

MODERN
ORVOSTUDOMÁNYI
TECHNOLÓGIÁK
A SEMMELWEIS EGYETEMEN



a *Magyar Tudomány*
2012. júniusi számának melléklete

TÁMOP-4.2.1.B-09/I/KMR-2010-0001

Főszerkesztő:

CSÁNYI VILMOS

Szerkesztőbizottság:

ÁDÁM GYÖRGY, BENCZE GYULA, BOZÓ LÁSZLÓ, CSÁSZÁR ÁKOS,
ENYEDI GYÖRGY, HAMZA GÁBOR, KOVÁCS FERENC, LUDASSY MÁRIA,
SOLYOSI FRIGYES, SPÄT ANDRÁS, SZEGEDY-MASZÁK MIHÁLY, VAMOS TIBOR

A lapot készítette:

ELEK LÁSZLÓ, GAZDAG KÁLMÁNNÉ, HALMOS TAMÁS, HOLLÓ VIRÁG,
MAJOROS KLÁRA, MAKOVECZ BENJAMIN, MATSKÁSI ISTVÁN, PERECZ LÁSZLÓ,
SIPOS JÚLIA, SPERLÁGH SÁNDOR, SZABADOS LÁSZLÓ, F. TÓTH TIBOR

Szerkesztőség:

1051 Budapest, Nádor utca 7. • Telefon/fax: 3179-524
matud@helka.iif.hu • www.matud.iif.hu
Kiadja az Akaprint Kft. • 1115 Bp., Bártfai u. 65.
Tel.: 2067-975 • akaprint@akaprint.t-online.hu

Előfizethető a FOK-TA Bt. címen (1134 Budapest, Gidófalvy L. u. 21.);
a Posta hírlapüzleteiben, az MP Rt. Hírlapelőfizetési és Elektronikus
Posta Igazgatóságánál (HELP) 1846 Budapest, Pf. 863,
valamint a folyóirat kiadójánál: Akaprint Kft. 1115 Bp., Bártfai u. 65.

Előfizetési díj egy évre: 10 440 Ft
Terjeszti a Magyar Posta és alternatív terjesztők
Kapható az ország igényes könyvesboltjaiban

Nyomdai munkák: Akaprint Kft.
Felelős vezető: Freier László
Megjelent: 11,4 (A/5) ív terjedelemben
HU ISSN 0025 0325

**MODERN ORVOSTUDOMÁNYI TECHNOLÓGIÁK
A SEMMELWEIS EGYETEMEN**

Tulassay Tivadar: Rektori köszöntő	2
1. Diagnosztika	
Szél Ágoston: Biológiai leképezés a diagnosztika szolgálatában: a molekuláktól az emberig	5
Prókai Ágnes – Himer Leonóra – Berta Nóra – Kosik Anna – Vannay Ádám – Kis-Petik Katalin – Szabó J. Attila: A reninszekréció vizsgálata multifoton-mikroszkóppal a vese akut és krónikus kórfolyamataiban	16
Osváth Szabolcs – Szigeti Krisztián: Új dinamikus képalkotó eljárás	25
2. Technológia	
Kellermayer Miklós: Bioanyagok: A nanotechnológiától a mesterséges szövetig	30
Jedlovsky-Hajdú Angéla – Varga Zsófia – Juriga Dávid – Molnár Kristóf – Zrínyi Miklós: Biokompatibilis anyagok: mesterséges mátrixok és nanorészecskék	39
Énszöly Anna – Dunkel Petra – Czompa Andrea – Deme Ruth – Gyires Klára – Magyar Kálmán – Németh János – Mátyus Péter: Szemikarbazid-szenzitív aminoszintézis- gátlók mint új hatóanyagok gyulladáshoz vezető betegségek kezelésére: a szelektív inhibitoroktól az új típusú többtámadáspontú gyulladásgátló gyógyszerjelöltig	48
3. Terápia	
Ádám-Vizi Veronika – Hunyady László – Ligeti Erzsébet – Mandl József – Matolcsy András – Tímár József: Célkeresztben a daganatos betegség	54
Balla András – Erdélyi László Sándor – Hunyady László: G-fehérjéhez kapcsolt receptorok aktivációs modelljeinek elemzése	69
Szilák László – Keller-Pintér Anikó – Tímár József: Az angiosztatin felhasználási lehetőségei a daganatellenes terápiában	76
4. Prevenció	
Molnár Mária Judit: Személyre szabott orvoslás: paradigmaváltás az egészségügyben	81
F. Semsei Ágnes – Lautner-Csorba Orsolya – Kutszegi Nóra – Schermann Géza – Eipel Olivér – Falus András – Szalai Csaba – Kovács T. Gábor – Erdélyi Dániel: A gyermekkori akut limfoid leukémia farmakogenetikája egy gyógyszer-mellékhatás példáján	90
Szaniszló Tamás – Dénes Júlia – Takáts Zoltán: Intelligens sebészeti eszköz – szövetek műtét közbeni azonosítása tömegspektrometriás módszerrel	98
5. Kutatóegyetemi hírcsokor	108
6. Kiadványok	122

Rektori köszöntő

Tulassay Tivadar

egyetemi tanár, az MTA rendes tagja, a Semmelweis Egyetem rektora

Kutatással harmadéves orvostanhallgató koromban kezdtem foglalkozni. Egy élettani laboratórium varázsa fogott meg: az élő természet csodáinak faggatása azóta is fogva tart. De mennyit változott a világ! Harmincöt évvel ezelőtt a laboratóriumban a témavezetővel együtt öten-hatan dolgoztunk, rendkívül családias környezetben tanultuk a kutatás módszertanát, élveztük a kísérleteket, írtuk az előadásokat és a közleményeket. Éltre szóló élményt kaptunk emberségből, megtanultuk elviselni a kudarokat, örültünk egymás sikereinek, s közben mély barátságok születtek. Ez a légkör szerencsére ma is jelen van a jó kutatólaboratóriumban. Ám a világ

azóta nagyot változott: ma már a kiscsoportos tudomány művelése nem igazán hatékony. Világraszóló tudományos eredmények eléréséhez kritikus tömegre van szükség. Ez a kritikus tömeg több oldalról közelíti meg a vizsgált tudományos kérdést, s a módszerek, az eszközök, a megközelítés szemlélete lebontja a hagyományos diszciplináris határokat.

A Semmelweis Egyetemen olyan kutatóhálózat létrehozását céloztuk meg, amelyben megjelenik a kritikus tömeg. Ebben a hálózatban a legjobbak bizonyítják, hogy a kutató bizonyos tekintetben lemond a saját egyéni ambícióiról a kutatóközösség érdekében, de tudja, hogy a kutatóközösség hatékonyabb

és eredményesebb lehet ezáltal. A magányos bölények korszaka a tudományban lejárt, a nagy egyéniségek azonban mégis meghatározzák egy kutatóközösség eredményességét.

Az elmúlt évtizedekben az is nyilvánvaló lett, hogy a legmodernebb technológiák alkalmazása nagyon sok pénzbe kerül a tudományban is. Az akadémiai és a tudományos világban felállított ranglistákon csak olyanoknak jut előkelő hely, akik jelentős anyagi forrásokhoz tudnak jutni. Ha az az ambiciózus elvárás, hogy magyar oktatási intézmény is legyen a kiemelt listás egyetemek között, akkor meg kell vizsgálni az egy hallgatóra jutó állami támogatás éves összegét is, mivel a kető szoros összefüggésben van egymással. Az Európai Unió átlagában az egy hallgatóra jutó állami támogatás nagyjából kilencezer euró, a világ első száz egyetemén pedig hallgatónként 14–15 ezer euróval tudnak gazdálkodni. Ahhoz, hogy a magyarországi kutatóegyetemek, tudományegyetemek bekerüljenek az első ötszázba, a jelenlegi háromezer eurós

állami támogatást jelentősen meg kell emelni. A kutatóegyetemi pályázatok ezért jelentősek, mert a hazai gazdasági környezet lehetőségeihez képest támogatják a nemzetközi dimenzióban is figyelemre méltó egyetemeket. Az egy periódusra jutó támogatás azonban csak akkor fog mérhető sikereket eredményezni, ha a támogatás megismétlődik, és legalább még egy időszakra kiterjed.

A *Modern Orvostudományi Technológiák a Semmelweis Egyetemen* kutatóegyetemi pályázatunkban négy nagy tudomány- és fejlesztési területet összefogó modulba szerveződve végeztük hálózatformáló tudományos munkánkat. A jelen kötetben megjelenő cikkek ezt a moduláris összetételt jelenítik meg. Bízunk benne, hogy a magányos bölények korszakából a hálózatos kutatási formába emelkedve valóban világraszóló tudomány alapjait tehetjük le egyetemünkön.

Kulcsszavak: *kutatóegyetem, tudományos modulok, kiválóság, közösség*

BIOLÓGIAI LEKÉPEZÉS A DIAGNOSZTIKA SZOLGÁLATÁBAN – A MOLEKULÁKTÓL AZ EMBERIG –

Szél Ágoston

a biológiai tudományok doktora,
Semmelweis Egyetem Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet
szel@anaz.sote.hu

I Diagnosztika

Bevezetés

A modern képalkotó módszerek a számítástechnika lehetőségeit kihasználva forradalmasították a diagnosztikát. Hihetetlen mértékben megnőtt a feloldás és a találati biztonság, és a mai orvosi vizsgálóeljárások nélkülözhetetlen részévé vált a képalkotás (például: CT, NMR). A hasonló elvek alapján működő készülékekkel azonban nemcsak az egész emberi test és a szervek, hanem sejtek és szövetek szintjén is biztosítani lehet a megfelelő leképezést. A szubcelluláris diagnosztika nemcsak betegségek felderítésére, hanem alapvető sejtleletani folyamatok, fejlődéstani változások nyomon követésére is alkalmas. A szeletanatómia és a korróziós anatómia a modern képalkotó eljárásokkal kombinálva hatalmas lendületet adhat az orvosi diagnosztikus módszerek továbbfejlesztésének. A noninvasív, morfológiai információt nyújtó képalkotó eljárások (MRI, fMRI, PET) mellett a XXI. század elejére megjelent az *in vivo* MRS- (magnetic resonance spectroscopy) technika is, amellyel az egységes leképezési metodikai arzenál a molekuláris-szubmolekuláris információ szintjéig kiterjeszhető („a molekulától

az emberig”). A módszerek az alapkutatótól az alkalmazott biomedicinális kutatásokig felhasználhatóak.

Törekvéseinket indokolja az egyre kisebb dimenziókban végzett, ugyanakkor egyre nagyobb feloldású leképezés iránti igény. A molekulák, a sejtalkotók, a szerveken belüli erek vagy éppen kóros elváltozások elhelyezkedése közvetlenül érinti a diagnosztika pontosságát, így a terápia sikerességét is. A pontos diagnózis gazdasági jelentősége felbecsülhetetlen, mivel a célzott beavatkozás találati biztonsága sokkal nagyobb, a feleslegesen végzett beavatkozások elkerülhetők, ezzel az ápolási napok csökkenthetők. A molekuláris szintű leképezéssel és elemzéssel pedig olyan betegségek patomechanizmusa deríthető ki, amelyek gyógyítása ma még nem lehetséges.

Az orvosi tevékenység alapjait meghatározó kódexekből, törvényekből és irányelvekből ma már hiányzik a legmagasabb szintű diagnosztikus és terápiás eljárásokra való jogosultság. A szakmailag megoldható, de anyagilag már nem finanszírozható eljárások közötti olló egyre szélesebbre nyílik. A ma orvosa ennek tudatában soha nem látott dilemma előtt áll, ami sok esetben morális és

lelkiismereti kérdéseket is felvet. Amikor a képalkotó diagnosztikai módszerek konkrét és gyors segítséget hoznak elérhető közelségbe, az orvosegyetemi diagnosztikai és terápiás fegyvertárból nem hiányozhatnak ezek a technikák. Az alábbiakban ezen egységes szemléletű leképezési módszeregyüttes eredményeiről számolunk be.

Molekuláris és szubmolekuláris szint: metabonomika

A noninvazív, mágneses magrezonancián alapuló *in vivo* diagnosztikai eljárások (MRI, fMRI, MRS) azonos jelenségeken alapuló rokon technikája, az *in vitro* és *ex vivo* alkalmazású NMR-spektroszkópia rendkívül értékes információt nyújt az emberi szervezetben lezajló biokémiai és patobiokémiai folyamatokról és a szervezetbe juttatott molekulákról (például gyógyszerekről) a metabonomika és tárdiszciplinái segítségével (Orgován – Noszál, 2012). A metabonomika olyan kutatási terület családjának a tagja, amely a biológiai folyamatokban (például vizelet, nyál, magzatvíz) és szövetekben található, jellemzően kis molekulású anyagcseretermékek (metabolitok) összetételét és koncentrációját, valamint a koncentrációk változását vizsgálja. Megállapítja ezek törvényszerűségeit, és ezzel új diagnosztikai módszert ad a tudomány kezébe, melyről betegségek korai felismerése várható. A szakterület fontosságát jelzi, hogy a Semmelweis Budapest Awardot a díj odaítélésének első és második évében, 2010-ben és 2011-ben egyaránt a mágneses magrezonancia művelésében kiemelkedő eredményt elért szakemberek kapták (2010: Jeremy K. Nicholson; 2011: Sir George Radda).

Egyetemünkön a szorosan vett metabonomikai kutatások mellett sokoldalú vizsgálatok folynak bio- és gyógyszermolekulák fizikai-

kémiai paramétereinek (csoportspecifikus bázicitás, membránpenetrációt befolyásoló lipofilitás) meghatározására (vinka alkaloidok enantiomerjeinek elválasztása, ciklodextrin zárványkomplexbé foglalása és analitikai, szerkezeti jellemzése, vízoldható morfin-szulfát észterek szintézise). Jelentős eredmény az erősen lúgos közegben is torzítatlan és pontos pH-meghatározást eredményező NMR-pH-módszer kidolgozása, amely lehetővé tette biológiai és gyógyászati alpmolekulák (arginin, citrullin, sztreptomycin) savbázis tulajdonságainak jellemzését. Több fontos vegyület példáján bevezettük és meghatároztuk a mikroszkopikus (prononálsági állapotában is definiált) megoszlási hányadost. Feltártuk a világ egyik legnagyobb forgalmú hatóanyagának, a H₂-receptor antagonistá famotozidinek NMR asszignációit, és javaslatot tettünk nagyobb biohasznosíthatóságú termék formulálására. Kidolgoztuk a szitagiptin ciklodextrin komplexképzésének optimált receptjét, és megmutattuk a kapcsolódás atomi szintű szerkezetét. Meghatároztuk a tiroxinak és származékainak részecskespecifikus savbázis tulajdonságait, melyek értelmezhetővé teszik a tiroid hormonok bioszintézisében tapasztalt koncentrációviszonyokat.

Szubcelluláris szint: szignál-utak

A klasszikus morfológiai módszerek modern alkalmazásokkal való kiegészítése a sejtalkotók és a sejtkomponensek eloszlását követhetővé teszi a fejlődés és a kóros átalakulások során. A hashártya mezotél sejteji gyulladás hatására hám/kötőszöveti transzifferenciációra képesek. Az átalakulás markere a hámspecifikus citokeratin és a kötőszövet-specifikus vimentin expressziójának változása. A gyulladás során a citokeratin expressziója jelentősen lecsökken, a vimentin expressziója megnő.

Mezotelin és makrofág markerek alkalmazásával, kettős jelöléses immuncitokémiával igazoltuk, hogy gyulladás hatására a hashártya mezotél sejteji leválnak a hashártya felületéről, és makrofág sejtekké alakulnak.

Az átalakulásban fontos szerepet játszik a TGFβ növekedési faktor jelátviteli út vonal és receptorának internalizációja. A klatrinburkos vezikulák által történő internalizáció jelátvitelt indukál, míg a kaveolák közreműködésével internalizált receptor degradálódik, ami a jelátvitel *lecsengéséhez* vezet. Fény- és elektronmikroszkópos vizsgálataink azt mutatják, hogy a gyulladás fennállásának idejével arányosan megnő a kaveolin-1 mennyisége. A hám/mezenhima átalakulás során a kaveolák internalizálódnak, és fontos szerepet játszanak a jelátvitel szabályozásában. Korai endoszóma markerekkel, kaveolin-1 ellenanyaggal, TGFβ receptor elleni ellenanyaggal vizsgáljuk, hogy a gyulladás indukálta átalakulás során milyen sejtalkotók közreműködésével internalizálódik a receptor.

Celluláris szint: retinális csapok differenciálódása

Az elmúlt években több, a retinális sejtek differenciációjára, túlélésére ható faktort azonosítottunk, és leírtuk szubcelluláris lokalizációjukat (Berta et al., 2011). A vizsgálatokat *in vivo* és *in vitro* (újszülött, illetve felnőtt korban kiültetett organotipikus retinatenyészet) retinakon végeztük. Tenyésztő médiumunkban a fotoreceptorok differenciálódása szérumentes környezetben is végbemegy, így a sejtek fejlődését, a világon először, definitív médiumban is vizsgálhatjuk. Az emlősretina fejlődésének központi kérdése a zöld hullámhosszra érzékeny csapok differenciálódása. A transzifferenciációs elmélet szerint az egyedfejlődés során a zöld csapokban először két

látópigment termelődik, amit egy átmeneti koexpressziós fázis után a zöld pigment termelése vált fel. A tiroxin mint szabályozó faktor hiányában a zöld fotopigment termelése elmarad.

