és közöttük feltűnt az AQP1, mely korábban negatív prognosztikus faktornak bizonyult. Az általunk defineált IFN-rezisztencia GEP IFN-kezelt beteganyagon negatív prediktív markernek bizonyult az IFN terápia szempontjából. Ennél talán még érdekesebb, hogy az IFN-rezisztencia GEP több eleme is negatív prediktív markere volt immunellenőrző pont gátló terápiák esetében, melyek között feltűntek az SDC2 és a BCAN proteoglikánok [29].

Metasztázis genomika

Molekuláris epidemiológia

A kután melanomák molekuláris sajátosságai hazánkban nem voltak ismertek, pedig ennek a mindennapi klinikai gyakorlat számára nagy jelentősége lehet. Ezért egy nagy beteganyagon meghatároztuk a fő onkogének mutációs incidenciáját hazánkban, és azt találtuk, hogy hasonlóan a világ más országaihoz, a BRAF mutáció a domináns (45%), amelyet az NRAS mutáció követ (20%). Kérdés volt, hogy a harmadik leggyakoribb onkogén mutáció a KIT, milyen gyakori a közönséges kután melanomákban, ami a ritka formákban sokszor a predomináns. Megállapítottuk, hogy a KIT mutáció hazánkban igen gyakori, 15%-os, amivel más régióktól jelentősen eltérünk [30]. Ugyanakkor az is látható, hogy még így is maradt a betegek mintegy 20%-a, akik az ún. tripla vad kategóriába sorolandók, amelyek terápiája kérdéses lehet.

Az ún. tripla vad melanoma

Ezért egy kisebb, ún. tripla vad betegcsoportban a legkorszerűbb újgenerációs szekvenálással meghatároztuk a mutációs profilt, hogy azonosítsuk az ún. driver géneket és esetleg terápiás célpontokat találjunk. Megállapítottuk, hogy ebben a betegcsoportban is az UV sugárzás volt a fő okozója a DNS-károsodásoknak. Az ilyen daganatokban a teljes mutációs terhelés alacsony, és nincsen sem MMR-, sem HR-deficiencia, ami az immunterápiák alkalmazásának szempontjából kedvezőtlen. Ebben a különleges betegcsoportban relatíve gyakrabban észleltünk ún. célozható génhibákat, mint az NTRK1/3, a RET vagy a VEGFR1. Ugyanakkor számos, ún. egzotikus onkogén és szuppresszor gén hibáját észleltük. Ami ennél talán még érdekesebb, hogy ebben a genetikai alcsoportban gyakran volt érintett számos gén, amely a daganat elleni immunválasz szempontjából kedvezőtlen hatású [31].

Driver onkogének az áttétekben

Az egyes daganatok mutációs és drivergén mintázataira vonatkozó ismereteink elsősorban a primer daganatokra alapozottak, és ez igaz a melanomára is. Ugyanakkor kérdéses, hogy ez a mutációs profil, amely a célzott terápiák használata szempontjából kulcské-

dés, mennyire változik a szervi áttétek esetében. Ezért egy relatíve nagy szervi áttét biobankban meghatároztuk a fő onkogén driverek klonális arányát és azt, hogy ez hogyan változik a primer tumorhoz képest. Megállapítottuk, hogy a jelenlegi dogma igaz, az ún. alapító onkogén az áttétekben is jelen van. Ugyanakkor az ilyen génhibával jellemzett tumorsejtek klonális aránya drámai módon eltérhet a primer tumorhoz képest, aminek a jelentőségét nem szabad alábecsülni, mivel a BRAF mutációs daganatok kezelésében a BRAF inhibitoroknak fontos szerepe van. Megállapítottuk, hogy a primer tumor vizsgálata alapján megjósolhatatlan az, hogy az onkogén mutációval rendelkező klón aránya az áttétekben hogyan alakul, mindenféle szelekciós lehetőség előfordult: drámai csökkenés, drámai növekedés vagy még az is, hogy az eredeti profil nem változott. Ezen vizsgálatok tanulság az, hogy a metasztatikus betegség kezeléséhez szükséges molekuláris patológiai vizsgálatot áttéti daganatból vagy a keringő DNS vizsgálatával kell elvégezni, mivel a primer tumor gyakorlatilag irreleváns [32].

A szervi áttétek genomikája

A daganatok és a melanoma progressziója is genetikailag nem ér véget a primer tumor kialakulásával, hanem a betegség teljes spektrumában, így az áttétekben is folytatódik. Sajnos azonban relatíve kevés adatunk van arról, hogy ez milyen irányokat vesz és hogy van-e ennek szervi sajátossága. Ezért egy nagyobb metasztatikus melanoma kohorszban genomikailag elemeztük a kópiaszám-változásokat. Az egyértelmű volt, hogy az agyi áttétekben dominál a gének kópiaszám vesztese, míg kópiaszám-nyereség (amplifikáció) elsősorban a máj- és tüdőáttétekre jellemző. Azt vizsgálva, hogy ezek az eltérések mely géneket érintenek, megdöbbentő volt látni, hogy a tüdőáttétekben számos (19) ún. immunsejt gén érintett, az amplifikáció és proteomikai elemzéssel igazolni lehetett azt is, hogy ezek döntő többsége fehérjeszinten is megnyilvánult. Ezt a jelenséget immunogén mimikrinek neveztük, és ez arra utal, hogy a tüdőáttétek kialakulásában ez a kamuflázs meghatározó szerepet játszhat. Ugyanakkor újdonság volt az, hogy az agyi és májáttétekben a *HGF* és *MET* gének ko-amplifikációja volt észlelhető, ami ennek a sajátos onkogénnek az autokrin aktiválódására utalhat és új terápiás célpontot jelenthet. Májáttét esetében a daganat *MET* aktivitása korábban már felmerült mint promotáló tényező, de agy esetében ez meglepetés volt [33].