Kísérleteink szerint a tiroxin és más szolubilis faktorok is hatással vannak a csapokra jellemző látópigment expressziójának szabályozására. Felmerül a neurotrofinok szerepe is, mert ezek tirozin-kináz típusú receptorának expressziója felnőtt patkányban kizárólag a zöld csapokban figyelhető meg. A receptor a fejlődő csapokban a zöld pigment termelésének beindulásával közel egy időben jelenik meg. Egyelőre nem ismert, hogy a receptor megjelenése oka vagy következménye-e a zöld opsin termelésének. Újszülött patkányretina organotipikus tenyésztését végeztük szelektív neurotrofin antagonisták jelenlétében. Kísérletünkben a fejletlen patkányretinát neurotrofin antitestekkel kezelve az endogén neurotrofin termelés gátlása mellett követtük nyomon a fotoreceptorok fejlődését. A gátló kezelés számos elváltozást idézett elő (például a retina belső rétegeinek elvékonyodása, amakrin és ganglion sejtek számbeli csökkenése). A zöld csapok mind a kezelt, mind a kontrolltenyészetekben kifejlődtek, számuk a gátló kezelés hatására sem változott.

Szövetépítés és sejttranszplantáció. Albuminnal bevont fonál összejtbeültetéshez

Sejtterápiás módszerek (például összejtbeültetés) ígéretesek lehetnek látás szöveti sérülések kezelésében (Weszl et al., 2012). Olyan hordozófelület kifejlesztését tűztük ki célul, amely közvetlenül a sérülés helyére képes bejuttatni a sejteket. Feltételezésünk szerint egy összejtkezeléssel borított fonál alkalmas lehet sejttranszplantációs célokra, ugyanis így a sejtek a sérülés közvetlen helyén maradhatnak, elősegítve a

regenerációs folyamatokat. Kísérleteink során kizárólag sodrott fonalakat használtunk, változatos és biokompatibilis felületet biztosítva a sejtmegtapadáshoz. A sejtek előszerezéssel tapadtak meg a filamentszálak között, ami hatékony védelmet is nyújthat a különböző mechanikai behatások ellen. A fehérjével bevont fonál hatékonyabb tapadási felületet tud biztosítani a sejteknek, így azok nemcsak kitapadni, hanem osztódni is képesek. A sejtek 24, ill. 48 órás kitapadási fázist követően megmaradtak a fonalak felületén. A legnagyobb sejtmegtapadást az albuminnal biofilizált fonalak mutatták.

A fonalat körülvevő izomterületen konfokális mikroszkóppal kimutattuk a sejteket két nappal a bevarrás után. A műtétet követő ötödik héten a sejtek migrációja folytatódott, mélyebb szöveti területekre jutottak, és elkezdődött a fonál felszívódása. Kezeletlen fonalak esetében a fehérjebevonat, valamint a 48 órás inkubáció hatástalannak bizonyult. A fonalak felszívódásának mértékét a keresztmetszeti átmérő nagyságával és a fonalak rostszámaival hasonlítottuk össze. Megállapítottuk, hogy az áztatott fonalak háromhetes posztoperatív szakot követően lényeges különbséget nem mutattak. Öt hetes posztoperatív szakasz után a 168 óráig áztatott fonalak szignifikánsan kisebb átmérőt és alacsonyabb rostszámot mutattak, amely tendencia tovább fokozódott héthetes állapotokban.

Sikerült létrehozni egy olyan hordozófelületet, ahol összegek képesek megtapadni, életben maradni és szaporodni. Az általunk fejlesztett sejt fonál mechanikai sérülés nélkül képes a sejteket a szövetbe juttatni. A sejtek a fonál felszínéről leválva a sértett szövetbe vándorolnak, és jelenlétükkel elősegítik a regeneratív felépülést. A fonál rövid ideig tartó előkezelése nem változtat az eredeti

szakítószilárdságán, illetve felszívódásán. Az összeget tartalmazó sebési fonál tehát hasznos sejterápiás módszer lehet a sebészeti gyakorlatban.

Nanorészecskéktől a szervekig: teragnosztika

A klinikai képalkotó diagnosztika funkcionális és morfológiai képalkotást különböztet meg. Amíg a morfológiai képalkotás az anatómiai viszonyok minél pontosabb megállapítására való, addig a funkcionális képalkotás célja a lokális élettani, biokémiai és biofizikai állapotok és folyamatok minél pontosabban számszerűsített mérése és vizuális megjelenítése. Az utóbbi évek különösen ígéretes fejlesztései közé tartoznak a nanorészecske-alapú diagnosztikumok. Mivel ezek a részecskék többnyire radioaktív izotópokat hordoznak, nem csupán diagnosztikára, hanem terápiára is alkalmasak lehetnek. A két célt egyszerre megvalósító eljárásokat teragnosztikai módszereknek hívjuk.

Az 1. ábrán látható felvétel NanoSPECT/CT segítségével készült. A bal oldali intenzitáskálával a CT-képet, a jobb oldalival a SPECT-képet jelenítettük meg egymással átfedésben.

A nanorészecskék jelentősen szélesítették a klinikai képalkotás távlatait. Amellett, hogy teragnosztikumként használhatóak a klinikumban, egyszerre több diagnosztikai eljárással is detektálhatóak (multimodális nanorészecskék). Olyan technológiák állnak rendelkezésünkre, amelyek segítségével, egyrészt, a fejlesztett nanorészecskék egyedi részecskék formájában közvetlenül is megtekinthetők és vizsgálhatók, másrészt élő szervezetbe juttatva a szervezeten belüli eloszlásuk mérhető, sorsuk időben követhető.

Kutatásaink olyan nanorészecske kifejlesztését célozták meg, amely diagnosztikai és/vagy terápiás céllal alkalmazható, és lehetőleg

minden tomográfias képalkotó modalitás számára jól detektálható. Alapja a berlini kék (hexaciano-ferrát) festék, mert krisztályszerkezetének köszönhetően különböző nehézfém-



1. ábra • ^{201}Tl -gyel jelzett berlini kék nanorészecske biodisztribúciója egerben, a beadást követően öt órával

ionok kelálására képes. A berlini kék különböző fémekkel (pl. Cr, Co, Eu, Tl, In) alkotott analógiát vizsgáltuk. Magas paramágneses tartalmának köszönhetően MRI-kontrasztanyagként is alkalmasnak mutatkozott, és fémtartalma miatt röntgennel is érzékelhető. A berlini kék kristály nehézfémeket keláló hatását kihasználva a nanorészecskéket radioaktív izotóppal jelöltük meg. A jelölt részecskéket kísérleti eger szervezetébe intravénásan fecskendezve NanoSPECT/CT+ segítségével az érrendszer, a vese és a máj is kirajzolódott.

A biodisztribúciót jelenlegi ismereteink szerint a nanorészecske mérete és felszíne határozza meg. A nanorészecske geometriai paramétereit atomerő-mikroszkóppal nanométeres pontossággal fel tudtuk térképezni. Sikeresen állítottunk elő 20–200 nm tartományban kontrollált átmérőjű nanorészecskéket, amelyek különböző felszíni burkolattal rendelkeznek. A felületi kémiai tulajdonságok változtatásával a célszerveket és a funkcionalitást tudjuk finomra hangolni.

Reninszekréció vizsgálata multifoton mikroszkóppal a vese körfolyamataiban

Klinikánkon elsőként írtuk le az akut és krónikus reninválaszt. A juxtaglomeruláris apparatus (JGA) mellett a gyűjtőcsatornában is sikerült kimutatni a renin termelődését és szekrécióját. Szisztémás hatások, így a vazokonstriktort eredményező JGA reninaktiváció csupán hímekben tapasztalható. Ezzel párhuzamosan változik a renin gyűjtőcsatornában történő krónikus hatásokért felelős termelődése is, amely szintén kifejezettebb hímekben (Prókai et al., 2011).

A vese legtöbb fiziológiai funkcióját (végtérmekek kiürítése, a testfolyadék, az elektrolit-homeosztázis és a vérnyomás fenntartása) komplex kölcsönhatások vezérlik. E regulá-

cióban számos sejttípus és struktúra vesz részt, melyeket hagyományos technikákkal nehéz vizsgálni. A multifoton fluoreszcens mikroszkópia alkalmas élő szövetek és szervek mély optikai felszeletelésére. Előnye minimális károsító hatása, továbbá a vese dinamikus szabályozó funkcióinak valós időben, noninvaszív módon és szubmikronos felbontásban történő megjelenítése. Az idegtudományi alapú kutatások területén elterjedt metodikát Európában az elsők között alkalmazzuk a vese kórfolyamatainak tanulmányozására. A végállapotú vesebetegség végző terápiás megoldása a transzplantáció. A transzplantáció során fellépő iszkémia/reperfúziós (I/R) károsodás a krónikus allograft nefropátia egyik legjelentősebb rizikófaktora. A folyamat számos tényezője ismert, de a kezelés még nem megoldott az I/R vesekárosodás tekintetében.

A befogadó szervezet immunreakcióját a szervátültetett betegekben immunszuppresszív gyógyszerekkel védjük ki, amelyek toxikusak is lehetnek. Igazoltuk, hogy a renin szekréciója az iszkémiát (oxigénhiányos állapotot) követő reperfúzió után néhány órával csökken, majd 24 és 48 óra múlva szignifikánsan emelkedik. Ezt a vese keringésében kimutatható vazokonstriktió kíséri. Kimutattuk, hogy a folyamat hím állatokban kifejezettebb. A renin szekréciója nemcsak a JGA-ban figyelhető meg, hanem a gyűjtőcsatorna principális sejteiben is, amelyek a renin krónikus hatásaiért felelősek (például vesefibrózis). Igazoltuk, hogy a betegellátás során, más területen biztonságosan alkalmazott szelektív szerotonin reuptake gátló fluvoxamin képes a reninszekréció és a vazokonstriktió csökkentésére. Immunszuppresszív szerek a JGA-ban és a gyűjtőcsatorna principális sejteiben is növelték a renin szekrécióját és a renint termelő sejtek arányát.

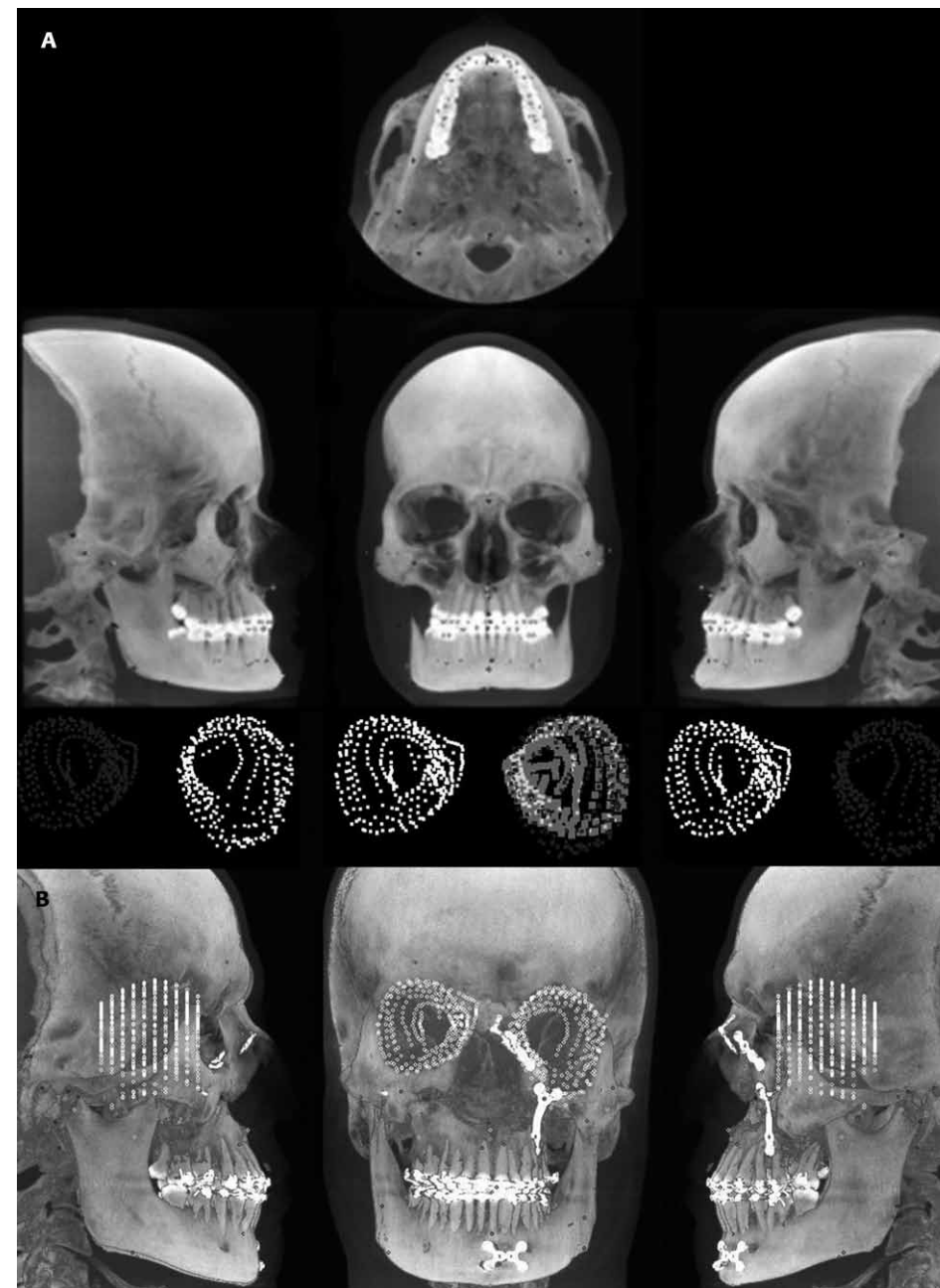
Állcsont-rekonstrukció 3D-diagnosztika segítségével

A 3D diagnosztikai módszerek döntő szerepet kapnak a fogászati és szeptális eredetű arcállcsont rendellenességek diagnosztikájában és kezelésében, az arc-rehabilitáció mind tökéletesebb funkcionális és esztétikai terápiájában. Kutatásaink célja a hagyományos 2D-röntgen, illetve CT-felvételek lehetőségein túlmutató 3D Cone Beam CT- (CBCT) alapú, új diagnosztikai eljárás fejlesztése, amely bonyolult klinikai eseteknél segít az arc-állcsontsebészeti kezelések pontosabb tervezésében.

A 3D CBCT-vizsgálatokon alapuló módszer fő nehézségei technikai jellegűek (például a páciens fejének standardizált fixálása, az összehasonlítható referenciapontok megadása). A tradicionális CT mint képalkotó eljárás megfelelő lenne összehasonlítható vizsgálatokra, de a magas sugárdózis, a költségek és az alacsony felbontás miatt nem terjedt el. A 3D-rekonstrukción alapuló tervezésben a CBCT bevezetése hozott áttörést, amelyet a fogászati implantációhoz fejlesztettek ki.

Munkánkban olyan anatómiai pontokat kerestünk, melyek helyettesíthetők a konvencionálisan használt viszonyítási pontokat, és amelyek meghatározzák a koponya orthodontiai diagnózis során alkalmazott síkjait. A kefalometriai analízis és a koponyarekonstrukciós modellek készítésekor traumatológiai esetekben a konvencionális síkokat meghatározó pontok gyakran sérültek, deformálódtak vagy hiányoznak. A CBCT-adatállomány segítségével jóval több anatómiai pont határozható meg.

A CBCT-eredmények feldolgozásával matematikailag konvertált térfogatképeket alkottunk az anatómiai pontok esetleges hiányának és a hagyományos tervezési módsze-



2. ábra • (a) Kétoldali, identikus képletek vizualizációja rtg-szerű megjelenítésben. A jelenleg alkalmazott ún. 3D-kefalometriák kivétel nélkül a múlt század második felében született 2D-kefalometriák adaptálásai, melyeknek közös vonása, hogy a szemüreg analízise és a koponyához való viszonyának értékelése hiányzik. Munkánk során ezt a hiányt kívántuk orvosolni (b).

rek hibáinak kiküszöbölésére. Eredményeink alapján az analízis formák traumás esetekben is alkalmasak orthodonciai tervezésre és a síkok meghatározására. Az aszimmetrikus arcsérülések diagnosztizálása céljából több különböző referenciapontot tűzünk ki a középvonal meghatározására. Az aszimmetrikus arc csontátfedéseinek elkerülésére röntgenszelethez hasonló képet hoztunk létre (2. *ábra*). Az ép oldali régiókat szimmetrikus terv készítéséhez rávetíthetjük az ellenoldali képekre. A fejlesztés alatt álló „SZEM” modul a csontos szemüreg rekonstrukció tökéletesítését célozza (Lukáts et al. 2011).

Mágneses rezonancia (MR) képalakítás az orvostudomány szolgálatában

Egyetemünkön diffúziós és funkcionális MR-képalakítással, valamint MR-alapú térfogatoméréssel (volumetria) végzünk klinikai- és alapkutatói célú kutatásokat. A diffúziós képalakítás terén csecsemőkori vizsgálatok képminőség-javítását vizsgálva igazoltuk, hogy a szív ciklushoz illesztett adatrögzítés kis extra vizsgálati idő-ráfordítással jelentős képminőség-javulást eredményez. Az érett újszülöttek leggyakoribb és legsúlyosabb betegsége az aszfixszia, azaz a hipoksziás-iszkémiás encefalopátia (HIE). A betegség diagnosztikája a mai napig nem megoldott, az elmúlt években bevezetett hipotermiás terápia (az agy vagy az egész test hűtése 33–34 C°-ra) mindössze hatórás terápiás ablakot enged csak meg.

A gyors és megbízható diagnosztika érdekében olyan módszert dolgoztunk ki, melyben az első napon, a harmadik életnapon, illetve az első hét végén végeztünk diffúzió súlyozott méréseket citotoxikus ödéma (CO) kimutatására. Korábban csak egyszer, általában túl későn vizsgáltak egyetlen „pillanatfelvételt”, amely nem volt megbízható. A vizsgálá-

latunkba bevont újszülötteket hosszan követjük, és tizennyolc hónapos korukban állapotukat neurológiailag kontrolláltuk. Azoknál a gyerekeknél, akiknél találtunk CO-t, 92%-ban volt valamilyen maradványtünet (cerebrális parézis, jelentős szomatomentális retardáció), míg ödéma nélkül csak 8%-ban volt maradványtünet. Módszerünk alkalmas az akut és a szubakut HIE differenciálására.

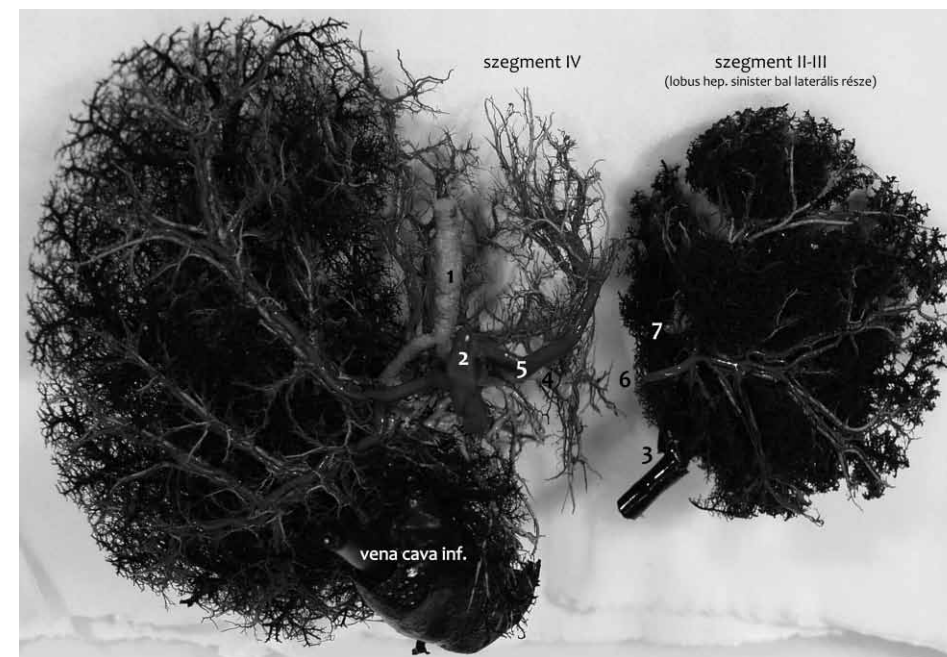
Az onkológiában a konvencionális képalakítás (UH, CT, MRI) csak morfológiai vizsgálatra alkalmas, de nem ítéhető meg az, hogy az adott elváltozás tumoros vagy gyulladásos eredetű-e, illetve, hogy a terápiát milyen funkcionális változás követi. A PET/CT-vizsgálatnak is vannak korlátai, ráadásul sugárterheléssel jár és rendkívül drága. Ezért limfómás, illetve szolid tumoros gyermekek-nél egy új, funkcionális MR-vizsgálatot dolgoztunk ki, amely alkalmas a diagnózis felállítására, a terápiás válasz megítélésére, a reziduális tumorok és recidívák felismerésére. Sugárterhelés nélkül egyszerre kaphatunk információt a morfológiáról és a viabilitásról. A funkcionális MR-vizsgálat szenzitivitása, specifitása, pozitív és negatív prediktív értéke egyaránt kedvező. Az elokvens területek térképezésében a több paradigmával végzett vizsgálatok pontosabb képet adnak az idegsebészeti tervezéshez (Kozák et al., 2011). A szedációban végzett passzív mozgató feladatok kisgyermekkorban sikeresen kiváltják az aktív mozgató feladatokat a szenzomotoros rendszer térképezése során.

Fizikai szeletanatómia, komplex érrendszeri és radiológiai megjelenítés

A modern orvosképzésben a radiológiai diagnosztikai eszköztár gyors fejlődéséhez sürgető kiegészíteni a hagyományos 3D-anatómia-oktatást a 2D látásmódú képzéssel (Törő et

al., 2011). Fizikai és virtuális szeletanatómiai sorozatokon végzett tréning képessé teszi a hallgatókat a patológias folyamatok képalakító diagnosztikai értelmezésére. A 2 cm vastag plasztinált testszeletek átmenetet képeznek a 3D és a 2D valósága között. A testszeletek és a CT- vagy MR-felvételek együttes bemutatása nagyban elősegíti az oktatás hatékonyságát. Egyetemünkön elindult az *Orvosi képalakító eljárások* tantárgy oktatása, amelynek során felhasználtuk az új szemléltető anyagot. Több kadáver testszeleteit plasztináltuk, vagy plexilemezek között cseppmentesen és formálindvesen rögzítettük. Az általunk kidolgozott szeletanatómiai tréning már a sebészeti klinikai továbbképzési tervekben is szerepel.

A máj ér- és epeútszerkezeti variációs anatómiájának 3D tanulmányozására saját fejlesztésű korróziós eljárással számos preparátum készült. A variációk elemzésén alapuló klasszifikáció jelentős segítség a parciális májtranszplantáció kivitelezéséhez (3. *ábra*). A szegment-májátültetés tervezésekor a preparátumok és az öntvényekről készített CT-felvételek összehasonlítása lehetőséget teremt az optimális rezekciós felszín meghatározására. A humán máj extra- és intrahepatikus artériás érváriációinak tanulmányozása a hazai populáció jellemzését segíti elő. A biztonságos májrezekciók, -átültetések és egyéb hasi sebészeti beavatkozások kivitelezésének feltétele az extra- és intrahepatikus éranatómia alapos ismerete.



3. *ábra* • Parciális májtranszplantáció műtéti szimulációjához bal-lateralis-májsplit végrehajtása gyantátöltött preparátumon. Korróziós készítmény. 1 – epeútszerkezeti; 2 – a. hepatica; 3 – v. hepatica sinistra; 4 – ductus hepaticus sinister; 5 – a. hepatica sinistra; 6 – a II-es és III-as májszegmentek közös artériája; 7 – a II-es és III-as májszegmentek közös ductus hepaticusa.

A nagyszámú májartéria-szerkezeti korrosziós preparátum 3D öntvényeit a nemzetközileg használt Michels-féle felosztás szerint osztályoztuk. A korrosziós technika igen érzékeny az extrahepatikus artériás variációk detektálásában (1 mm alatti erek is vizsgálhatók). Magyarországon elsőként vizsgáljuk az extrahepatikus artériák anatómiai variációit humán szervkomplexek korrosziós preparátumain. Sorozatunkban az extrahepatikus érvariációk incidenciája 30%, és jelentős eltérés mutatkozik a nemzetközi statisztikákhoz viszonyítva.

Az egész emberi test vizsgálata (SPECT-CT)

A SPECT-CT a nukleáris medicina korszerű vizsgáló módszere, amely nyílt radioaktív izotópok orvosi alkalmazásán alapszik. A radioizotópokat különböző funkciókra specifikus vegyületek megjelölésére használjuk. A megjelölt vegyületek a betegbe juttatva szerv- és funkcióspecifikusan kötődnek a kóros képletekhez. A molekulák sorsa a sugárzás révén noninvazív módon követhető. Így kóros képletek azonosíthatók és szervfunkciók vizsgálhatók kvantitatív módon. A diagnosztikai radiológusok sugárzásának detektálására a SPECT (*Single Photon Emission Computer Tomography*) és a PET (*Positron Emission Tomography*) használatos. A hibrid berendezésekkel (SPECT/PET és CT) a funkció és a morfológia egyszerre vizsgálható. Vizsgálatainkat az AnyScan™ SC SPECT-CT- (Mediso Kft.) berendezéssel végeztük.

Kutató-fejlesztő munkánk a szervspecifikus leképező rendszerek képminőségének (kontraszt, jel/zaj-viszony, érzékenység, felbontóképesség) javítására irányult. Matematikai fantommal képfeldolgozási szimulációkat végeztünk a parciális volumeneffektus korrekciója céljából. Képjavitó módszereket építettünk be a képrekonstrukciós algoritmusokba.

Fizikai fantomvizsgálatokkal modelleztük a SPECT-rendszer pont-válasz függvényét. A CT-adatok felhasználásával új 3D rekonstrukciós szoftvert fejlesztettünk ki a sugárgyengülés korrekciójára. Megoldottuk, hogy a képszűrő képkiértékelő rendszerébe folyamatosan változó és alakuló 3D algoritmusunk beágyazódhasson, lehetővé téve a rekonstrukciós eljárások klinikai szoftverkörnyezetben történő vizsgálatát. Új rekonstrukciós algoritmusokat fejlesztettünk ki, és azokat beépítettük a klinikai képfeldolgozó rendszerekbe, jelentősen gyorsítva ezzel az eljárás sebességét.

A különböző funkciók klinikai vizsgálatára dedikált (szervspecifikus) adatfelvételi és adatfeldolgozási szoftvercsomagokat fejlesztettünk ki, és az adatgyűjtési paraméterek optimalizálásával felhasználóbarát kiértékelési módszereket hoztunk létre, majd elvégeztük klinikai validálásukat is. Több témában (szomatostatin receptor szcintigráfia, adrenerg receptor szcintigráfia, mellékpajzsmirigy-, szívizom-, csont-, vesezcintigráfia) elemeztük a klinikai hatékonyságot (Szilvási et al., 2011). Kiemelt témánk a „funkcionáló szervvolumen meghatározása”. A szervfunkció pontos, kvantitatív mérését a SPECT-CT-technológia pontosabbá teszi, mert a szimultán CT-mérés használatával kiküszöbölhető a radioizotópos mérés eredményét meghamisító szöveti sugárgyengítő hatás. A funkcionáló szervvolumen vizsgálatát elsőként a májrezekció után megmaradó májparenchima-volumen preoperatív becslésére alkalmaztuk. A veseműködés-volumen kvantitatív elemzése a vesetranszplantáció mellett várhatóan a gyermekkori vesebetegségek vizsgálatában is hasznos lesz.

Zárszó

Az ismertetett kutatások hosszú távú célja a magas szintű kutatói bázisra alapozott fejlesztés,

melynek során a kutatói utánpótlás jelentős támogatást kap. Ez egyrészt egyetemi, intézményi szintű, hazai és európai uniós versenyképesség-növekedést biztosít, másrészt a hangsúlyozottan egészségorientált (kiemelten prevenciótámogató), betegorientált kutatási eredmények (fejlettebb diagnosztika, új terápiás eljárások) gyors klinikai gyakorlati konvertálása a projekt végső célja. A célok között szerepel a kutatás egészségmegőrzésre fókuszált, fokozottan klinikai orientált szemléletének a graduális oktatásban való megjelenítése (oktatói-hallgatói szemléletváltás).

A hálózat szintjén az együttműködések révén jelentősen nő a technológiai, módszertan-

ni tudás szintje, az együttműködő kutatók (oktató-kutatók), hallgatók (PhD-hallgatók, tudományos diákköri tagok) szellemi potenciálja a modern nemzetközi kutatási színvonalnak megfelelően nő. Hatékony, magas szintű kutatómunkát garantáltan biztosító feltételekkel igyekszünk tehetséges fiatal kutatóinkat motiválni a kutatásban való aktív részvételre, vonzóvá téve így a hazai kutatói karriert.

Kulcsszavak: mágneses rezonancia spektroszkópia, teragnosztika, nukleáris medicina, nanotechnológia, többfoton mikroszkópia, metabonómika, transzifferenciáció, transzplantáció, immunitokémia, organotipikus szövettenyésztés

IRODALOM

- Berta Á. – Boesze-Battaglia, K. – Magyar A. – Szél Á. – Kiss A. L. (2011): Localization of Caveolin-1 and c-src in Mature and Differentiating Photoreceptors: Raft Proteins Co-distribute with Rhodopsin during Development. *Journal of Molecular Histology*. 42, 523–533.
- Karsai A. – Kellermayer M. S. – Harris, S. P. (2011): Mechanical Unfolding of Cardiac Myosin Binding Protein-C by Atomic Force Microscopy. *Biophysical Journal*. 101, 1968–1977.
- Kozák L. R. – Szabó A. – Tóth V. – Borbély Cs. – Barsi P. – Rudas G. (2011): Functional MRI for Neurosurgical Planning: Retrospective Analysis of Our Task Panel with Respect to Language Dominance. *European Society of Neuroradiology Meeting*, Antwerp, Belgium. *Neuroradiology*. 53, Suppl 1, S53.
- Lukács O. – Bujtár P. – Sándor G. K. – Barabás J. (2012): Porous Hydroxyapatite and Aluminium-Oxide Ceramic Orbital Implant Evaluation Using CBCT Scanning: A Method for in Vivo Porous Structure Evaluation Monitoring. *International Journal of Biomaterials*. Article ID 764749, 9 pages, doi: 10.1155/2012/764749.
- Orgován G. – Noszál B. (2012): NMR Analysis and Microscopic Protonation Constants of Streptomycin.

- Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 59:78–82
- Prókai A. – Fekete A. – Bánki N. F. – Müller V. – Vér A. – Degrell P. – Rusai K. – Wagner L. – Vannay A. – Rosta M. – Heemann, U. – Langer R. M. – Tulasay T. – Reusz G. – Szabó A. J. (2011): Renoprotective Effect of Erythropoietin in Rats Subjected to Ischemia/Reperfusion Injury: Gender Differences. *Surgery*. 150, 1, 39–47.
- Szilvási I. – Varga Z. – Buga K. – Takács E. – Valent V. – Dabasi G. (2011): Comparative Diagnostic Value of Tc-99m and In-111 Labelled Somatostatin Analogues for Somatostatin Receptor Scintigraphy. *Preliminary Results*. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 38, Suppl 2, S381.
- Törő K. – Halász J. – Marcsa B. – Biczó D. – Nemeskéri Á. (2011): Cervical Pulmonary Herniation Due to Blunt Chest Trauma. *Legal Medicine*. 13, 301–303.
- Weszl M. – Skaliczki G. – Cselenyák A. – Kiss L. – Major T. – Schandl K. – Bognár E. – Stadler G. – Peterbauer A. – Csöngé L. – Lacza Zs. (2012): Freeze-dried Human Serum Albumin Improves the Adherence and Proliferation of Mesenchymal Stem Cells on Mineralized Human Bone Allografts. *Journal of Orthopaedic Research*. 30, 489–496.

A RENINSZEKRÉCIÓ VIZSGÁLATA MULTIFOTON-MIKROSZKÓPPAL A VESE AKUT ÉS KRÓNIKUS KÓRFOLYAMATAIBAN

Prókai Ágnes

klinikai orvos, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
prokaiagnes@yahoo.com

Himer Leonóra

posztdoktor, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
himemori@gmail.com

Berta Nóra

orvostanhallgató, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
bertanora88@gmail.com

Kosik Anna

orvostanhallgató, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
anna.kosik4@gmail.com

Vannay Ádám

kutatólabor-vezető, Semmelweis Egyetem
I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
vannay.adam@med.semmelweis-univ.hu

Kis-Petik Katalin

egyetemi tanársegéd, Semmelweis Egyetem
Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet
kispetik@gmail.com

Szabó J. Attila

egyetemi docens, kutatócsoport-vezető,
Semmelweis Egyetem I. számú Gyermekgyógyászati Klinika
szabo.attila@med.semmelweis-univ.hu

Bevezetés

A renin mint a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer (RAAS) sebességmeghatározója fontos szerepet játszik szervezetünk só- és vízháztartásának, valamint vérnyomásának szabályozásában. Ezen túl a renin a lokális RAAS részeként releváns lehet a gyulladásban, trófikus és profibrotikus hatásokban is. Ám a sejtek, melyek termelik, tárolják és felszabadítják a renint, jelenleg még nem teljesen körüljártak.

A vesetranszplantáció jelenleg a végállapotú veseelégtelenség egyetlen definitív terápiás megoldása. Az allograftvesztés okai sokat változtak a modern immunoszuppresszívumok bevezetése óta; az egyéves veseallograft-túlélés jelentősen javult a jobb rezsimek következtében, ellenben a krónikus allograft nefropátia (CAN) még mindig a veseallograftvesztés legfőbb okaként szerepel (Cecka – Terasaki, 1995). A CAN karakterizálható a vese intersticiuma, a glomerulusok és az erek progresszív szklerózi-

sával, ami végső soron fibriogenezishez és graftvesztéshez vezet (Liu *et al.*, JASN, 2010). Habár a CAN következtében kialakuló rejkciót tradicionálisan a kismértékű allojenikus szövetre adott válaszok ismétlődésének tartjuk, számos bizonyíték indikálja, hogy alloantigén független faktorok szintén hozzájárulhatnak a patogeneziséhez (Fellström – Larsson, 1993). Ezek magukban foglalnak számos determinánst, melyek között a calcineurin inhibitorok (CNI) nefrotoxikus hatása jelentős és egyben módosítható faktor.

A CAN kifejlődésében a CNI-nefrotoxicitás jelentős szerepet játszik, ennek ellenére a háttérben meghúzódó patomechanizmus még mindig nem teljes mértékben feltárt. Az akutan kialakuló nefropátia, úgy tűnik, az afferens arteriola vazokonstriktójából fakadó veseáramlás csökkenésének következményeként alakul ki. Másrészt, az intrarenális RAAS aktivációja, megnöveli az endothelin-1 felszabadulását valamint a NO és a NO szintetáz diszregulációját eredményezi. Ezen felül a transzformáló növekedési faktor beta-1 növekedése, a nagyobb számban előforduló apoptózis, a gyulladással mediátorok stimulációja, a megnövekedett veleszületett immunitás és az endoplazmatikus retikulum stresszállapotának szerepét feltételezték krónikus CNI-nefropátia patogenezisében (Bennett, 1996). Következésképpen tubuláris károsodásra, intersticiális fibrózisra és arteriopátiára jellemző hisztológiai kép fejlődik ki, amelyet a vese funkciójának csökkenése kísér.