Összefoglalva, a melanoma szervi áttéteinek genomikai elemzése fényt derített arra, hogy a genetikai progresszió szervspecifikus módon következik be, ezért az áttétes betegség molekuláris megítélése egyrészt a primer tumor sajátosságai alapján nem megítélhető, másrészt pedig egyenként elemezendő. Mivel ez

majdnem kivitelezhetetlen, így a keringő DNS genomikai elemzése marad az egyetlen járható út ahhoz, hogy az áttétes betegséget helyesen jellemezzük.

Irodalom

- Tímár J, Ladányi A. Molecular pathology of skin melanoma: epidemiology, differential diagnostics, prognosis and therapy prediction. *Int J Mol Sci*, 2022;23:5384.
- Tímár J, Ladányi A, Lapis K, Moczár E. Differential expression of proteoglycans on the surface of human melanoma cells characterized by altered experimental metastatic potential. *Am J Pathol*, 1992;141:467-474.
- Rásó-Barnett L, Bánky B, Barbai T, Becsagh P, Tímár J, Rásó E. Demonstration of a melanoma-specific CD44 alternative splicing pattern that remains qualitatively stable but shows quantitative changes during tumour progression. *PlosOne*, 2013;8:e53883.
- Tímár J, Tóvári J, Rásó E, Mészáros L, Bereczky B, Lapis K. Platelet-mimicry of cancer: epiphenomenon with clinical significance. *Oncology*, 2005;69:185-201.
- Tímár J, Trikha M, Szekeres K, Bazaz R, Honn KV. Expression and function of the high affinity $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ integrin in murine melanoma cells. *Clin exp Metast*, 1998;16:437-445.
- Trikha M, Tímár J, Zacharek A, Nemeth JA, Cai Y, Döme B, Somlai B, Rásó E, Ladányi A, Honn KV. Role for β3 integrins in human melanoma growth and survival. *Int J Cancer*, 2002; 101:156-167.
- Döme B, Rásó E, Dobos J, Mészáros L, Varga N, Puskás LG, Fehér LZ, Lőrincz T, Ladányi A, Trikha M, Honn KV, Tímár J. Parallel expression of $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ and avb3 integrins in human angiogenic phenotype. *Int J Cancer*, 2005;116:27-35.
- Rásó E, Tóvári J, Tóth K, Paku S, Trikha M, Honn KV, Tímár J. Ectopic expression of $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ integrin involves 12-lipoxygenase- and PKC-mediated serine phosphorylation events in melanoma cells. *Thrombosis Haemostasis*, 2001;85:1037-1042.
- Tímár J, Rásó E, Döme B, Ladányi A, Bánfalvi T, Gilde K, Raz A. Expression and function of AMF receptor by human melanoma in experimental and clinical systems. *Clin Exp Metast*, 2002;19:225-232
- Tímár J, Trikha M, Szekeres K, Bazaz R, Tóvári J, Silletti S, Raz A, Honn KV. Autocrine motility factor signals integrin-mediated metastatic melanoma cell adhesion and invasion. *Cancer Res*, 1996;56:1902-1908.
- Tímár J, Silletti S, Bazaz R, Raz A, Honn KV. Regulation of melanoma cell motility by the lipoxygenase metabolite 12-(S)-HETE. *Int J Cancer*, 1993;55:1003-1010
- Rásó E, Döme B, Somlai B, Zacharek A, Hagmann W, Honn KV. Molecular identification, localization and function of platelet-type 12-lipoxygenase in human melanoma progression, under experimental and clinical conditions. *Melanoma Res*, 2004;14:245-250.
- Tímár J, Hegedűs B, Rásó E. The role of lipid signaling in the progression of malignant melanoma. *Cancer Metast Rev*, 2018;37:245-255.
- Deli T, Varga N, Ádám A, Kenessey I, Rásó E, Puskás LG, Tóvári J, Fodor J, Fehér M, Szigeti GP, Csernoch L, Tímár J. Functional genomics of calcium channels in human melanoma cells. *Int J Cancer*, 2007;121:55-65.
- Tímár J, Diczházi Cs, Bartha I, Pogány G, Paku S, Rásó E, Tóvári J, Ladányi A, Lapis K, Kopper L, Jeney A. Modulation of heparan-sulphate/ chondroitin-sulphate ratio by glycosaminoglycan biosynthesis inhibitors affects liver metastatic potential of tumor cells. *Int J Cancer* 1995;62:755-761.
- Bereczky B, Gilly R, Rásó E, Vágó Á, Tímár J, Tóvári J. Selective antimetastatic effect of heparins in preclinical human melanoma models is based on inhibition of migration and microvascular arrest. *Clin Experiment Metast*, 2005;22:69-76.
- Kenessey I, Simon E, Futosi K, Bereczky B, Kiss A, Erdödi F, Gallagher JT, Tímár J, Tóvári J. Antimigratory and antimetastatic effect of heparin-derived 4-18 unit oligosaccharides in a preclinical human melanoma metastasis model. *Thromb Haemostasis*, 2009;102: 1265-1273.
- Rásó E, Tóvári J, Ladányi A, Varga N, Tímár J. Ligand-mimetic anti- $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ antibody PAC-1 inhibits tyrosine signaling, proliferation and lung colonization of melanoma cells. *Pathol Oncol Res*, 2005; 11:218-223.
- Kenessey I, Bánky B, Márk Á, Varga N, Tóvári J, Ladányi A, Rásó E, Tímár J: Revisiting CB1 receptor as drug target in human melanoma. *Pathol Oncol Res*, 2012; 18: 857-866.
- Burián Z, Ladányi A, Barbai T, Piurkó V, Garay T, Rásó E, Tímár J: Selective inhibition of HIF1 α expression by ZnSO₄ has antitumoral effects in human melanoma. *Pathol Oncol Res*, 2020; 26:1537-1541.
- Döme B, Somlai B, Tímár J. The loss of NM23 protein in malignant melanoma predicts lymphatic spread without affecting survival. *Anticancer Res*, 2000; 20:3971-3974.
- Döme B, Paku S, Somlai B, Tímár J. Vascularization of cutaneous melanoma involves vessel co-option and has clinical significance. *J Pathol*, 2002; 197:355-362.
- Döme B, Somlai B, Ladányi A, Fazekas K, Zöller M, Tímár J. Expression of CD44v3 splice variant is associated with the visceral metastatic phenotype of human melanoma. *Virchow Arch*, 2001; 439:628-635.
- Imrédi E, Tóth B, Doma V, Barbai T, Rásó E, Kenessey I, Tímár J: Aquaporin 1 protein expression is associated with BRAF V600 mutation and adverse prognosis in cutaneous melanoma. *Melanoma Res*, 2016; 26: 254-260.
- Bánfalvi T, Udvarhelyi N, Orosz Zs, Gergye M, Gilde K, Tímár J. Heterogenous S-100B protein expression patterns in malignant melanoma and association with serum protein levels. *Oncology*, 2003; 64:374-379.
- Ladányi A, Somlai B, Gilde K, Fejős Z, Gaudi I, Tímár J. T-cell activation marker expression on tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic factor in cutaneous malignant melanoma. *Clin Cancer Res*, 2004; 10:521-530.
- Ladányi A, Kiss J, Somlai B, Gilde K, Fejős Zs, Mohos A, Gaudi I, Tímár J. Density of DC-LAMP+ mature dendritic cells in combination with activated T lymphocytes infiltrating primary cutaneous melanoma is a strong independent prognostic factor. *Cancer Immunol Immunother*, 2007;56:1459-1469.
- Ladányi A, Kiss J, Mohos A, Somlai B, Liszky G, Gilde K, Fejős Z, Gaudi I, Dobos J, Tímár J: Prognostic impact of B-cell density in cutaneous melanoma. *Cancer Immunol Immunother*, 2011; 60: 1729-1738.
- Ladányi A, Rásó E, Barbai T, Vizkeleti L, Puskás LG, Kovács SZA, Györfly B, Tímár J. Identification of a tumor cell associated type-I IFN resistance gene expression signature of human melanoma, the components of which have a predictive potential for immunotherapy. *Int J Mol Sci*, 2022;23:2704
- Doma V, Barbai T, Beleaua MA, Kovalszky I, Raso E, Tímár J. KIT mutation incidence and pattern of melanoma in central east Europe. *Pathol Oncol Res*, 2020; 26:17-22.
- Pipek O, Vizkeleti L, Doma V, Alpár A, Bödör Cs, Kárpáti S, Tímár J. The driverless triple wild type (BRAF, NRAS, KIT) cutaneous melanoma: whole genome sequencing discoveries. *Cancers*, 2023;15:1712.
- Doma V, Kárpáthy S, Rásó E, Barbai T, Tímár J: Dynamic and unpredictable changes in mutant allele fractions of BRAF and NRAS during visceral progression of cutaneous malignant melanoma. *BMC Cancer*, 2019; 19:786.
- Papp O, Doma V, Gil J, Marko-Varga G, Kárpáti S, Tímár J, Vizkeleti L. Organ specific copy number variations in visceral metastases of human melanoma. *Cancers*, 2021;13:5984.