A renin szerepe a CNI-nefropátia inicializálásában, később fenntartásában ezidáig nem állt a vizsgálatok középpontjában. Tudott azonban, hogy CNI-vel kezelt patkányok juxtaglomeruláris apparátusában

(JGA) hipertrófia jön létre (Ryffel *et al.*, 1994). Kimutatták továbbá, hogy a JGA-sejtek kifejezik azon calcineurin izoformákat, amelyek Cyclosporin A-val (CyA) történő gátlása szignifikánsan stimulálja tenyésztett granuláris sejtekből a renin felszabadulását (Madsen *et al.*, 2010). *In vivo* további megerősítést nyert ez a vizsgálati eredmény, amikor CyA-kezelt patkányok afferens arteriola reninjének recruitmentját tapasztalták, ami jelentős haemodinamikai változást okozott a vese mikrovaskulaturájában (Norling *et al.*, 1996). Hasonló megfigyeléseket írtak le Tacrolimus (Tac) kapcsolatban is, adminisztrációja nagyban megnövelte a plazma renin-aktivitást (Andoh *et al.*, 1997). Fontos azonban megjegyezni, hogy minden tanulmány csupán a JGA renintermelésre fókuszált; a RAAS más lokalizációit nem vette figyelembe. Függetlenül a renin eredetétől a triggerelt termelés és szekréció végső következménye a transzformáló növekedési faktor beta és a bazális fibroblaszt növekedési faktor által inicializált mátrixfehérjék akkumulációja (Rajnoch *et al.*, 2005).

Végül, de nem utolsósorban, bizonyítékok egész sora demonstrálta a RAAS regulációjában jelen lévő jelentős nemi különbséget; az androgének pozitívan modulálják ezt a rendszert; rövid távon direkt vazokonstriktós hatásuknál fogva, valamint az extracelluláris folyadékterefogat vesekontrolljának megváltoztatása által, míg hosszú távon az apoptózis, a gyulladás és a fibrózis által súlyosbítják a posztisztkémiai periódust (Komukai *et al.*, 2010). Nőstényekben az ösztrogén kompenzálja ezeket a hatásokat, habár nem a RAAS gátlása, hanem a potens vazodilatáns NO által (Komukai *et al.*, 2010). A renin szabályozásának ne-

mek közötti különbsége CNI-nefrototoxicitás esetén ez idáig nem került vizsgálatra.

Mindezek alapján célkitűzésünk a következő volt: megvizsgálni, vajon a CNI legalább részben a lokális RAAS inicializálásán keresztül fejti-e ki nefrotikus hatását, különös tekintettel az összekötő szegmensben vagy a gyűjtőcsatornában.

Módszerek

A CNI-nefropátia in vivo modellje • Minden erőfeszítést megtettünk, hogy az állatok diszkomfortját és fájdalmát minimalizáljuk. Az egerek standard körülmények között voltak tartva, hőmérséklet- kontrollált ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) szobákban, világos és sötét periódusok alternálásával kísérve. Az akut kísérletek általános anesztéziában történtek. Minden protokollt a Semmelweis Egyetem Etikai Bizottsága engedélyezett.

A kísérletek első szériájában kéthetes, hím C57 black 6 egerek ($n=15$) három csoportba lettek besorolva: kontrollállatok, egy nap kétszer $0,075 \text{ mg/kg/nap}$ Tac-cal kezelt és 2 mg/kg/nap CyA-val kezelt egerek. Háromhetes adminisztrációt követően az állatok képpalkotása történt, vagy további feldolgozás céljából harvestelésük.

Vesefunkciós paraméterek • Szérum és vizelet vesefunkciós paramétereket (vér urea nitrogén, kreatinin, nátrium, kálium, albumin) határozunk meg kereskedelmi forgalomban elérhető kitek segítségével.

Hisztológiai analízis • A paraffin vesemetszetek hematoxinin/eosin, perjódsav-Schiff- és Masson-reagenssel voltak megfestve. A mintákat kódoltuk, és fénymikroszkóppal 0-tól 4-ig terjedő skálán a tubuláris károsodást, a tubulo-intersticiális fibrózis mértékét és az intersticiális beszűrődést ítéltük meg semi-quantitatívan.

Multifoton excitációs mikroszkópia • A multifoton excitációs mikroszkópia egy *state of the art* fluoreszcens képpalkotó módszer, amely ideális a szövet mély optikai szelektálásához (Peti-Peterdi et al., 2009; Peti-Peterdi 2012). Képes ultraérzékeny, mennyiségi képpalkotás kivitelezésére, valamint a szervek funkciójának feltérképezésére egészségesben és betegben olyan idő- és térbeli felbontással, amelyre más képpalkotó eszközök nem nyújtanak lehetőséget. A sejtbeli változók vizualizálása, például a citoszolikus kalcium, pH, sejt-sejt kommunikáció és szignál propagáció, a JGA-ban történő intersticiális folyadékáramlás, a tubuloglomeruláris *feedback* valósidejű képpalkotása, továbbá a glomeruláris filtráció, permeabilitás, koncentráció, hígítás szépen vizualizálható. Mi több, e minimálisan invazív eszköz felhasználásával lehetséges *in vivo* a vesefunkciók mennyiségi meghatározása, magába foglalva az intrarenális RAAS aktivitását, a renin felszabadulásának mechanizmusát és a vazoreguláció kontrollját.

Az állatok altatása intraperitoneálisan Ketamine és Xylazine kombinációjával történt ($800 \mu\text{l/kg}$ és $200 \mu\text{l/kg}$), majd homotermikus műtéti asztalra helyeztük őket, és hőmérsékletüket egy elektromos melegítő padon 37°C körül tartottuk. Megfelelő anesztéziát követően az állatokat Betadinal fertőtlenítettük, majd nyakuknál és bal dorzális oldalukon leborotváltuk. Ezt követően mm-es bemetszés történt a nyaki régióban, hogy elérhetővé tegyük a tracheát és karotiszt. Miután óvatosan feltártuk a tracheát, majd kanüláltuk a karotiszt, biztosítva a stabil légzést, valamint a festék bejutásának útját is megoldottá tettük így. Ekkor a baloldali metszésen a vesét finoman kiemeltük és a mikroszkóp munkafe-

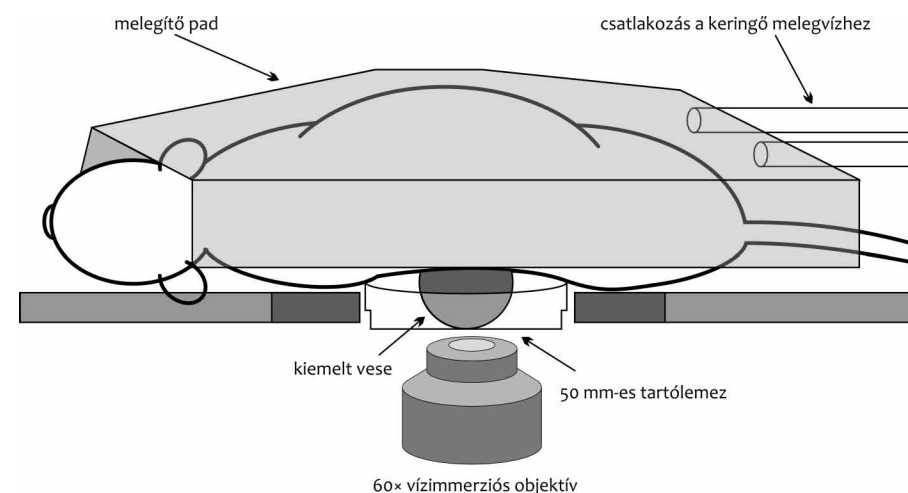
lületére, fedőlemezre helyeztük. A vesét folyamatosan $0,9\%$ -os sóoldatban áztattuk a képpalkotás során (1. ábra).

Ezt követően a Femto 2D invert magas szenzitivitású galvanoscanner-alapú multifoton mikroszkópprendszerrel (Femtonics Ltd., Bp.) képeket készítettünk. A kétfotonos excitációt az impulzusüzemű Mai Tai DeepSee titán-zafir lézer (Spectra-Physics Inc., Irvine, CA) biztosítja, a képek felvételéhez 820 nm és 720 nm -es hullámhosszú fényt használtunk. Az *in vivo* vesemérésekben az Olympus $60\times$ glycerin immerziós objektív (numerikus apertúra: 1,3) bizonyult legalkalmasabbnak. A fluoreszcens fotonokat nagy érzékenységgű fotoelektron-sokszorozók (PMT) detektálják epifluoreszcens elrendezésben két spektrális tartományban (zöld: $490\text{--}560 \text{ nm}$ és piros: $600\text{--}700 \text{ nm}$). A veseszövetben el tudtuk érni a $100 \mu\text{m}$ mikrométeres maximális mélységet.

A méréshez és az adatok feldolgozásához a Matlab-alapú MES-szoftvert (Femtonics Ltd.), a képfeldolgozáshoz az Image J szoftvert használtuk.

A fluoreszcens festékek befecskendezése a karotison keresztül történik egy bolus salsol kísérletében. Hetven kDa rodamin dextran (piros) szolgálja a vaszkulátúra, és quinacrin (zöld) a savas granulomok, így a renint tartalmazó granulomok megfestését is. A Hoechst hivatott a magok kiemelésére (kék).

FACS-analízis • Három hét elteltével az állatok harvestelése történt, veséiket kivettük és FACS™ Permeabilizing Solution 2 ($10\times$) (Perm2)-vel 10 percig, szobahőn (RT) permeabilizáltuk. A permeabilizálást követően a sejtek PBS-sel mosódtak, és renin, illetve AQP2-antitestekkel inkubálódtak. Ezt követően a sejtek Perm2-vel mosódtak, és a megfelelő másodlagos antitestek kerültek rájuk fél óráig, RT-n a sötétben. A negatív kontrollok csupán másodlagos antitesttel voltak inkubálva. Mindezek után a sejteket Perm2-vel mostuk át, lecentrifugáltuk őket ($800g/RT/perc$), majd ismét felvettük őket PBS-be. A citometriás analízis FACSaria citométerrel történt. A *forward* és a *side* mintának megfelelően identifikáltuk az ép sejt populációt.



1. ábra • Sematikus ábra a multifoton mikroszkópiának a vese kórállapotaiban való használatához

Tízezer sejtet gyűjtöttünk össze, és a belőlük származó adatok kerültek analízisre.

Statisztikai analízis • Az adatokat STATISTICA.6 szoftverrel analizáltuk. Az adatok átlag \pm SEM voltak ábrázolva. A normál eloszlást Kolmogorov–Smirnov-teszttel ellenőriztük. Az összehasonlításokat ANOVA használatával végeztük, és Fisher-féle poszt-hoc teszttel tettük. A p értéket akkor fogadtuk el szignifikánsnak, ha $<0,05$.

Eredmények

A savas granulomokat megfestő quinacrin kirajzolta a renin jelenlétét, egyrészt a JGA-ban (2/1 A ábra), másrészt a granuláris szerkezetet mutatva a gyűjtőcsatorna bazolaterális oldalán és némelyik sejt, feltételezhetően principális sejt citoszóljában és apikális felszínén is (2/1 B ábra). Összességében a renin, klasszikus szekréciós helyén, a JGA-n túl, jelentős mennyiségben termelődik és szekretálódik az összekötő és gyűjtőcsatornában is.

A multifoton technika beállítását és a renin vizualizálása lehetőségének bizonyítását követően kísérleti felállításunknak megfelelően három vizsgált csoportban vizualizáltuk a renin mennyiségét, termelődését, szekrécióját (2/2 ábra). A kontrollerek JGA-jában csupán néhány granuláris, renin szekretáló sejtet találtunk, és gyűjtőcsatornájukban alig, ha egyáltalán volt granuláció látható. Ezzel szemben a Tac-kezelt csoport megnövekedett számú granuláris sejtet mutatott, amik vizuálisan differenciálódtak renintermelő sejtekké, és ami vizsgálatunk szempontjából még fontosabb volt, hogy a gyűjtőcsatornában is fokozott granuláció volt megfigyelhető. A CyA-kezelt csoport hasonló képet mutatott, mindkét általunk vizsgált lokalizációban a kontrollerekhez képest szignifikánsan megnőtt a renin jelenléte.

Áramlási citometriával elkülönítettük a fentebb vizsgált képleteket, AQP2-t használtunk a principális sejtek kiszekreléséhez, ezzel el tudtuk választani ezt a sejtpopulációt a vesében található minden más sejtől. Ezt követően a két sejtpopuláción belüli renintermelő sejteket szeparáltuk. A 3/1 A ábra mutatja, hogy míg kontrollállatok principális sejtjeinek csupán 2%-a termelt és szekretált renint, addig ez háromhetes immunoszipresszáns kezelést követően már szignifikánsan, ennek a háromszorosára nőtt mindkét kezelt csoportban. A renintartalom hasonlóan alakult a JGA esetében is (3/1 B ábra).

A renin közvetlen hatásainak egyikeként multifoton technikánkkal képesek voltunk vizsgálni az érátmérők változását. A 3/2 ábra jól demonstrálja, miszerint a kontrollállatok megközelítőleg 7 μm -es átmérője közel 2 μm -t csökkent, vagyis a megnövekedett reninszekréció ilyen fokú kontrakciót hozott létre mindkét vizsgált csoportban.

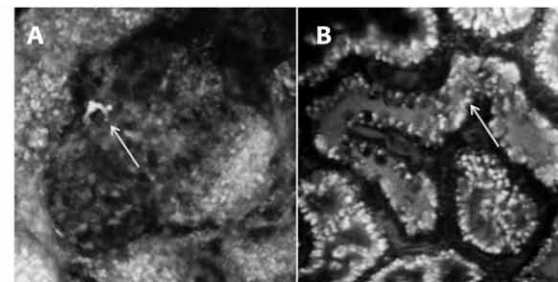
Ez az érkontrakció jelentős mértékű hipoxiát eredményezett, aminek a következménye lehet makroszkopikusan köteges megjelenésű elköötőszövetesedés inicializációja. A 3/2 ábra ezen változásokat mutatja, miszerint kontrollállatok veséjének Masson-festése nem mutatott fibrotikus elváltozást (3/2 A ábra), míg a két kezelt csoportban fellelhető volt a köteges, erek mellett futó kollagénrostok kék színben való festődése (3/2 B, C ábra).

Utolsó lépésként a vese funkcionális változását vizsgáltuk. A kontroll szérum kreatininszinthez képest mind a CyA-, mind a Tac-kezelt csoportban szignifikánsan megnőtt ezen vesefunkciós paraméter szintje (3/3 ábra).

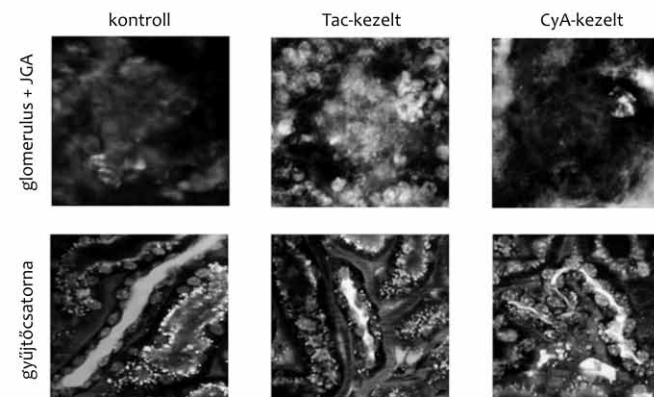
Megbeszélés

Mindezek alapján elmondhatjuk, hogy a kalcineurin inhibitorok károsító hatással bír-

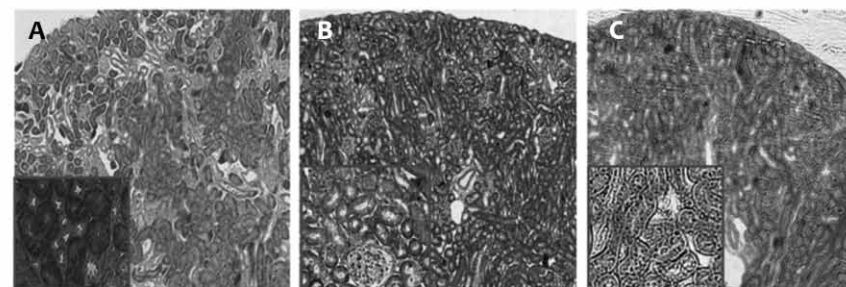
1.



2.



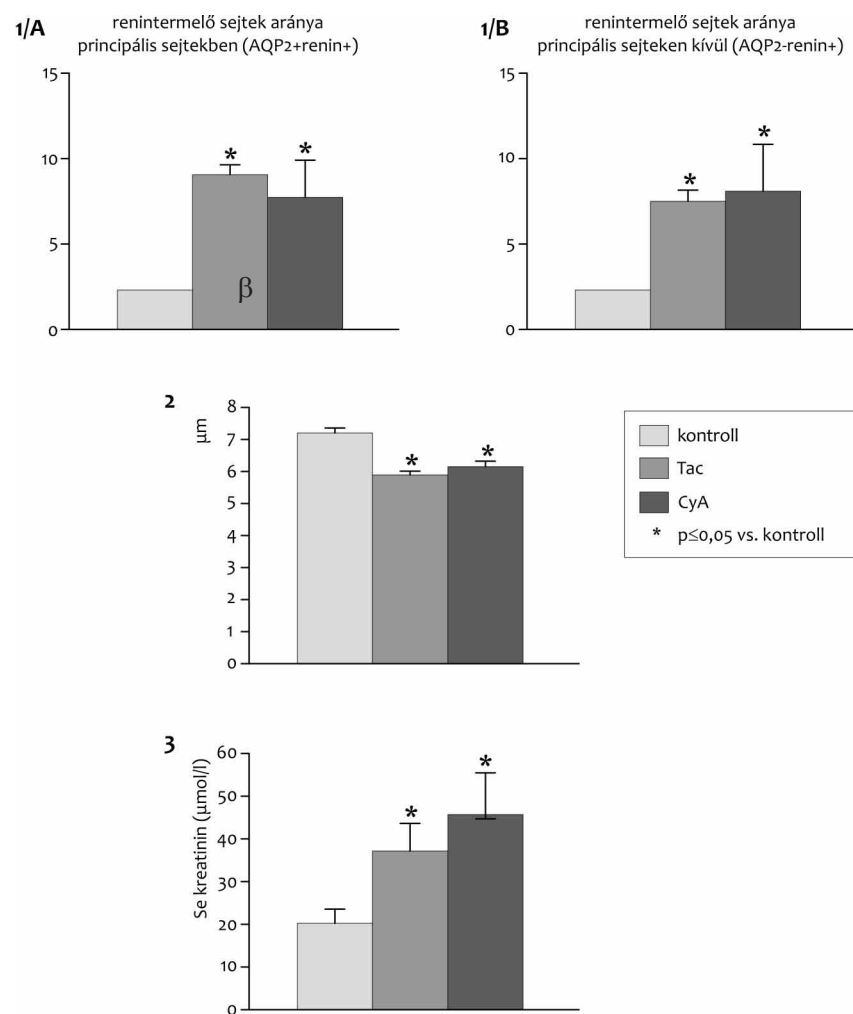
3.