Innovatív gyógyszerformák és összetett hatóanyag-leadó rendszerek

Innovative dosage forms and complex drug delivery systems

Richter Gedeon emlékérem és jutalomdíj

Zelkó Romána

Egyetemi Gyógyszertár Gyógyszerügyi Szervezési Intézet, Semmelweis Egyetem

zelko.romana@semmelweis.hu

ÖSSZEFOGLALÁS *Bevezetés.* A korszerű segédanyagokból álló, megfelelő felépítésű gyógyszerformák innovatív technológiai megoldások révén képesek biztosítani az egyénre szabott, betegközpontú gyógyszeres terápiát.

Célkitűzés. A hatóanyag-leadás új stratégiáinak kidolgozása során a hagyományos gyógyszerformák alternatívájaként olyan hozzáadott értékű gyógyszerkészítmények kifejlesztése, amelyek a készítmény hatékonyságának és tolerálhatóságának biztosítása mellett, a beteg különleges igényeit is kielégítik.

Módszer. Elektrosztatikus, rotációs és kontakt szálképzéssel nano- és mikroszálás formulációk fejlesztése, a formulált készítmények in silico, in vitro, ex vivo és in vivo vizsgálata. Az optimális összetétel kiválasztásához morfológiai és szilárd fázisú gyógyszerforma-vizsgálatokat, számítógépes modellezést, kioldódásvizsgálatokat, ex vivo permeabilitás-vizsgálatokat, valamint a topikális formulációk szövetregeneráló hatásának vizsgálatára állatkísérleteket végeztünk.

Eredmények. Különböző hatóanyag-leadó rendszerek (szájban széteső tabletták, filmek, gasztroretentív tabletták, bukkális filmek, nano- és mikroszálás hatóanyag-leadó rendszerek) kerültek kifejlesztésre, amelyek a hatóanyagleadást a beteg számára optimális paraméterek mellett biztosítják.

Következtetések. Az azonos módon alkalmazott hagyományos gyógyszerformákhoz képest az innovatív technológiájú készítményekkel a hatóanyagleadás sebessége és/vagy helye finomhangolható, az alkalmazás egyszerűbbé tehető, így a beteg gyógyszeres terápiája eredményesebbé válik.

KULCSSZAVAK szabályozott hatóanyagleadás, innovatív betegközpontú hatóanyagfelszabadító rendszerek, nano- és mikroszálás rendszerek

SUMMARY *Introduction.* Innovative technologies in formulating advanced excipients with the right structure can provide individualized, patient-centric drug therapy.

Aim In the development of new strategies for drug delivery, the aim is to develop value-added medicinal products that meet the patient's specific needs while ensuring the product's efficacy and tolerability as an alternative to traditional pharmaceutical forms.

Methods. Developed nano- and microfibrinous formulations by electrostatic, rotational, and contact fiber formation, in silico, in vitro, ex vivo, and in vivo testing of the formulated products. Morphological and solid-phase drug formulation studies, computer modeling, release studies, ex vivo permeability studies, and animal studies to investigate the tissue regeneration effect of topical formulations were performed to select the optimal formulation.

Results. Various drug delivery systems (orally disintegrating tablets, films, gastroretentive tablets, buccal films, nano- and micro-fiber drug delivery systems) have been developed to deliver the drug at optimal parameters for the patient.

Conclusions. Compared to traditional forms of medicine used in the same way, innovative technology can be used to fine-tune the rate and site of drug delivery, simplify administration and make drug therapy more effective for the patient.

KEY WORDS controlled drug delivery, innovative patient-centric drug delivery systems, nano- and microfibrinous systems

Bevezető

A hatóanyag-felszabadító rendszerként működő, szabályozott hatóanyagleadást biztosító különleges mikro- és makroszerkezetű gyógyszerformák, az egyénre szabott, betegközpontú gyógyszeres kezelés

fontos eszközei. A hatóanyag a gyógyszerkészítmények lényegi összetevője, ugyanakkor a gyógyszerforma az, amely tartalmát hatóanyag-felszabadító rendszerként hordozza és működteti, azaz a hatás helyére célba juttatja.

A korszerű segédanyagokból álló, megfelelő felépítésű gyógyszerformák innovatív technológiai megoldások révén képesek növelni a hatékonyságot és/vagy csökkenteni a mellékhatásokat. Alternatív adagolási módokkal a korábban csak invazív módon (pl. iv., sc. injekció formájában) alkalmazható hatóanyagok (pl. fehérjék, nukleinsavak) is szervezetbe juttathatók neminvazív módon, más beviteli kapun (száj, orr, bőr, tüdőnyálkahártya) keresztül.

A betegközpontú gyógyszeres kezelés legnagyobb előnyét a beteg élvezi, azonban számos egyéb célcsoport érdekét is szolgálja. Így a beteg a legoptimálisabb kezelési mód kiválasztásával mentesül a felesleges gyógyszerek által okozott mellékhatásoktól, jobb terápiás eredményre számíthat, míg a kezelőorvos számára megkönnyíti a döntéshozatalt, és kiszámíthatóbbá teszi a kezelés végeredményét. Továbbá optimalizálja az elérhető források felhasználását, csökkenti a lehetséges mellékhatások párhuzamos kezelésének szükségességét, és csökkenti a felesleges gyógyszerfogyasztást [1].

A hagyományos hatóanyag-felszabadító rendszerek korlátjainak leküzdése érdekében a gyógyszergyárak innovatív rendszerek fejlesztésére és tervezésére összpontosítanak. A nagy teljesítmény, a technológia robusztussága, a szabályozott hatóanyag-leadásnak köszönhetően meghosszabbított termékélettartam, a csökkentett adagolási gyakoriság és a költségredukció szükségessége az új gyógyszeradagoló rendszerek fejlesztésének motorja, amely a gyógyszeripar egyik leggyorsabban bővülő szegmense közé tartozik.

Az adagolási forma összetételét és technológiai felépítését, alkalmazhatóságát és hatóanyag-felszabadítását úgy szükséges tervezni, hogy készítmény hatékonyságát és tolerálhatóságát biztosítsuk, és a beteg különleges igényeinek is megfelelően [2].

A hagyományos adagolási formák, mint például a tabletták és kapszulák számos esetben alacsony biohasznosíthatósággal és gyakori alkalmazással, gyakoribb mellékhatásokkal, és ennél fogva a betegek nem megfelelő terápiás adherenciájával járnak. A hatóanyagleadás új stratégiáinak kidolgozása során a hagyományos gyógyszerformák alternatívájaként hozzáadott értékű gyógyszerkészítmények kerülnek kifej-

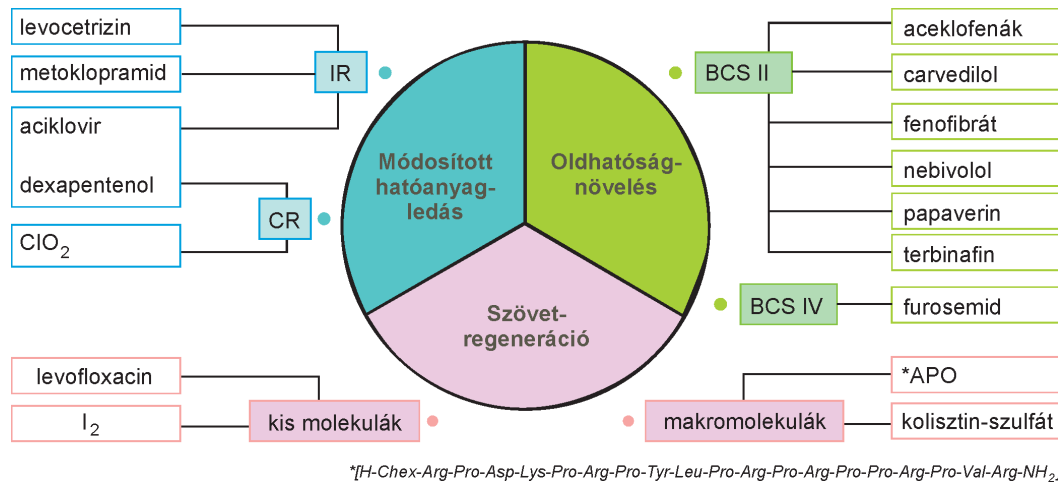
lesztésre. Ezek közül a gyermekgyógyászatban és a geriátriában nagy jelentőséggel bírnak a gyorsan oldódó hatóanyagleadó rendszerek, szájban széteső filmek és tabletták. Az úszó hatóanyag-leadó rendszerek, melyek a gyomorba jutástól számított bizonyos időn belül a gyomornedv felületén történő úszásra képesek, lehetővé teszik a célzott és szabályozott hatóanyagfelszabadítást. A gyomorban való tartózkodási idő megnyújtásával több idő áll rendelkezésre a hatóanyag felszabadulására az abszorpció szempontjából ideális területeken, ami az adagolás gyakoriságának csökkentése mellett a biohasznosíthatóság növekedéséhez, és kiegyenlített vérszintekhez vezet. Az ilyen hatóanyagleadó rendszerek egy adott területen való megtartása a nagy helyi hatóanyag-koncentráció révén lehetőséget ad a gyomor lokális kezelésére a szisztémás mellékhatások csökkentése mellett. Az 1. táblázat összefoglalja a hozzáadott értékű gyógyszerkészítmények fejlesztése terén elért eredményeinket, amelyeket a Richter Gedeon NyRt.-vel együttműködésben végeztünk.