2. ábra • 1.) A renin termelődésének és szekréciójának két ismert lokalizációjának multifoton mikroszkópiával való vizualizálása – A: juxtaglomeruláris apparátus (JGA) granuláris sejtjei (nyíl); B: gyűjtőcsatorna principális sejtjei.

2.) Multifoton mikroszkópiával a három vizsgált csoportban megjelenő renin. Kontrollállatok JGA- és gyűjtőcsatornájában granuláció alig figyelhető meg, ellenben a két kalcineurin inhibitor (CNI) kezelt csoportban mind a JGA-ban, mind a gyűjtőcsatornában szignifikánsan nagyobb mennyiségben termelődött a renin, és került szekrécióra.

3.) Masson-festést elvégezve kontrollállatok veséje nem mutatott fibrotikus elváltozást (A), míg a két kezelt csoportban előfordult a köteges, erek mellett futó kollagén rostok kék színben való festődése (B, C).



3. ábra • 1.) Áramlási citometriával különválasztottuk az AQP2-pozitív (principális sejtek) és -negatív sejteket, valamint azon belül is a renintermelő sejteket, illetve az azt nem termelőket. A kontrollcsoport élesen elkülönült a két CNI-kezelttől, míg az előbbi esetén a sejtek csupán 2%-a termelt renint mindkét lokalizációban, addig a két immunszupprimált csoport ennek az ötszörös mennyiségében fejezte ki a renint.

2.) Multifoton mikroszkópiával a három vizsgált csoport érátmérőit elemeztük. Kontrollállatok $7 \mu\text{m}$ -es átlagos átmérője közel $2 \mu\text{m}$ -t csökkent, vagyis a megnövekedett reninszekréció ilyen fokú kontrakciót hozott létre mindkét vizsgált csoportban.

3.) A vese funkcionális változását vizsgáltuk. Kontrollállatok szérum kreatininszintjéhez képest mind a két CNI-kezelt csoportban szignifikánsan megnőtt e vesefunkciós paraméter szintje.

nak a vesére, ami összefüggésbe hozható a megnövekedett reninaktivációval, nemcsak a JGA-ban, de a gyűjtőcsatornában is, ami ezidáig nem volt ismert az irodalomban. A fokozott renintermelődés a nagyobb sejtpopulációt magába foglaló gyűjtőcsatorna lokalizációban vazokonstriktiót, következményes hipoxiát és így fibrogenezist indukál, s ezek eredőjeként a vesefunkció romlik.

A CAN számos kaszkádot, regulációs faktort magába foglaló, komplex folyamat, ám a pontos patomechanizmusa még mindig nem ismert. Vannak alloantigén-függő és -független faktorok, amelyek közül mi a CNI-nefrotoxicitást vettük górcső alá. A legegyszerűbb faktor modellünkben a hipoxia volt. Az oxigén részleges hiánya minden vese-sejtben a citrátciklus zavarát eredményezi, következményesen a szukcinát akkumulálódik, és kilép a mitokondriumból a citoplazmába, majd az extracelluláris térbe (Peti-Peterdi 2010). A szukcinát GPR91 receptorán keresztül autokrin és parakrin módon triggereli számos mestergén transzkripcióját, köztük a RAAS sebességmeghatározó lépését is, a renintermelést. Minthogy az összekötő szegmensben és a gyűjtőcsatornában is nagy mennyiségben található a GPR91-receptor (Robben et al., 2009), az általa triggerelt és itt termelődő renin, amit diabéteszes modellben már leírtak (Toma et al., 2008; Vargas et al., 2009), egyike lehet a legfontosabb, a hipoxiát jelezni hivatott jelátvivőknek. A renin az angiotenzin II-n keresztül tovább fokozza a vazokonstriktiót, s egy későbbi lépésben profibrotikus útvonalakat indít be, melyeket a renin (P)RR-án történő aktiváció további fokozott működésre serkent (Nguyen 2002).

A renin CNI-nefrotoxicitásban betöltött központi szerepére utal az is, hogy RAAS-in-

hibíciót alkalmazva a CNI-nefrotoxicitás kivédéséről, de legalábbis javulásáról számolnak be. A RAAS-inhibíciót követően az intersticiális fibrózis sokkal kevésbé volt kifejezett azokban a patkányokban, amelyek a fibrogenikus citokin overexpresszió, pl. TGF-beta, PDGF és IL-6 miatt Tac-nefrotoxicitást mutattak (Deniz et al., 2006). Ez további bizonyítást nyert egy tanulmányban, melyben 5/6 subtotális nefrektómia modellben a RAAS gátlása az IL-2-gátlással együtt sokkal effektívebb volt a progresszív glomeruloszklerózis kifejlődésének kivédésében, mint egy monoterápiás kezelés (Hamar et al., 1999). Munkacsoportunk is leírta, ACE-gátlást követően a profibrotikus útvonalak közül számos tag mRNS szintje szignifikánsan csökken, míg az angiotenzinogén mRNS szintje kompenzatórikusan megnő (Szabó et al., 2000). Látni kell viszont, hogy a direkt reningátlást mint a CNI-nefrotoxicitás kivédésének terápiás eszközt illetően az irodalom teljes mértékben hiányos.

Összességében elmondhatjuk, hogy bevezettük és elindítottuk a multifoton fluoreszcens mikroszkópia metodikáját a magyar nefrológiai alaputatásban. A juxtaglomeruláris apparátus mellett a gyűjtőcsatornában is sikerült megjeleníteni a renin termelődését és szekrécióját. A kalcineurin inhibitor CyA és Tac fokozta a juxtaglomeruláris és gyűjtőcsatorna reninszekrécióját. Ezzel akut és krónikus reninhatásokat is kiváltva rontják a vese működését. Így a renin gátlása terápiás lehetőség lehet az immunszuppresszívumok okozta nefrotoxicitás mind akut, mind krónikus következményeinek csökkentésében.

Kulcsszavak: multifoton-mikroszkópia, veseműködés, renin, calcineurin, juxtaglomeruláris apparátus

IRODALOM

- Andoh, T. F. – Burdman, E. A. – Bennett, W. M. (1997): Nephrotoxicity of Immunosuppressive Drugs: Experimental and Clinical Observations. *Seminars in Nephrology*. 17, 34–45.
- Bennett, W. M. (1996): Insights into Chronic Cyclosporine Nephrotoxicity. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 34, 515–519.
- Cecka, J. M. – Terasaki, P. I. (1995): The UNOS Scientific Renal Transplant Registry. *United Network for Organ Sharing. Clinical Transplants*. 1–18.
- Deniz, H. – Ögütmen, B. – Cakalagaoglu, F. – Tuğlular, S. – Ozener, C. – Akoğlu, E. (2006): Inhibition of the Renin Angiotensin System Decreases Fibrogenic Cytokine Expression in Tacrolimus Nephrotoxicity In Rats. *Transplantation Proceedings*, 38, 483–486.
- Fellström, B. C. – Larsson, E. (1993): Pathogenesis and Treatment Perspectives of Chronic Graft Rejection (CVR). *Immunology Reviews*. 134, 83–98.
- Hamar P. – Peti-Peterdi J. – Rázga Z. – Kovács G. – Heemann, U. – Rosivall L. (1999): Coinhibition of Immune and Renin-Angiotensin Systems Reduces the Pace of Glomerulosclerosis in the Rat Remnant Kidney. *Transplantation Proceedings*. 11, 234–238.
- Kang, J. J. – Toma I. – Sipos A. – Meer, E. J. – Vargas, S. L. – Peti-Peterdi J. (2008): The Collecting Duct Is the Major Source of Prorenin in Diabetes. *Hypertension*. 51, 1597–1604.
- Komukai, K. – Mochizuki, S. – Yoshimura, M. (2010): Gender and the Renin-angiotensin-aldosterone System. *Fundamentals of Clinical Pharmacology*. 24, 687–698.
- Li, Y. (2010): New Insights into Epithelial-mesenchymal Transition in Kidney Fibrosis. *Journal of the American Society of Nephrology*. 21, 212–222.
- Madsen, K. – Friis, U. G. – Gooch, J. L. – Hansen, P. B. – Holmgaard, L. – Skøtt, O. – Jensen, B. L. (2010): Inhibition of Calcineurin Phosphatase Promotes Exocytosis of Renin from Juxtaglomerular Cells. *Kidney International*. 77, 110–117.
- Nguyen, G. – Delarue, F. – Burcklé, C. – Bouzahir, L. – Giller, T. – Sraer, J. D. (2002): Pivotal Role of the Renin/Prorenin Receptor in Angiotensin II Production and Cellular Responses to Renin. *The Journal of Clinical Investigation*. 109, 1417–1427.
- Norling, L. L. – Tufro-Mcreddie, A. – Ariel Gomez, R. – Moore, L. C. – Kaskel, F. J. (1996): Accumulation of Acidic Renin Isoforms in Kidneys of Cyclosporine-A-treated Rats. *Journal of the American Society of Nephrology*. 7, 331–337.
- Peti-Peterdi J. (2010): High Glucose and Renin Release: The Role of Succinate and GPR91. *Kidney International*. 78, 1214–1247.
- Peti-Peterdi J. – Burford, J. L. – Hackl, M. J. (2012): The First Decade of Using Multiphoton Microscopy for High-Power Kidney Imaging. *American Journal of Physiology – Renal Physiology*. 302, 227–233.
- Peti-Peterdi J. – Toma I. – Sipos A. – Vargas, S. L. (2009): Multiphoton Imaging of Renal Regulatory Mechanisms. *Physiology (Bethesda)*. 24, 88–96.
- Prokai A. – Peti-Peterdi J. (2010): Recent Advances in Tissue (Pro)Renin Imaging. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*. 2, 1227–1233.
- Rajnoch J. – Lodererova, A. – Szabo A. – Honsova, E. – Vannay A. – Bloudickova, S. – Matl I. – Viklicky, O. (2005): Regulators of Angiogenesis in Renal Ischemia/Reperfusion Injury in Normotensive and Hypertensive Rats: Effect of Tacrolimus. *Transplant Proceedings*. 37, 352–354.
- Robben, J. H. – Fenton, R. A. – Vargas, S. L. – Schweer, H. – Peti-Peterdi J. – Deen, P. M. – Milligan, G. (2009): Localization of the Succinate Receptor in the Distal Nephron and Its Signaling in Polarized MDCK Cells. *Kidney International*. 76, 1258–1267.
- Ryffel, B. – Weber, E. – Mihatsch, M. J. (1994): Nephrotoxicity of Immunosuppressants in Rats: Comparison of Macrolides with Cyclosporin. *Nephron Experimental Nephrology*. 2, 324–333.
- Shihab, F. S. – Bennett, W. M. – Tanner, A. M. – Andoh, T. F. (1997): Mechanism of Fibrosis in Experimental Tacrolimus Nephrotoxicity. *Transpl.* 64, 1829–1837.
- Szabo A. – Lutz J. – Schleimer K. – Antus B. – Hamar P. – Philipp, T. – Heemann, U. (2000): Effect of Angiotensin-converting Enzyme Inhibition on Growth Factor mRNA in Chronic Renal Allograft Rejection in the Rat. *Kidney Intern.* 57, 982–991.
- Toma I. – Kang, J. J. – Sipos A. – Vargas, S. L. – Bansal, E. – Hanner F. – Meer, E. – Peti-Peterdi J. (2008): Succinate Receptor GPR91 Provides a Direct Link between High Glucose Levels and Renin Release in Murine and Rabbit Kidney. *The Journal of Clinical Investigation*. 118, 2526–2534.
- Turner, J. M. – Bauer, C. – Abramowitz, M. K. – Melamed, M. L. – Hostetter, T. H. (2012): Treatment of Chronic Kidney Disease. *Kidney Intern.* 81, 351–362.
- Vargas, S. L. – Toma, I. – Kang, J. J. – Meer, E. J. – Peti-Peterdi J. (2009): Activation of the Succinate Receptor GPR91 in Macula Densa Cells Causes Renin Release. *Journal of the American Society of Nephrology*. 20, 1002–1011.

ÚJ DINAMIKUS KÉPALKOTÓ ELJÁRÁS

Osváth Szabolcs

egyetemi adjunktus,
Semmelweis Egyetem Biofizikai Intézet
osvath.szabolcs@med.semmelweis-univ.hu

Szigeti Krisztián

egyetemi tanársegéd, laborvezető,
Semmelweis Egyetem Biofizikai Intézet
Nanobiotechnológiai és In Vivo Képpalkotó Központ
szigeti.krisztian@med.semmelweis-univ.hu

Az elmúlt évtizedben paradigmaváltás zajlott le az orvosi képalkotásban. Új szemléletmód fejlődött ki, amely a funkcionális képalkotás szerepét hangsúlyozza az anatómiai struktúra pusztá ábrázolásával szemben. Az élettani folyamatok megjelenítését célzó törekvések mára már több, elterjedten használt diagnosztikus képalkotási módszer kidolgozásához vezettek, mint például a pozitronemissziós tomográfia (PET), a fotonemissziós számított tomográfia (SPECT) vagy a funkcionális mágneses rezonancia képalkotás (fMRI). Meglepő módon, a radiológia legrégebbi és még mindmáig leggyakrabban használt módszere, a röntgenképpalkotás, Conrad Röntgen óta az anatómiai pillanatképek varázsában él. Az alapvetően mozgó és élő szervezetet röntgen-pillanatfelvételek alapján próbálja megérteni és morfológiai elváltozásait detektálni.

Az elmúlt években a Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében egy új röntgenképpalkotó módszert fejlesztettünk ki, amely alapvetően más szemlélettel igyekszik új utakat nyitni a funkcionális képalkotásban. A szabadalmaztatás alatt álló eljárás a jelenleg is használt képalkotó rendszerek módosításával képes az élő szervezetek élettani folyamatairól árulkodó belső mozgásokat megjeleníteni.

A röntgenradiográfia röntgensugarakat használ a rejtett anatómiai részletek megjelenítéséhez. A kép készítéséhez a páciens röntgensugarakkal világítják át, és a páciens testén átmenő sugarak által kirajzolt árnyékképet rögzítik. Az árnyékkép megmutatja, miként oszlik meg a páciensen belül a röntgenelnyelő-képesség, más néven röntgendenzitás, kirajzolva az anatómiai részleteket. A kép felvétele közben történő mozgások a képen elmosódást eredményeznek, amelyet mozgási műtermékek neveztek el. A Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében kifejlesztett technika alap gondolata az, hogy a „mozgási műtermék” valójában nem egy nem kívánt zavar, hanem olyan jel, amely hasznos információt tartalmaz a páciensen belüli mozgásokról, amelyet érdemes kinyerni és a diagnózis szolgálatába állítani.

A röntgenkép rögzítéséhez fotografikus filmet vagy elektronikus röntgendetektort exponálnak a helyes expozícióhoz szükséges ideig. Az elektronikus detektorok lehetővé teszik a képek digitális tárolását és számítógépes feldolgozását, ezért egyre inkább kiszorítják a fotografikus film használatát.

A röntgenképpalkotás nagy kihívása, hogy a páciens egészségének minél kisebb kockázataival – vagyis minél kisebb röntgendózis

mellett – tudjunk jó minőségű, kontrasztos diagnosztikus képeket készíteni. A lágy szövetek közötti alacsony kontraszt erősítése érdekében gyakran szükségessé válik kontrasztanyagok használata. Ezek olyan anyagok, amelyek a szervezetbe juttatva a környezetüktől eltérő röntgenelnyeléssel lehetővé teszik eddig nem felismerhető anatómiai részletek vizualizációját. A kontrasztanyagként használt kemikáliák azonban károsíthatják a vesét és a májat, valamint nem kívánt élettani folyamatokat indíthatnak el (például allergiás reakció), ezáltal növelve a vizsgálat kockázatát.

Bizonyos helyzetekben a mozgásból adódó műtermék csökkentésére és a szív, illetve a tüdő mozgásának ábrázolására a röntgenminta-vételezést az EKG-vel vagy a légzéssel szinkronizálják. Ily módon egy állóképekből álló mozszerű sorozatot lehet nyerni arról a mozgásról, amellyel a mintavételezést szinkronizálták. A méréssel nem szinkronizált mozgások mozgási műtermékként jelentkeznek a képben, rontva a kép minőségét. A módszer hátránya, hogy a képsorozat elkészítése lényegesen megnövekedett röntgendózist igényel. A Semmelweis Egyetemen kifejlesztett új vizsgálati módszer – a kapuzott szív- és légzési felvételektől eltérően – a gyors és aperiodikus mozgások érzékelésére is alkalmazható, és a kapuzásos módszernél lényegesen kisebb röntgendózissal és ebből eredően kisebb kockázattal jár.

A Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetében kidolgozott technika alkalmazását a digitális detektorok egyre nagyobb mértékű elterjedése teszi lehetővé. Az eljárás lényege, hogy egyetlen helyesen exponált kép felvétele helyett sok erősen alul exponált képet készítünk. Az alul exponált képek összes expozíciója épp ugyanannyi, mint egy helyesen exponált képé. Ez azt je-

lenti, hogy a sok alul exponált kép felvételéhez épp akkora röntgendózis szükséges, mint egyébként egy hagyományos röntgenkép készítéséhez. Az alul exponált képek egyenként használhatatlanok, de a sok képet együttesen statisztikus módszerekkel kiértékelve értékes információt nyerhetünk.

Az alul exponált képsorozat minden egyes képpontra kirajzolja a detektált röntgenfotonszámok eloszlását. Ez az eloszlás a detektorzajnak, a sugárzási részecske természetéből adódó Poisson-zajnak és a mozgások következtében előálló röntgendenzitáció-változások egymásra tevődéséből adódik. A mért foton-számeloszlás lehetővé teszi, hogy információt kapjunk a röntgendenzitáció pácienstani változásainak eloszlásáról, amiből mi egyszerre négy képet számolunk ki.

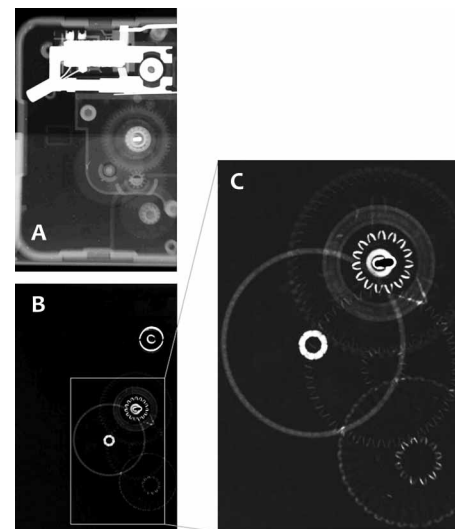
Az előállított képek közül a legérdekesebb az új – általunk dinamikusnak hívott – kép, amely a lokális mozgásokat ábrázolja a vizsgált testben. Az újfajta képpel a funkcióról árukkodó olyan információ jut a diagnózist végző orvos birtokába, ami eddig nem volt elérhető. A dinamikus kép és a hagyományos kép kontrasztviszonyai gyökeresen eltérnek. A kép mozgásalapú kontrasztja lehetővé teszi a mozgó szervek és szövetek (például vér, szív, tüdő) kontrasztanyag nélküli vizsgálatát.

A második kép, amelyet az eljárás segítségével megkapunk, az úgynevezett statikus kép, amely az álló struktúrákat ábrázolja hasonlóan a már jól ismert hagyományos képhez. Ez a kép azonban a hagyományos módszerrel készült kép javított változata, amelyet a pácienstani belüli mozgások kevésbé zavarnak.

A további két kép az eddig említett képek mérési hibájára ad a jelenleg elérhető módszereknél tökéletesebb becslést. A hagyományosan használt becslések a detektált röntgenfotonszámok eloszlására tett előzetes felvé-

sekből indulnak ki. Az általunk kidolgozott új módszer a mérés hibáját a mért képsokaságból minden előfeltevés nélkül számolja ki. A jobb hibabecslés pontosabb zajsűrést és hatékonyabb digitális képfeldolgozást enged meg, ami jobb képminőséget és a páciens-érő röntgendózis eredményesebb optimalizációját teszi lehetővé.

Az 1. ábra egy elemes ébresztőóra belső szerkezetét mutatja az új technikával készült röntgenfelvételen. Az 1a. ábra a statikus képet ábrázolja. A hagyományos röntgenképhez hasonló felvételen jól láthatóak az óra elektromos áramkörei és a mutatókat mozgató mechanika. Az 1b. ábra a dinamikus képet tárja elé. Ezen eltűnnek a statikus részek, és a gyorsabban vagy lassabban mozgó részek eltérő kontraszttal ábrázolódnak. A legélénkebben látszó kis kör a másodpercmutatót



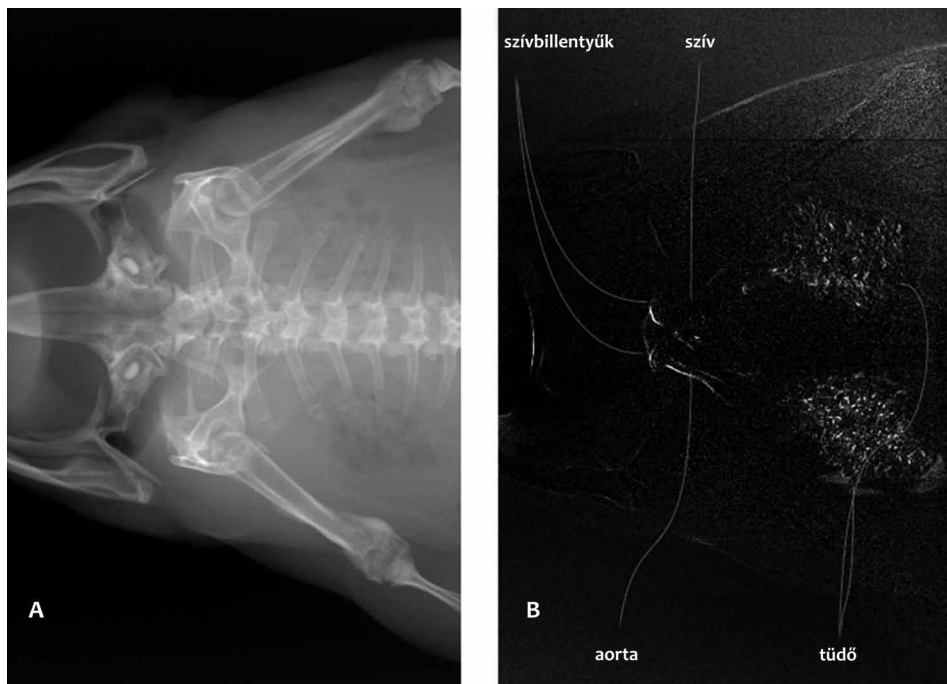
1. ábra • Az új módszerrel egy modellrendszerrel, ketyegő óráról készített röntgenkép. (A) hagyományos statikus kép; (B) a mozgást mutató dinamikus kép; (C) a dinamikus kép egy kinagyított része amely szemlélteti a kép széles mozgáskáláját.

mozgató tengely. A dinamikus kép egy részletét kinagyítottuk, és újraablakoztuk (1c. ábra). Jól felismerhetően kiábrázolódnak a percmutatót és az óramutatót mozgató fogaskerekek is, ami a módszer nagy dinamikus tartományát érzékelteti: a másodpercmutatót mozgató tengely 3600-szor gyorsabban forog, mint az óramutatót mozgató fogaskerék.

A 2. ábra egy afrikai karmosbékáról (*Xenopus laevis*) készült az új képalkotási módszert alkalmazva. A 2a. ábra a statikus kép, amelyen a béka fejének, vállának és gerincének csontjai látszanak. A többi szerv nem ismerhető fel a béka igen rossz lágyszöveti kontrasztja miatt. A 2b. ábra a dinamikus képet mutatja. Ezen jól megfigyelhetőek a tüdő léglyagocskái, a szívbillentyűk, az aorta, valamint a nyelv hátsó része, ami szintén mozog a légzés során. A mozgásra érzékeny kontraszt elegendő a különböző mozgó szervek ábrázolására, nincs szükség kontrasztanyagok alkalmazására.

Az elmúlt évtizedben a diagnosztikai képalkotó módszerek fejlesztésének egyik fő célja a vizsgált páciens kockázatának jelentős csökkentése és a hatékonyabb diagnosztikai eszközök kidolgozása volt. A röntgensugárzáson alapuló módszerek nagy hátránya a pácienstani elnyelődő ionizáló sugárzással járó kockázat. További problémát jelent a képalkotásban használt kontrasztanyagoknak a vesére és májra gyakorolt esetleges károsító hatása. A Semmelweis Egyetemen kifejlesztett módszer ezeket a negatív hatásokat segíthet kiküszöbölni.

A technika egyaránt felhasználható a fentebb mutatott 2D-alkalmazásokban és a tomográfias 3D-eljárásokban. A klinikai felhasználáson túl az új technológiát hasznosítani lehet minden olyan képalkotó eljárásban is, ahol átvilágító sugárzást használunk képalko-



2. ábra • Az új módszerrel egy afrikai karmosbékáról (*Xenopus laevis*) készített kép. (A) statikus kép, (B) a mozgó szerveket ábrázoló dinamikus kép.

tásra. A találmány alkalmas motorok, forgó alkatrészek, áramlások feltérképezésére és működés közbeni vizsgálatára. Ugyancsak használható repülőtéri biztonsági kapukban, vagy a szállítmányokkal együtt utazó nem kívánatos kártevők detektálására a tengeri vagy szárazföldi határállomásokon.

A fejlesztés eddig elsődlegesen az orvosi alkalmazásokra koncentrált. A mindennapi orvosi gyakorlatba ültetésig azonban természetesen még szükséges az új módszer és az általa adott újfajta képi információ diagnosztikai hatékonyságának bizonyítása a különböző klinikai szakterületeken. Az új módszer hasznosulását várva derűlátóak lehetünk,

mert az orvoslás története azt mutatja, hogy az orvosok a lehető legrövidebb időn belül igyekeznek minden új eszközt az eredményes gyógyítás érdekében felhasználni. Remélhetőleg a közeli jövőben sikerül az eddig kidolgozott technológiai alapokra olyan rutineljárásokat építeni, amelyek a betegségek hatékonyabb diagnosztizálását segítik. Bízunk benne, hogy a kifejlesztett módszer széles körű elterjedése jelentősen javítja majd a röntgenalapú diagnosztikai eljárások hatékonyságát és biztonságosságát.

Kulcsszavak: számítógépes tomográfia, multimodális képalkotás, biológiai mikromozgások

IRODALOM

Osváth Szabolcs–Szigeti Krisztián: *New Dynamic Imaging Modality Using Penetrating Radiations*. Patent ID:

WO 2012/001496 Year of submission: 2011. Reference number of submission: PCT/IB/2011/ 001522. Publication year: 2012 Submitted to: Switzerland

Technológia
2

BIOANYAGOK A NANOTECHNOLÓGIÁTÓL A MESTERSÉGES SZÖVETIG

Kellermayer Miklós

egyetemi tanár, az MTA doktora,
Semmelweis Egyetem Biofizikai és Sugárbiológiai Intézet
kellermayer.miklos@med.semmelweis-univ.hu

Bevezetés

A nanotechnológiától a mesterséges biológiai szövetekig terjedő kutatás-fejlesztési témák az orvostudomány világszerte egyik legintenzívebben vizsgált innovációs területei közé tartoznak. A nanotechnológia az a tudományos és fejlesztési terület, amelyben a természet 1 nanométertől 100 nanométerig terjedő mérettartományba eső részét vizsgáljuk és manipuláljuk, továbbá figyelembe véve, hogy ebben a mérettartományban különleges jelenségek és tulajdonságok jelennek meg, ilyen méretű részecskék alapjain speciális alkalmazásokat fejlesztünk. Ilyen alkalmazások közé tartoznak például az intelligens gyógyszerívő vagy célbajuttató rendszerek, amelyek képesek becsomagolt vegyületadagokat szállítani, és azokat csak bizonyos feltételek teljesülése után felszabadítani. Az egyik legígéretesebb lehetőség liposzómák gyógyszerhordozóként való felhasználása. A liposzómák parányi lipidhólyagocskák, amelyekbe vízdoldékony hatóanyagok csomagolhatók, ugyanakkor a lipidfal fizikai-kémiai természete miatt képesek áthatolni hidrofób felületen, mint amilyen a sejtmembrán is. A liposzómák kutatá-

sában a Semmelweis Egyetem immár jelentős hagyományokkal rendelkezik. A liposzómák jelenlegi formájukban a hatóanyagot az érpályából közvetlenül és célzottan a kívánt szövet sejtek közötti állományába juttatják el. A célzás eredményeként a hatóanyag a sejtbe, illetve a célsejten belül kiválasztott sejtorganelumba (mag, mitokondrium) kerül. Ennek magvalósulásával nemcsak tovább növelhető a tumorterápia hatékonysága (kisebb terápiás dózis, csökkent mellékhatások), de ideális eszköz áll rendelkezésre olyan genetikus betegségek (például neurodegeneratív betegségek) célzott génterápiájának megvalósításához (noninvazív intracelluláris génszállítás), melyekben a nukleáris és mitokondriális genom korrekciója vagy működésének befolyásolása szükséges.

A technológiai kutatási terület másik végpontja a mesterséges szövetek fejlesztése. A mesterséges anyagok használata a kiesett szervek és szervfunkciók pótlására világszerte vezető innovációs terület. A mesterséges szövetek tágran értelmezett, különleges anyagfajtákat jelentenek. Ide tartoznak a biológiai funkciókat utánzó, úgynevezett „biomimetikus”, a szövetet pótló vagy „bioszövet”, tovább-

bá szövetbarát vagy „biokompatibilis” anyagok. A bioanyagok és biomimetikus anyagok életminőséget javító alkalmazási lehetőségeinek feltárása sajátos multidiszciplináris anyag-tudományi megközelítést igényel, amelyben szigorú orvosi-gyógyszerészeti elvárások dominálnak. A tudományág fejlesztése orvosi-biológiai környezetben számunkra ráadásul kiemelt gazdasági jelentőségű, hiszen viszonylag rövid úton vezethet piacképes termékig, és gyógyászati alkalmazásuk jól mérhető életminőségjavulást, jobb munkaképességet eredményezhet.

Az előbbi két kutatás-fejlesztési végpont között olyan spektrum jelenik meg, amelyben már hagyományosnak tekinthető anyag-tudományi fejlesztések, molekulaszintű irányított hatóanyagtervezés, illetve nagy érzékenységgű, funkcionális mérőmódszerek tesztelése történik. Ilyenek a fogászati anyag-tudomány, gyulladáscsökkentő vagy tumoros folyamatokban fontos szerepet játszó enzimet célzó gyógyszer-fejlesztés, illetve mágneses nano- és mikrorészecskéket alkalmazó laboratóriumi mérőeljárások és komplex analitikai eljárások.

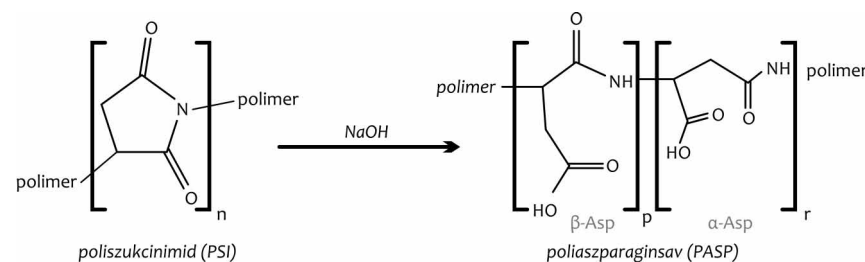
Bioanyagok és biomimetikus anyagok

Új, elsősorban innovatív polimerfizikán és kémián alapuló szövetpótló és szövetbarát anyagok tervezése, fejlesztése, előállítása és

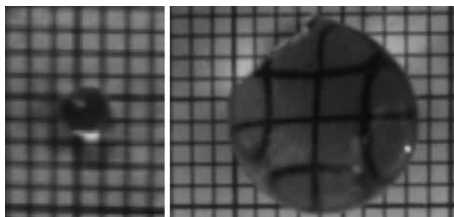
speciális felhasználásaik tesztelése a Semmelweis Egyetem Nanokémiai Munkacsoportjában történik.

Környezetbarát, „zöld kémiai” módszerrel előállított poliszukcinimid (PSI) makromolekulák térhálósításának és funkciókkal való felruházásának optimális módszereit dolgoztuk ki. A molekulák hidrolízisével biokompatibilis poliaszparaginsav (PASP) láncokat és géleket állítottunk elő (1. ábra). Nano- és mikrométer vastagságú poliaszparaginsav gelszálakból mesterséges extracelluláris mátrixot készítettünk, melyek alapul szolgálhatnak háromdimenziós biológiai szövetek kialakításához. Végeredményként tehát sikerrel állítottunk elő szövetbarát mesterséges géleket. A biológiai mechanizmusokkal könnyen lebontható, azaz „biodegradálható” polimerek szintézise is sikerrel járt. A gélek duzzadásának irányításával a gélben kötött hatóanyag leadását szabályozni tudjuk. A gélek duzzadását külső környezeti paraméterek, például a pH vagy a hőmérséklet szűk tartományon történő változtatásával tudjuk indukálni (2. ábra).

Vizsgáltuk poliaszparaginsav gélek duzzadásfokának a Ca^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} ionokra történő érzékenységét. Megállapítottuk, hogy a vizsgált ionok jelenléte nagymértékű gélkollapszust, azaz térszerkezeti összeomlást idéz elő. Biodegradálható polimereket állítottunk elő



1. ábra • Poliaszparaginsav (PASP) polimerháló létrehozása poliszukcinimid (PSI) polimer lúgos hidrolízisével



2. ábra • A pH változtatásával indukált nagymérvű duzzadás poliszukcinimid gélben

glicerín és szecbacinsav, valamint glicerín és citromsav polikondenzációjával. Tanulmányoztuk ezen polimer géljeinek különböző pH-n történő kémiai degradációját. Mágneses részecskék polimerszálak felületéhez kötésével speciális tulajdonságú géleket állítottunk elő, amelyek akár különleges, mágneses hipertermiás beavatkozásokra is alkalmasak lehetnek. Ehhez sikeresen adszorbeáltunk radioaktív technéciumionokat felületmódosított magnetit nanorészecskék felületén *in vitro* körülmények között. Vizsgáltuk a technécium- és a pertecnatát-ion megkötődése közötti különbséget, valamint optimalizáltuk a pertecnatát redukáláshoz szükséges ón(II) mennyiségét. Új módszert dolgoztunk ki folyadékok, gélek és lágyszövetek hővezető képességének mérésére. Két konkrét alkalmazást az alábbiakban külön is bemutatunk.

Szöveti hővezetés modellezése polimer gélekkel

A daganatos megbetegedések kezelésének egyik ígéretes módszere a mágneses hipertermia. Ennek lényege, hogy a beteg sejtek közé mágneses folyadékot injektálnak, majd nagyfrekvenciás mágneses térrel gerjesztve a folyadékban lévő nanométeres mágneses részecskékből hő szabadul fel. A megemelkedett hőmérséklet hatására a daganatos sejtek ismertén érzékenyek, bizonyos hőmérséklet

felett elpusztulnak. A módszer előnye, hogy a mágneses folyadék irányítottan juttatható a beteg területre, így a test más részeit nem éri károsodás a megemelkedett hőmérséklet miatt. A módszer hatékonyságának megismerése céljából szükség van a szövetek hővezető képességének ismeretére. A szövetekben történő hővezetést polimer gélekkel modellezzük. A polimer gélek a szövetekhez hasonlóan szálas szerkezetűek, ezek a szálak a térben rendezetlenül helyezkednek el. Víz tartalmuk nagy (80–90%), és a térhálós szerkezet megakadályozza a konvekciót. A fentiek alapján feltételezhetjük, hogy a polimer gélek a szövetekhez hasonló hővezetési tulajdonságokkal rendelkeznek. A fejlesztés célja polimer gélekkel modellezett szövetekben lejátszódó hővezetés megismerése. Ennek érdekében fázisátalakulást mutató polimer géleket állítottunk elő, és tanulmányoztuk ezek hővezetését. Olyan mérőműszert építettünk, amely lehetővé tette a gélbeli hőmérséklet-eloszlás meghatározását.

Sebészeti hasfali háló felületmódosítása polimerszálakkal

A Kísérletes és Műtéti Intézetrel együttműködve elektromos szálhúzásos módszerrel előállított vagy módosított hasfali háló kialakításán dolgozunk. Munkánk során sikeresen vontuk be a polipropilén- és poliészter-alapú, jelenleg forgalomban kapható hasfali hálók felületét. A polipropilén és a poliészter intraabdominális hálók beültetés után zsugorodhatnak, és elvándorolhatnak a beültetés helyéről, emellett a sejtek megtapadása és így a regeneráció megindulása is nehézkes. A poli-aminosav anhidridjének módosításával hidrofób felületet alakítunk ki a makroszkopikus struktúrán, mely feltételezhetően elősegíti a sejtek megtapadását, ahogy azt a Petri-csészék

esetén is tapasztaljuk. Az eredeti polimer térhálók milliméteres pórusait az elektromos szálhúzással előállított sűrű szövésű struktúra teljesen befedi.

Új generációs liposzóma fejlesztése

A Kórélettani Intézetben liposzóma, vagyis „membránszákalapú” gyógyszerhordozókat készítünk, amelyek előnyei a térben korlátozott, szabályozható bevitel, irányíthatóság, nagyobb gyógyítási hatások, valamint a mellékhatások és adagolás csökkentése. Ilyen típusú készítmények korlátozottan már alkalmazásban vannak, azonban néha súlyos, akár halálos allergiás reakciót idézhetnek elő. Ezen komplement-közvetített, anafilaktoid reakció mechanizmusait vizsgáltuk, melynek hátterében liposzóma-aggregáció állhat.

A nanomedicina jelen alkalmazásai közül kiemelendő az irányított gyógyszerterápia, amelyben az oldékonyság növelésével, a felszabadulás lassításán, a keringési idő növelésén, illetve a gyógyszer beteg sejtekhez/szövetekbe irányításán keresztül a terápiás index növelhető. A liposzóma tehát egy foszfolipid kettősmembrán által burkolt gömb-zsák, amely magába zárja a zsír- vagy vízoldékony gyógyszerhatóanyagot. A tumorelleszerek közül eddig három hatóanyagot zártak liposzómába: Doxorubicin, Daunorubicin, Cytarabin. A liposzómális gyógyszerek felhasználásának potenciális előnyei: lokalizált, kontrollált bevitel, irányíthatóság-célzó ligandok beültetésével, jobb gyógyítási hatások, mellékhatások és adagolás csökkentése, ami által a kiszerelesre alkalmatlan gyógyszerek is felhasználhatókká válnak. Az eddig engedélyezett liposzómák sajátságai alapvetően különböznek egymástól méretben, szerkezetben, lipidösszetételben, adagolási módban, összeállítási módban és alkalmazásban. A liposzó-

mába zárt doxorubicin immunológiai mellékhatásainak egy eddig megoldatlan kérdését kívánjuk tisztázni: mi okozza a Doxil által a betegek magas hányadában (10%) okozott akut, complement-mediált anafilaktoid reakciókat, amelyek ritkán súlyosak, sőt halálosak is lehetnek. A reakciók hátterében – legalább részben – liposzóma-aggregáció áll, amit a bezárt, felszíni expozíciójú és/vagy szabad doxorubicin elősegít. Laboratóriumunkban először sikerült az aggregátumokat áramlási citométerrel szétválasztani, majd dinamikus fényszórás-elemzéssel nagyságukat megbecsülni. Eredményünk tudományos és gyakorlati jelentősége abban rejlik, hogy rámutatunk egy megoldatlan gyógyszerreakció lehetséges okára, ezt mérni tudjuk, és ezzel egy új minőségbiztosítási eljárás alapjait teremthetjük meg az immunológiai mellékhatások előrejelzésére.

Betegségorientált kutatás-technológiai platform gyógyszerkészítmények kutatására és fejlesztésére

A Gyógyszerkutatási és Gyógyszerbiztonsági Centrumban gyógyszerkészítmények kutatására és fejlesztésére betegségorientált kutatás-technológiai platform készül. Modellmolekulaként egy igen fontos enzim, az érfali kitapadási fehérjét (vaszkuláris adhéziós protein-1 – VAP-1) vizsgáljuk. Az emberi szervezetben előforduló VAP-1, mely azonosnak bizonyult a membránhoz kötött szemikarbazid-szenzitív aminoxidáz (SSAO) enzimmel, kettős funkcióval rendelkező biomolekula: i) leukociták endotéliumhoz való kitapadásában és transzmigrációjában vesz részt, valamint ii) aldehidet és hidrogénperoxidot termelő aminoxidáz enzim (SSAO) aktivitással is rendelkezik. Úgy tűnik, hogy megnövekedett szintje és aktivitása révén fontos szere-

pet játszhat gyulladási folyamatokban, sőt daganatos betegségekben is. Így a VAP-1/SSAO-inhibitoroknak e betegségeknel terápiás jelentőségük lehet. Jóllehet különösen a kismolekulás inhibitoroktól remélhető terápiás siker. Ilyen vegyület klinikai fejlesztéséről azonban még nincs publikált adat. Mindezt idáig csupán egy VAP-1 monoklonális antitest klinikai fejlesztéséről számoltak be. A VAP-1-et népegészségi szempontból is nagy jelentőségűnek tartjuk, gyógyszerterápiájában azonban még nem megoldott betegségekben, elsősorban gyulladási szembetegségekben (pl. retinopátia) és daganatos betegségekben (pl. melanóma) tanulmányozzuk, valamint az inhibitoroknak ezek kezelésére való alkalmazhatóságát vizsgáljuk. Számos lépést tettünk abba az irányba, hogy a közeljövőben sikeres VAP-1/SSAO-gátló szer jöhessen létre: i) humán mintákban, állatkísérletes modellekben VAP-1 aktivitás meghatározására alkalmas módszert dolgoztunk ki; ii) inhibitorok hatásának vizsgálatára alkalmas állatmodelleket dolgoztunk ki. Mindezzel összefüggésben új VAP-1-inhibitorokat tervezünk korszerű molekulamodelllezési módszerekkel, a fehérje kristályszerkezete, fehérjeinhibitor-komplex szerkezete alapján és inhibitorok szerkezetének elemzésével kapott modellekkel; valamint adatbázisokból potenciális inhibitorjelöltekhez jutottunk *in silico* módszerekkel; továbbá folytatjuk egy saját, farmakológiai hatása alapján ígéretes, új típusú VAP-1-gátló molekula részletes vizsgálatát és a hasznosításához szükséges fejlesztési, továbbá iparjogvédelmi (széles körű találmányi bejelentés) tevékenységét. Összességében korszerű molekulamodelllezési módszerekkel terveztünk új VAP-1-inhibitorokat, amelyek alapján új, gyulladásokban és daganatos betegségekben alkalmazható gyógyszerek kifejlesztése válik lehetővé.

Fogászati tömőanyagok összehasonlító in vivo biokompatibilitásának vizsgálata

A **Parodontológiai Klinikán** és az **Orális Diagnosticszaktikai Tanszéken** fogászati tömőanyagok *in vivo* biokompatibilitási vizsgálatsorozatának célja az ínyszélel érintkező fognyaki kopásokban használt, nanotechnológiával készült polimerlakk-bevonatú tömőanyag, illetve a hagyományos tömőanyagok összehasonlítása. A hasonlítás alapja a plakk-képződésre és a fogínyszél állapotára kifejtett hatás. A tömés elkészítése előtt az íny és szájhigiéniá állapotát összesen tizenhárom klinikai paraméter alapján rögzítjük. A fognyaki kopásba véletlen kiválasztás alapján rutineljárással tömést helyezünk. A plakkképződés mértékét és a fogíny reakcióját az ínyvérzési index, sulcus váladék mérése alapján a 21. napon, majd a 6. és 12. hónapban értékeljük. Projektünk eredményeként olyan technológiához juthatunk, amely hatékonyan alkalmazható a legnagyobb fogvesztést okozó állapotok javításában, gyógyításában.

Mágneses részecske alapú érzékeny laborvizsgálati módszer fejlesztése

Az **Orálbiológiai Tanszéken** biokémiai kötések erősségének mérésére alkalmas módszereket fejlesztünk. Mágneses mikrorészecskék és mikrofluidikai eszközök felhasználásával építettünk nagyérzékenységgű mérőműszereket. Mikroszkóp tárgyasztalán elhelyezhető speciális kamrában, finoman szabályozott mágneses tér segítségével mágneses mikrogöngyöket tudunk mozgatni. Ha a mikrogöngyök felületén egy molekulakomplex található, akkor azt módszerünkkel szabályozott körülmények között tudjuk mechanikai erővel terhelni, felszakítani, és ezáltal a kötés erősségét nagy pontossággal megmérni. Ru-

tin diagnosztikai laboratóriumokban általában csak vegyületek koncentrációját mérik. Fejlesztéseink alapján azonban az is lehetővé válhat, hogy a mért molekulák funkcióit, kapcsolódásait is rutinszerűen vizsgálhassuk.

Testi őssejtek, szignálok és géntranszfer – eszközök a bioszövet-építés technológiájához

A **Molekuláris Orális Biológiai Kutatócsoportban** a keményszövet megújulását vizsgáljuk. A fog- és csontszövetek kialakulásának és szerkezeti átrendeződésének lépéseit az intenzív kutatások ellenére a mai napig nem ismerjük pontosan. Vizsgálatainkban emberi és patkány fogból eredetű őssejtek tenyésztéseit állítottuk elő. Kimutattuk, hogy ezek csontos, és – meglepetésre – idegi differenciálódásra képes sejteket is tartalmaznak. Mesterségesen elődifferenciáltot sejteket kérgi sértésen átesett kísérleti patkányok agyába ültettünk. A sejtek a beültetést követően a sértés helyére vándorolva idegsejt jellegű tulajdonságokat vettek fel. Vizsgálataink felvetik a fogeredetű őssejtek alkalmazhatóságát nemcsak keményszövetek pótlására, de neurodegeneratív folyamatok gyógyításában is. A keményszövet újjáépülésének egyik kulcsa a fehérjék nanoméretű szerkezeti kölcsönhatásainak megértése. Ezért bioinformatikai közelítéssel összehasonlítottuk a biomineralizációban részt vevő proteinek szerkezetét. Kutatásaink szerint a proteinek döntő többsége rendezetlen fehérje. A rendezetlen fehérjék eredeti funkcionális állapotukban sem rendelkeznek jól definiált térszerkezettel, így feladatukat nem önmagukban, hanem partnerek felismerése, és azok jelenlétében történő közös szerkezetkialakítás, direkt kontaktus révén érik el. Sok ilyen fehérje jelátviteli folyamatokban vesz részt, mutációik ezért gyakran okoznak betegséget. Megfigyelésünk szerint azonban a csont- és fogépződés legfontosabb fehérjei is rendezetlenségük révén képesek feladatuk ellátására, szoros összefüggésben többszörös negatív töltésű aminosav sorozataikkal.

Az emberi nyálmirigy megújítását célzó vizsgálatainkban nyál eredetű progenitorokból vektorális elektrolit transzportot mutató kétdimenziós monolayer nyálmirigymodellt hoztunk létre. A sejtek bazolaterálisról apikális irányba Cl⁻ és bikarbonát transzportot

mind oszteogén, mind idegi differenciálódásra képes sejtpopulációt is tartalmaznak. Előzetesen *in vitro* elődifferenciáltot sejteket kortikális sértésen átesett kísérleti patkányok agyába ültettünk. A sejtek a beültetést követően a sértés helyére vándorolva funkcionálisan és molekuláris markereket mutatva is idegsejt jellegű tulajdonságokkal rendelkeztek. Vizsgálataink felvetik a fogeredetű őssejtek alkalmazhatóságát nemcsak keményszövetek pótlására, de neurodegeneratív folyamatok gyógyításában is.

A fog- és csontszövetek kialakulásának és szerkezeti elrendeződésének számos elemét az intenzív kutatások ellenére a mai napig nem ismerjük. Az újjáépítés egyik kulcsa a fehérjék nanoméretű szerkezeti kölcsönhatásainak megértése. Ezért bioinformatikai közelítéssel összehasonlítottuk a biomineralizációban részt vevő proteinek szerkezetét. Kutatásaink szerint a proteinek döntő többsége rendezetlen fehérje. A rendezetlen fehérjék eredeti funkcionális állapotukban sem rendelkeznek jól definiált térszerkezettel, így feladatukat nem önmagukban, hanem partnerek felismerése, és azok jelenlétében történő közös szerkezetkialakítás, direkt kontaktus révén érik el. Sok ilyen fehérje jelátviteli folyamatokban vesz részt, mutációik ezért gyakran okoznak betegséget. Megfigyelésünk szerint azonban a csont- és fogépződés legfontosabb fehérjei is rendezetlenségük révén képesek feladatuk ellátására, szoros összefüggésben többszörös negatív töltésű aminosav sorozataikkal.

Az emberi nyálmirigy megújítását célzó vizsgálatainkban nyál eredetű progenitorokból vektorális elektrolit transzportot mutató kétdimenziós monolayer nyálmirigymodellt hoztunk létre. A sejtek bazolaterálisról apikális irányba Cl⁻ és bikarbonát transzportot

mutatnak, amelyet ellenirányú Na^+ -transzport kísér, azaz a sejtek kevert módon mutatják az acinár és dukális jellemzőket. Munkánk jelentős lépés a mesterséges nyálmirigy-szövet építésének irányában.

Génerápiás in vivo eszközrendszer kidolgozása

A felnőttkori fogvesztés leggyakoribb oka a fogágygyulladás következtében fellépő csontpusztulás, és ennek révén a fog tapadásának csökkenése. Az oszteoprotegerin (OPG) fehérje a RANK–RANKL-kölcsönhatás gátlása révén gátolja a csontfalósejtek létrejöttét, és megakadályozza a csontvesztést. Célunk a csontvesztés gátlása terápiás génbevitellel kísérletes paradontitisz során. Előbb egér OPGt cDNS-t adenovirális shuttle vektorba klónoztva AdCMVmOPG-adenovírust készítettünk. Mivel az adenovirális vektor magas dózisokban szövétkárosítás jeleit mutatta, ezt követően mOPG-t tartalmazó adeno-asszociált vírust (AAV6mOPG) állítottunk elő, amelynek in vivo alkalmazása rendkívül ígéretes.

A fogakat felépítő keményszöveteket epitélialis és mezenchimális progenitorokból differenciálódó, aktív, elektrolittranszportra képes sejtek hozzák létre, amelyek eredménye a speciálisan rendezett nanostruktúrájú zománc és dentin létrejötte. A folyamatot megalapozó kalcium- és foszfáttranszport, valamint a lokálisan esszenciális megfelelő pH-szabályozás kialakulásának molekuláris mechanizmusáról nagyon keveset tudunk. Számos proton és HCO_3^- szekrécióban érintett transzporter jelenlétét mutatták ki ezekben a sejtekben immunhisztokémiai és PCR-módszerekkel. Célunk, hogy polarizált modellt létrehozva funkcionális vizsgálatok segítségével tanulmányozzuk az ameloblasztok és az odontoblasztok proton és HCO_3^-

transzportfolyamatait. Az ameloblaszt eredetű Hat-7-sejteket Transwell poliészter membránokra ültetve megfelelő tápközeg kidolgozásával elértük, hogy a sejtek polarizálódtak, és nagy ellenállású monolayerre váltak, elkülönülő apikális és bazolaterális felszín mutatva. Ez, a sejtek elektrolit transzportfolyamatainak tanulmányozására kidolgozott módszer a világon egyedülálló. Ezen a polarizált epitéliumon bazolaterálisan kimutattuk két, a pH-szabályozásban és bikarbonáttranszportban kulcsszerepet betöltő fehérje működését. Vizsgálataink alapján a HCO_3^- transzport nátriumfüggő és nátriumfüggetlen mechanizmuson keresztül valósul meg. A mezenchimális eredetű, odontoblaszt prekursor jellegű MDPC23-sejtek eredetüknek megfelelően nem alakítanak ki szoros kapcsolatokat a Transwell-membránokon, összhangban eddigi dentinképződéssel kapcsolatos ismereteinkkel. Ezekben a sejteken sikerült ugyanakkor az intracelluláris és extracelluláris pH-szabályozásban szerepet játszó nátriumproton kicserélő és HCO_3^- transzportáló membránfehérjék funkcionális jelenlétét kimutatnunk. Eredményeink jelentős lépésnek tekinthetők a rendezett nanoszerkezetű zománc és dentin kialakulási mechanizmusának megértésében, s így közelebb visznek a szerkezetek megújításának jelenleg még nem megoldott problematikájához.