Az új hatóanyag-jelöltek jelentős része gyenge vízoldhatósággal és/vagy membránpermeabilitással rendelkezik. Számos ígéretes technikát fejlesztettek ki az előnytelen hatóanyag-tulajdonságok kiküszöbölésére, beleértve a különböző szálképzési módszereket is. Az elektrosztatikus és a nagy sebességű rotációs szálképzés a leggyakrabban használt szálképzési eljárások közé tartozik. A szálal rendszerek tulajdonságai (nagy fajlagos felület, porozitás, kristályos hatóanyagok amorf állapotban történő megtartása, extracelluláris mátrixot utánozó szerkezet), fokozzák a hatóanyagok oldódási sebességét és látszólagos oldhatóságát, ezáltal felszívódásuk sebességét és mértékét. A hidrophil polimer alapú, hatóanyaggal töltött nanoszálás, szájban oldódó szövetedékek ígéretes jelöltek a gyors gyógyszerleadásra, ami a rendszer előnyös morfológiai és fizikai-kémiai tulajdonságainak köszönhető. A polimer oldhatósága, a szál átmérője és a szálszerkezet a hatóanyag-felszabadulást befolyásoló elsődleges paraméterek. A kis molekulák esetében a fejlesztések leginkább a hatóanyagok kedvezőtlen fizikai-kémiai tulajdonságainak leküzdésére irányulnak. Mivel ezeknek a rendszereknek a stabilitása döntő kérdés, érzékeny és ron-

1. táblázat

Példák a hozzáadott értékű készítmények fejlesztésére

FEJLESZTÉSI CÉL	HATÓANYAG	TECHNOLÓGIAI MEGVALÓSÍTÁS	REFERENCIA
Célzott és nyújtott hatóanyagfelszabadulás/jobb biohasznosíthatóság	metronidazol	Gasztroretentív („Úszó tablettá”) hatóanyagleadó rendszer	[3]
Ízfedés és nyújtott hatóanyagleadás biztosítása	dezloratadin	Szilárd polimer komplex-képzés	[4]
Oldhatóság növelése a biohasznosíthatóság növelésére	carvedilol	Szájban széteső mikroszálás tablettá	[5]
Felszívódás növelése, non-invazív beviteli móddal	B ₁₂ -vitamin	Bukkális film	[6]
Gyors felszívódás biztosítása	furosemid	Nanoszálás bukkális film	[7]



1. ábra. Különböző hatóanyagok nano- és mikroszálás készítmény-fejlesztése eltérő céllal [8-24]

BCS: Biopharmaceutical Classification System/Biofarmáciai Osztályozási rendszer, amely a hatóanyagokat megkülönbözteti oldhatóságuk és permeabilitásuk szerint, BCS II – rossz oldhatóság, jó permeabilitás, BCS IV – rossz oldhatóság és rossz permeabilitás, IR: Immediate Release/Azonnali hatóanyag-felszabadulás, CR: Controlled Release/Szabályozott (nyújtott) hatóanyag-felszabadulás

csolásmentes nyomon követése nagy gyakorlati jelentőséggel bír alkalmazhatóságuk előrejelzésében.

Az elmúlt évtized célkitűzése volt elektrosztatikus, rotációs és kontakt szálképzéssel nano- és mikroszálás formulációk fejlesztése, a formulált készítmények in vitro, ex vivo és in vivo vizsgálata, az előállítási módszer gyógyszeripari implementálhatóságának elősegítése.

Nano- és mikroszálás készítmények formulálása és vizsgálata

A különböző szálás formulációk fejlesztéséhez kiválasztott hatóanyagok a Biofarmáciai Osztályozási Rendszer II. és IV. csoportjába tartoznak. A formulációfejlesztésnél kihasználtuk a szálás rendszer előnyös fizikai-kémiai tulajdonságait. Így felhasználtuk rosszul oldódó hatóanyagok oldhatóságnövelésére, módosított hatóanyagleadásra és szövetregenerációs célokra is [8-24]. Az 1. ábra szemlélteti a nano- és mikroszálás rendszerek változatos gyógyszer technológiai és orvosi biológiai felhasználási lehetőségeit.

A szálképzéshez felhasznált biokompatibilis polimerek lehetnek természetes eredetűek (pl. kitozán, alginátok, cellulóz származékok, polipeptidek) vagy szintetikus, lebomló [pl. poli(vinil-alkohol), politejsav, poli(glikolsav), polikaprolakton, poliuretán], vagy nem lebomló polimerek (pl. akrilátok, polivinilpirrolidon, poli-etilénoxid).

A legkorszerűbb morfológiai (pásztázó (SEM) és transzmissziós elektronmikroszkópia (TEM), atomerő mikroszkópia (AFM) és szilárd fázisú fizikai-kémiai vizsgálómódszerek (szilárd fázisú mágneses magrezonancia spektroszkópia (ssNMR), pozitron annihilációs élettartam spektroszkópia (PALS), Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia (FTIR-spektro-

szkópia), por-röntgen-diffrakció (XRD), differenciálpasztázó kalorimetria (DSC)) kombinációját alkalmaztuk a formulálás, és a tárolás során bekövetkező mikro- és makroszerkezeti változások követésére.

A PALS neminvaszív nukleáris szondázási technika kiválóan alkalmas polimer hatóanyag kompozitszálak szabadtérfogató-változásának követésére a tárolási idő függvényében, az orto-pozitronium (o-Ps) élettartam-értékeinek változása alapján. A módszer a diszkrét o-Ps élettartamok és élettartam-eloszlások változásai alapján lehetővé tette a polimer hordozó- és a hatóanyag szilárd fázisú szupramolekuláris szerkezetváltozásának követését mind a formuláció, mind a tárolás során, mely alapján a destabilizáló interakciók előre jelezhetőek.

A szenzitív PALS technika hatékony eszköz a lehetséges szupramolekuláris kölcsönhatások monitorozására a tárolás során létrejövő környezeti terhelés (hőmérséklet, hő, páratartalom) által kiváltott szabadtérfogatóváltozások alapján. Mivel ezen kölcsönhatások többsége másodlagos kötéseket érint, így átrendeződésük módosítja a szabadtérfogatók méretét és eloszlását.

A 2. táblázat a különböző nanoszálás formulációk tárolás során bekövetkező funkcióval összefüggő tulajdonság-változásának előre jelzésére mutat példákat az o-Ps élettartamok és élettartam-eloszlások monitorozásával [25].

Az alkalmazott kísérleti összeállítás egyedi lehetőséget nyújt a tárolás hatásának másodlagos kötőerőket érintő, neminvaszív, valós idejű nyomon követésére. A szupramolekuláris szerkezetváltozások szimultán is létrejöhetnek mind a polimer hordozóban, mind a hatóanyagban, amelyek jelentősen módosítják a rendszer funkcióval összefüggő tulajdonságait, így a hatóanyag-felszabadulás kinetikáját vagy a gyógyszerforma reológiai jellemzőit.

2. táblázat

Példák a stabilitás monitorozására az o-Ps élettartam értékek változásának valós idejű követésével

HATÓANYAG (SZINTETIKUS, BIOLÓGIAI)	SZÁLKÉPZŐ POLIMER	BEFOLYÁSOLT TULAJDONSÁG
carvedilol	hidroxipropil-cellulóz	a hatóanyag amorf-kristályos részaránya
metoklopramid	polivinil-alkohol	szálmorfológia
nebivolol-hidroklorid	polivinil-alkohol	a hatóanyag amorf-kristályos részaránya
papaverin-hidroklorid	hidroxipropil -cellulóz/polivinil-alkohol	szálmorfológia, a hatóanyag amorf-kristályos részaránya
elő baktérium	polivinil-alkohol	<i>S. maltophilia</i> élőképesség

Összefoglalás

A bemutatott példák alátámasztják, hogy az összetétel és a gyártási eljárás optimalizálásával a hatóanyag-leadás sebessége és/vagy helye jelentősen módosult az azonos módon alkalmazott hagyományos hatóanyag-leadású gyógyszerformához képest. Így szájban gyorsan széteső tablettákat, filmeket, bukkális filmeket, valamint hidrodinamikailag kiegyensúlyozott, úgynevezett „úszó” tablettákat fejlesztettünk ki. Az innovatív betegközpontú mikro- és nanoszálalás formulációk mind gyógyszerhordozóként, mind szövetregenerációt elősegítő készítményekként is ígértesek, amelyek a betegek számára új terápiás lehetőséget nyitnak meg, nemcsak kismolekulás, hanem biológikumok esetén is.

Irodalom

- Drumond N. Future Perspectives for patient-centric pharmaceutical drug product design with regard to solid oral dosage forms. *J Pharm Innov* 2020; 15:318-324.
- https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en-11.pdf Letöltés: 2023.02.14
- Kiss D. Metronidazol hatóanyagú úszótabletta formulálása. Doktori értekezés, Budapest, 2007.
- Szakonyi G. Investigation, development and evaluation of orally disintegrating tablets. Ph.D. Thesis, Budapest, 2014.
- Szabó P. Applicability of rotary spun hydroxypropyl cellulose microfibrils for the formulation of orodispersible tablets of poorly soluble drugs. Ph.D. Thesis, Budapest, 2016.
- Szabó B. B12 vitamin tartalmú, bukkális gyógyszerhordozó rendszer formulálása, mikro- és makroszerkezetének vizsgálata. Doktori értekezés, Budapest, 2012.
- Kovács A. Formulation of furosemide loaded electrospun nanofibrous buccal drug delivery systems. Ph.D. Thesis, Budapest, 2020.
- Sipos E, Kósa N, Kazsoki A, Szabó ZI, Zétkó R. Formulation and characterization of aceclofenac-loaded nanofiber based orally dissolving webs. *Pharmaceutics* 2019; 11:417.
- Kazsoki A, Domján A, Süvegh K, Zétkó R. Microstructural characterization of papaverine-loaded HPC/PVA gels, films and nanofibers. *Eur J Pharm Sci* 2018; 122:9-12.
- Kazsoki A, Szabó P, Domján A, Balázs A, Bozót T, Kellermayer M, et al. Microstructural distinction of electrospun nanofibrous drug delivery systems formulated with different excipients. *Mol Pharm* 2018; 15:4214-4225.
- Hall Barrientos JJ, Paladino E, Szabó P, Brozio S, Hall PJ, Oseghale CI, et al. Electrospun collagen-based nanofibers: A sustainable material for improved antibiotic utilisation in tissue engineering applications. *Int J Pharm* 2017; 531:67-79.
- Kazsoki A, Szabó P, Süvegh K, Vörös T, Zétkó R. Macro- and microstructural tracking of ageing-related changes of papaverine hydrochloride-loaded electrospun nanofibrous buccal sheets. *J Pharm Biomed Anal* 2017; 143:62-67.
- Kazsoki A, Szabó P, Zétkó R. Prediction of the hydroxypropyl cellulose-poly(vinyl alcohol) ratio in aqueous solution containing papaverine hydrochloride in terms of drug loaded electrospun fiber formation. *J Pharm Biomed Anal* 2017; 138:357-362.
- Kovács A, Démuth B, Meskó A, Zétkó R. Preformulation studies of furosemide-loaded electrospun nanofibrous systems for buccal administration. *Polymers (Basel)*. 2017; 9:643.
- Sebe I, Ostorházi E, Bodai Z, Eke Z, Szakács J, Kovács NK, et al. In vitro and in silico characterization of fibrous scaffolds comprising alternate colistin sulfate-loaded and heat-treated polyvinyl alcohol nanofibrous sheets. *Int J Pharm* 2017; 523:151-158.
- Kazsoki A, Palcsó B, Omer SM, Kovacs Z, Zétkó R. Formulation of levocetirizine-loaded core-shell type nanofibrous orally dissolving webs as a potential alternative for immediate release dosage forms. *Pharmaceutics* 2022; 14:1442.
- Kazsoki A, Palcsó B, Alpár A, Snoeck R, Andrei G, Zétkó R. Formulation of acyclovir (core)-dexamphenol (sheath) nanofibrous patches for the treatment of herpes labialis. *Int J Pharm* 2022; 611:121354.
- Palcsó B, Kazsoki A, Herczegh A, Ghidán Á, Pinke B, Mészáros L, Zétkó R. Formulation of Chlorine-Dioxide-Releasing Nanofibers for Disinfection in Humid and CO₂-Rich Environment. *Nanomaterials (Basel)* 2022; 12:1481.
- Omer S, Zétkó R. A Systematic Review of Drug-Loaded Electrospun Nanofiber-Based Ophthalmic Inserts. *Pharmaceutics* 2021; 13:1637.
- Sebe I, Kovács I, Zétkó R. Design of the prototype of contact drawing device for potential individual therapeutic fiber formation purposes. *Pharmaceutics* 2021; 13:875.
- Kovács A, Kazsoki A, Démuth B, Szirányi B, Madarász J, Süvegh K, Zétkó R. Influence of aqueous solubility-enhancing excipients on the microstructural characteristics of furosemide-loaded electrospun nanofibers. *Pharmaceutics* 2020; 12:385.
- Kazsoki A, Farkas A, Balogh-Weiser D, Mancuso E, Sharma PK, Lamprou DA, Zétkó R. Novel combination of non-invasive morphological and solid-state characterisation of drug-loaded core-shell electrospun fibres. *Int J Pharm* 2020; 587:119706.
- Sebe I, Kállai-Szabó B, Oldal I, Zsidai L, Zétkó R. Development of laboratory-scale high-speed rotary devices for a potential pharmaceutical microfibre drug delivery platform. *Int J Pharm* 2020; 588:119740.
- Sipos E, Csatári T, Kazsoki A, Gergely A, Bitay E, Szabó ZI, Zétkó R. Preparation and characterization of fenofibrate-loaded PVP electrospun microfibrillar sheets. *Pharmaceutics* 2020; 12:612.
- Shokoya MM, Benkő B-M, Süvegh K, Zétkó R, Sebe I. Positron Annihilation Lifetime Spectroscopy as a special technique for the solid-state characterization of pharmaceutical excipients, drug delivery systems, and medical devices—A systematic review. *Pharmaceutics* 2023; 16:252.



A folyóirat célja: Az 1911-óta megjelenő Orvostudomány legfontosabb célja a hazai orvostudomány folyamatos graduális és posztgraduális képzésének támogatása. A lap elsősorban olyan munkák közlését tartja feladatának, amelyek az orvostudomány egy-egy ágának újabb és leszűrt eredményeit foglalják össze magas színvonalon úgy, hogy azok a gyakorló orvoshoz, szakorvoshoz, klinikushoz és elméleti orvoshoz egyaránt szóljanak. Emellett lehetőség van eredeti közlemények és esetismertetések benyújtására, és az újság a Semmelweis Egyetem szakmai kötelező szinten tartó tanfolyamok előadási összefoglalóinak is teret ad. Az eredeti közlemények a rendszeres lapszámokban, vagy a témához kapcsolódó tematikus lapszámokban kapnak helyet. Fontos feladatunknak tartjuk, hogy rezidens kollégák tollából származó esetismertetéseket is közöljünk, melyeket mentori ajánlással kérünk benyújtani. A beadott dolgozatokat a szerkesztőbizottság előzetes bírálatra adja ki, és a kézirat közlésére a bírálat eredményének függvényében kerül sor. Tudományos dolgozat benyújtására az alábbiak szerint van lehetőség:

- Esetismertetés (case report)
- Fialet doktorok (PhD) tudományos beszámolója, új eredményeinek összefoglalása (nem tézisek vagy doktori értekezések!)
- Klasszikus összefoglaló közlemény az elméleti és klinikai orvostudomány bármely területéről, a legújabb irodalmi eredmények felhasználásával
- „Update” jellegű közlemény, azaz nem egy téma kidolgozása, hanem adott szakterület legújabb tudományos eredményeinek összefoglalása
- Előadási összefoglaló (a tanfolyamszervezők felkérése alapján)

A kézirat: A tudományos közleményeket elektronikusan, Word dokumentum formátumban kérjük eljuttatni a szerkesztőségbe. Az illusztrációkat, ábrákat és táblázatokat külön file-ként kérjük elküldeni. Az ábrák címeit és az ábramagyarázatokat a Word dokumentumunk külön oldalán kell feltüntetni, az ábra/táblázat számának egyértelmű megjelölésével. A digitális képeket minimum 300 dpi felbontásban kérjük, elfogadunk tif, eps, illetve cdr kiterjesztésű file-okat. A kézirat elfogadása esetén az ábrákat a szerkesztőség nyomtatott formában is kéri elküldeni. Az orvosi szavak helyesírásában az Akadémia állásfoglalásának megfelelően, a latinus írásmód következetes alkalmazását tekintjük elfogadottnak. Magyarosan kérjük írni a tudományágak és szakterületek, a technikai eljárások, műszerek, a kémiai vegyületek neveit. A szerkesztők fenntartják maguknak a stílusjavítás jogát. A mértékegységeket SI mértékrendszerben kérjük megadni.

A kézirat felépítése a következő: (1) címlap, (2) magyar összefoglalás, kulcsszavakkal, (3) angol összefoglalás (angol címmel), angol kulcsszavakkal, (sorrendben): magyar cím, angol cím, (4) rövidítések jegyzéke (ha van), (5) szöveg, (6) irodalomjegyzék, (7) ábrarajezgék, (8) táblázatok, (9) ábrák. Az oldalszámozást a címlaptól kezdve kell megadni és az egyes felsorolt tételeket külön lapon kell kezdeni.

(1) A *címlapon* sorrendben a következők szerepeljenek: a kézirat címe, a szerzők neve, valamint a szerzők munkahelye, a kapcsolattartó szerző pontos elektronikus és postai címének megjelölésével. (2–3) Az *összefoglalást* magyar és angol nyelven kell beküldeni, külön oldalakon, a következő szerkezet szerint: „Bevezetés” („Introduction”), „Célkitűzés” („Aim”), „Módszer” („Methods”), „Eredmények” („Results”) és „Következtetések” („Conclusions”) lényegre törő megfogalmazása történjék. A magyar és az angol összefoglalások terjedelme – külön-külön – ne haladja meg a 200 szót (kulcsszavak nélkül). A témához kapcsolódó, maximum 5 kulcsszót az összefoglalók oldalán, azokat követően kérjük feltüntetni magyar és angol nyelven. (4) A kéziratban előforduló, nem általánosan elfogadott *rövidítésekről* külön jegyzéket kell készíteni abc-sorrendben. (5) A szövegtörzs szerkezete világos és az olvasó számára átlátható legyen. Eredeti közlemények esetén a „Bevezet-

tő”-ben röviden meg kell jelölni a problémafelvetést, és az irodalmi hivatkozásokat a legújabb eredeti közleményekre és összefoglalókra kell szűkíteni. A „Módszer” részben világosan és pontosan kell leírni azokat a módszereket, amelyek alapján a közölt eredmények születtek. Korábban közölt módszereket esetén csak a metodika alapelveit kell megjelölni, megfelelő irodalmi hivatkozással. Klinikai vizsgálatoknál a kézírathoz csatolni kell az illetékes etikai bizottság állásfoglalását. Állatkísérletek esetén a Magyar Tudományos Akadémia – Egészségügyi Tudományos Tanács – állatkísérletekre vonatkozó etikai kódexe érvényes, melyre a metodikai részben utalni kell. A statisztikai módszereket és azok irodalmát is meg kell adni. Az „Eredmények” és a „Megbeszélés” részeket világosan kell meg szerkeszteni. *Referáló közlemények* benyújtása esetén a szövegtörzs altémákra osztható, melyeket alcímek vezessenek be. *Összefoglaló referátumoknál* a szövegtörzs terjedelme ne haladja meg a 30 000 karaktert (szóközzel), *eredeti közleménynél* (klinikai, vagy kísérletes) ne haladja meg a 20 000 karaktert (szóközzel), *esetismertetésnél* ne haladja meg a 10.000 karaktert (szóközzel), *előadási összefoglaló* esetén pedig ne haladja meg a 8000 karaktert (szóközzel).

Irodalom: a hivatkozásokat (maximum 50, előadási összefoglalónál maximum 10) a szövegben való megjelenés sorrendjében tüntessék fel. A szövegben a hivatkozást a sorszáma jelöli.

Hivatkozás cikkre: sorrendben: szerzők neve (6 szerző felett et al./és mtsai), cikk címe, folyóirat neve (Index Medicus szerint rövidítve), év; kötetszám:első-utolsó oldal. Példa: 1. Kelly PJ, Eisman JA, Sambrook PN. Interaction of genetic and environmental influences on peak bone density. Osteoporosis Int 1990; 1:56-60. *Hivatkozás könyvfejezetre,* sorrendben: a fejezet szerzői. A fejezet címe. In: szerkesztők (editors). A könyv címe. A kiadás helye, kiadó, megjelenés éve; fejezet első-utolsó oldala. Példa: 2. Delange FM, Ermans AM. Iodide deficiency. In: Braverman LE, Utiger RD, eds. Werner and Ingbar's the thyroid. 7th ed. Philadelphia, Lipincott-Raven, 1996; 296 316.

Ábrarajezgék: a megjelenés sorrendjében, arab számmal sorszámozva egymás alatt tartalmazza az ábra címét és alatta rövid és lényegre törő ábramagyarázatot

Táblázatok: külön-külön lapokon kérjük, címmel ellátva és arab számmal sorszámozva. Törekedjenek arra, hogy a táblázat könnyen áttekinthető legyen, ne tartalmazzon zavaróan sok adatot.

Ábrák: külön-külön lapokon kérjük. Csak reprodukálható minőségű ábrákat, fényképek küldését kérjük (min. 300 dpi felbontásban), a korábban megjelölt file formátumokban. A kézirat elfogadása esetén a nyomtatott ábrát kérjük beküldeni a szerkesztőségbe és az ábra hátoldalán puha ceruzával kérjük jelölni a szerző nevét, arab számmal az ábra sorszámát és a vertikális irányát.

A formai hiányossággal beküldött kéziratokat nem tudjuk elfogadni. A gyors lektori és korrektúrafordulók érdekében kérjük a legbiztosabb levelezési, illetve e-mail címet, telefon- és faxszámot megadni. Elfogadás esetén külön levélben kérjük jelezni, hogy a szerző a közleménnyel egyetértene (és ezt aláírásukkal igazolják), valamint lemondanak a folyóirat javára a kiadási jogról. Írásbeli engedélyt kérünk mellékelni a már közölt adat/ábra felhasználása, felismerhető személy ábrázolása, szerzőnek nem minősülő személy nevének említése/feltüntetése esetén. A szerkesztőség az általa felkért szakértők személyét titkossággal kezeli. A kézirat tulajdonjoga a megjelenésig a szerzőt illeti meg, a megjelenés napján tulajdonjoga a kiadóra száll. A megjelent kéziratok megőrzésére szerkesztőségünk nem tud vállalkozni.

A kéziratok benyújtását a következő címre várjuk:
Dr. Merkely Béla egyetemi tanár, felelős szerkesztő
Semmelweis Egyetem, Kardiológiai Központ
1122 Budapest, Városmajor u. 68
Tel.: (06-1) 458-6810
E-mail: orvoskepzes@kardio.sote.hu