Kitekintés

Bár a nanorobotok, intracelluláris nanoszenzorok megvalósulására még várunk kell, a nanoméretű kapszulákba/hordozókba zárt célzott gyógyszerterápia már a mindennapi gyakorlat részévé vált. A felhasználás idáig leginkább a célzott tumorterápiában terjedt el, ahol a nanohordozó eszköz a liposzóma. A célzott terápia jelentőségét az adja, hogy a

kismolekula-alapú, hagyományos gyógyszer-célpontok közül ma már nehéz újat találni. Csak a terápia hatékonyságának javítása és a mellékhatások csökkentése révén lehet előrelépni. A nanotechnológia, nanobiotechnológia és nanomedicina azonban jóval szélesebb spektrumot tár elénk, mint a célzott terápiák. Ezen a fejlesztési területen a közeljövő sok érdekes felfedezéssel és látványos megoldásokkal kecsegtet: például jó hatásfokú, nagy specifitású költséghatékony diagnosztikai, terápiás eljárások, új gyógyszerek, nagyérzékenységű olcsó bioszenzorok, nagy elemsűrűségű elektronikai áramkörök, integrált optikai eszközök.

Élő sejtek, szövetek fejlődése, differenciálódása molekuláris biofizikai mechanizmusainak megismerése, és ebből fakadóan mesterséges bioszövetek tervezése és építése az utóbbi évek tudományos kutatási és fejlesztési fókuszpontjába került, és várhatóan az érdeklődést az alkalmazások terjedése csak növelni fogja. Ennek oka az, hogy egyre realisztikusabb megoldásként kínálkozik az a lehetőség, hogy elhalt vagy károsodott biológiai szöveteket funkciót pótló vagy éppen különleges funkciókkal felruházott mestersé-

ges szövetekkel lehessen lecserélni, pótolni. A biológiailag inspirált mesterséges szövetek vizsgálata hagyományosan a bio-anyagtudomány része, ám a szakmai terület látványos fejlődése miatt önálló tudománnyá, kutatás-fejlesztési és innovációs területté nőtte ki magát. Mára elérhető közelségbe került a biológiai szövetek mesterséges pótlásának lehetősége számos technológia rendkívül gyors előrehaladásával. A technológiai fejlesztések elsősorban az intelligens mátrixok fejlesztésére, illetve szöveti „nyomtatásra” fókuszálnak. A mesterséges biológiai szövettervezés és -előállítás (*tissue engineering*) részéről óriási igény érzékelhető multifunkcionális, intelligens, nano- és mikroskálán orientált, kémiai könnyen funkcionálizálható hálózatok iránt, amelyek vezérelhető kitapadási vázként szolgálhatnak élő sejtek számára. A *tissue engineering* gazdasági jelentőségét egyelőre nehéz megbecsülni, de a szerv- és szövetpótlások iránti óriási igény a szakmai terület hasznosítását jelentősen motiválja.

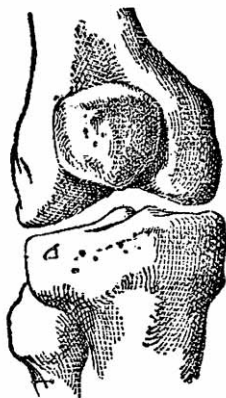
Kulcsszavak: *biokompatibilitás, biodegradáció, polimerek, anyagtudomány, molekulatervezés, össejtek, mágneses mikropartikulumok*

IRODALOM

- Énzsöly A. – Dunkel P. – Récsán Zs. – Györffy H. – Tóth J. – Marics G. – Bori Z. – Tóth M. – Zelkó R. – Di Paolo, M. L. – Mátyus P. – Németh J. (2011): Preliminary Studies of the Effects of Vascular Adhesion Protein-1 Inhibitors on Experimental Corneal Neovascularization. *Journal of Neural Transmission*. 118, 1065–1069.
- Grimm, W.-D. – Dannan, A. – Becher, S. – Gassmann, G. – Arnold, W. – Varga G. – Dittmar, T. (2011): The Ability of Human Periodontium-derived Stem Cells to Regenerate Periodontal Tissues – A Preliminary in Vivo Investigation. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. 31, 6, e94–e101.

- Hajdú A. – Szekeres M. – Tóth I. Y. – Bauer R. A. – Mihály J. – Zupkó I. – Tombác E. (2012): Enhanced Stability of Polyacrylate-Coated Magnetite Nanoparticles in Biorelevant Media. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 94, 242–249.
- Kuznetsova, N. R. – Sevrin, C. – Lespineux, D. – Boivin, N. V. – Vodovozova, E. L. – Mészáros T. – Szabeni J. – Grandfils, C. (2011): Hemocompatibility of Liposomes Loaded with Lipophilic Prodrugs of Methotrexate and Melphalan in the Lipid Bilayer. *Journal of Controlled Release*. 21 Dec. Epub ahead of print: PubMed PMID: 2210161.
- Lohinai Z. – Keremi B. – Szoko E. – Tabi T. – Szabo, C. – Tulassay Z. – Levine, M. (2011): Bacterial Lysine Decarboxylase Influences Human Dental Biofilm

- Lysine Content, Biofilm Accumulation and Sub-Clinical Gingival Inflammation. *Journal of Periodontology*. Online 5 Dec. DOI: 10.1902/jop.2011.110474
- Milosevits G. – Rozsnyay Z. – Kozma G. T. – Milosevits J. – Tömöry G. – Robotka H. – Rosivall L. – Szebeni J. (2011): Flow Cytometric Analysis of Supravesicular Structures in Doxorubicin-Containing Pegylated Liposomes. *Chemistry and Physics of Lipids*. Dec 20. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22206709.
- Sinkó K. – Szabó G. – Zrínyi M. (2011): Liquid-Phase Synthesis of Cobalt Oxide Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 11, 1–9.
- Szebeni J. – Bedöcs P. – Rozsnyay Z. – Weiszár Z. – Urbanics R. – Rosivall L. – Cohen, R. – Garbuzenko, O. – Báthori G. – Tóth M. – Bünger, R. – Barenholz, Y. (2012): Liposome-induced Complement Activation and Related Cardiopulmonary Distress in Pigs: Factors Promoting Reactogenicity of Doxil and AmBisome. *Nanomedicine*. In press
- Szebeni J. – Muggia, F. – Gabizon, A. – Barenholz, Y. (2011): Activation of Complement by Therapeutic Liposomes and Other Lipid Excipient-Based Therapeutic Products: Prediction and Prevention. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 16 Sept. 63, 12, 1020–1030.
- Tian, K. – Nagy I. P. – Chass, G. A. – Fejerdy P. – Nicholson, J. W. – Csizmadia I. G. – Dobo-Nagy, C. (2012): Qualitative assessment of microstructure and Hertzian indentation failure in dental glass ionomer cements. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 23, 3, 677–685. (minor revision)
- Varga Zs. – Molnár K. – Juriga G. – Torma V. – Ji-Heung, K. – Zrínyi M. (2011): Duzzadási kinetika térhálós poliaszparaginsav gélek példáján. *Magyar Kémiai Folyóirat*. 117, 4, 153–204
- Weiszár Z. – Czúcz J. – Révész C. – Rosivall L. – Szebeni J. – Rozsnyay Z.: Complement Activation by Polyethoxylated Pharmaceutical Surfactants: Cremophor-EL. – Tween-80 and Tween-20. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 22 Sept. Epub ahead of print: PubMed PMID: 21963457.
- Zrínyi, M. (2011): Colloidal Particles that Make Smart Polymer Composites Deform and Rotate. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 382, 1–3, 192–197. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2011.01.047



BIOKOMPATIBILIS ANYAGOK: MESTERSÉGES MÁTRIXOK ÉS NANORÉSZECSKÉK

Jedlovsky-Hajdú Angéla

PhD, tudományos munkatárs
angela.hajdu@net.sote.hu

Juriga Dávid

BSc, kutató asszisztens

Varga Zsófia

PhD, tudományos munkatárs

Molnár Kristóf

BSc, kutató asszisztens

Zrínyi Miklós

DSc, az MTA levelező tagja, kutatócsoport-vezető egyetemi tanár
mikloszrinyi@gmail.com

Semmelweis Egyetem Általános Orvosi Kar Biofizikai és Sugárbiológia Intézet Nanokémiai Kutatócsoport

A nanotechnológia segítségével előállított anyagok közé sorolhatjuk mind a biokompatibilis mesterséges mátrixokat, mind a nanorészecskéket. A felépítő egységek mérete mindkét rendszer esetén a nanotartományba esik. A *nano* a görög *törpe* szóból ered, és azt a méretskálát (a miliméter milliommód része) foglalja magában, ahol az élő rendszerekben zajló folyamatok lejátszódnak. Kétféleképpen állíthatunk elő nanoméretű részecskéket: vagy a makroszkopikus tömbfázis darabolásából (top down), vagy molekuláris szintről a molekulák-atomok egymáshoz kapcsolásával (*bottom up* módszerrel). A nanotartományban történő kutatások elterjedésével az egyes tudományterületek összeolvadása, illetve szükség-szerű együttműködése felgyorsult, a természet-tudományi szakterületek komplexitása kifejezettebbé válik. A nanorészecskék legfonto-

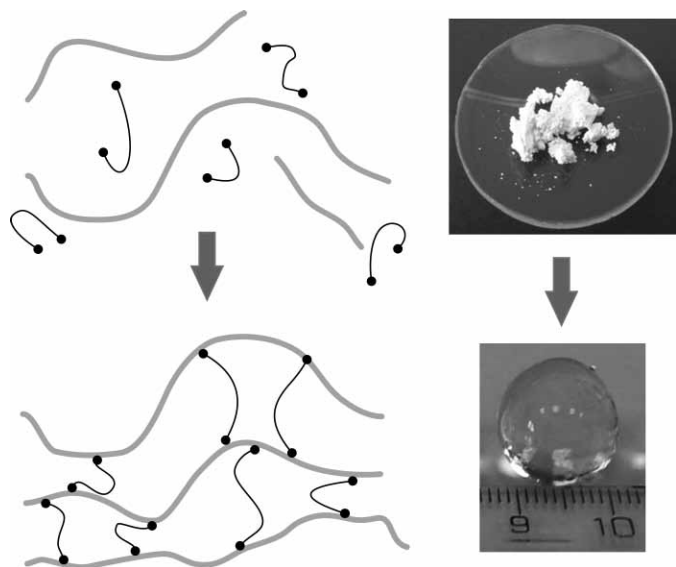
sabb tulajdonsága, ami miatt egyre több kutató fordul e terület felé, hogy a méret csökkenésével nagymértékben megnő a szilárd részecskék fajlagos felülete. Ennek következtében anyagi tulajdonságaik drasztikus változáson mennek keresztül a megszokott, jól ismert makroszkopikus formájukhoz képest (például az arany nanorészecskék színe lilává változik, míg a makroszkopikus aranyé közismerten sárga) (McNeil, 2005).

A kutatók a természet utánzásával próbálják megérteni a körülöttünk zajló folyamatokat. Fontos tehát tanulmányoznunk ezeket a parányi apró építőelemeket. A Nanokémiai Kutatócsoport egyik fő kutatási területe az orvosi biológiai és gyógyszerészeti célokra alkalmazható hosszú láncú polimer térhálók és gélek előállítása. A polimerek olyan makromolekulák, amelyek ismétlődő egységekből,

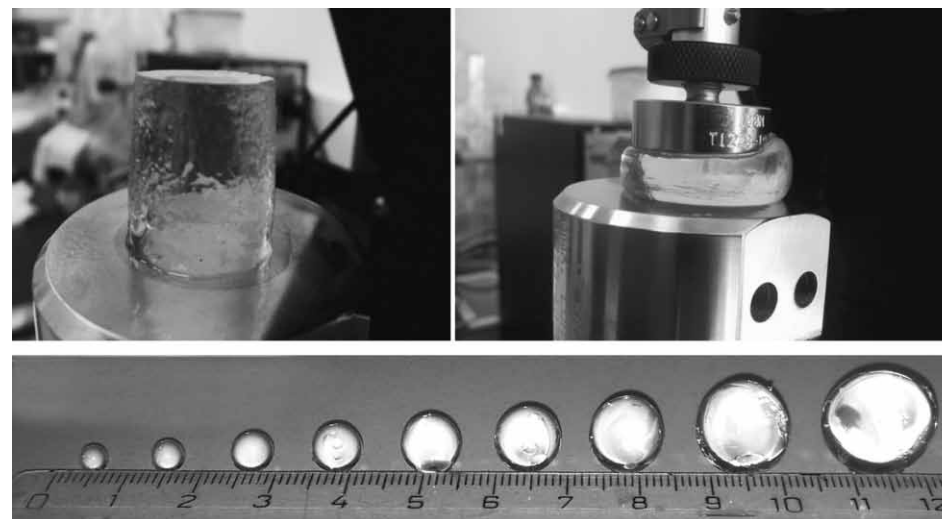
monomerekből épülnek fel kovalens kötések révén. Ezek a polimerek lehetnek hosszú láncot alkotó vagy elágazódásokat tartalmazó, illetve különböző alakzatokat (például csillag, parketta, létra) felvevő óriásmolekulák. Ilyen polimerláncokból épülnek fel a fehérjék is, melyek építőkövei az aminosavak. Ahhoz, hogy polimer térháló jöjjön létre, esetenként olyan molekulákra van szükség, melyek ezeket a hosszú polimerláncokat keresztkötik. A polimerláncokból felépülő térháló tehát megfelelő vázszerkezettel rendelkezik, mely folyadék felvételére is képes, ezáltal gérendszert alakítva ki. A polimer gélek átmenetet képeznek a szilárd anyagok és a folyadékok között: alaktartók és könnyen deformálhatók, ugyanakkor nagy folyadéktartalmuk miatt fizikai tulajdonságaik az oldatokéhoz hasonlóak. Alaktartásuk a gélben szerteágazó polimer-váznak köszönhető, miközben igen nagy mennyiségű vizet (akár saját tömegüknek

többszörösét is) képesek megkötni (Varga et al., 2010).

Ezeknek a szintetikus anyagoknak igen szigorú követelményeknek kell megfelelniük, amennyiben élő rendszerekkel tervezzük kölcsönhatásba hozni őket. Amellett, hogy szervezetbarát (biokompatibilis) egységekből építjük fel őket, fontos, hogy ne legyen mérgező sem az alapréz, sem a felépített rendszer. Az orvosi biológiai alkalmazás során felmerülő szigorú feltételeknek úgy tehetünk például eleget, hogy aminosav alapú (például: aszparaginsavból, illetve anhidridjéből, szukcinimidből) polimereket készítünk, melyek így mellőzik a testidegen anyagok bevitelét. Az olyan biokompatibilis és biodegradábilis polimer térhálók előállítására irányított érdeklődés jelentősen megnőtt, melyek gyakorlati alkalmazása számos területen megoldható. Hosszú láncú, nagy molekulatömegű poliaminosavat igen nehéz mesterségesen előállí-



1. ábra • Polimerek térhálósításának sematikus rajza, ahol a szürke szálak a polimert, a feketék pedig a térhálósító molekulát jelölik (balra), és a száraz polimer térháló duzzadása (jobbra).



2. ábra • Gélhenger nagymértékű deformációja egyirányú összenyomás hatására (fent); gélgömbök méretváltozása duzzadási folyamat során (lent).

tani. A leginkább elterjedt és már rutinszerűen alkalmazott poliaminosav is csak pár aminosavegységből épül fel. Az egyik ilyen tripeptid az RGD-molekula, mely argin-glicin-aszparaginsav összekötéséből áll, ezért kapott igen nagy figyelmet a biológusok és kémikusok körében, mert a sejtek letapadásában játszik jelentős szerepet (Yip et al., 1997). Így, ha irányítani szeretnénk a sejtek megtapadását egy speciális felületen, akkor célszerű RGD-bevonatot alkalmazni az adott területen. Azonban ez a tripeptid nem képes gélstruktúrát kialakítani, mivel a polimerlánc túl rövid, a lánc további megnövelése pedig költséges és nehézkes feladat.

A hosszú polimerláncokkal kapcsolatosan fontos megemlíteni, hogy orvosi biológiai, gyógyszerészeti és kozmetikai alkalmazásaiknak gátat szab, ha a polimer térhálót a szervezet nem képes lebontani, illetve ha maga a polimer ártalmas, vagy ártalmas anyagokra bomlik. Ezért a térhálósítás során a poliaminosav vázhoz természetes aminosavakat és/vagy

olyan természetes diaminokat kapcsolunk, melyek továbbra is biztosítják a biokompatibilitást. Bár a biokompatibilitás igen szubjektív fogalom, egyes esetekben azt értjük alatta, hogy az élő szervezetre ne legyen mérgező hatása, más esetekben azt is, hogy a sejtek szaporodni is képesek legyenek rajta, tehát életképes populációt tudjanak létrehozni a polimer térháló felületén vagy magában a térhálós gél belsejében.

A felhasználási területeken a biokompatibilitás mellett igen fontos, hogy az előállított térháló megfelelő struktúrával rendelkezzen. A sejtek egészséges növekedéséhez és működéséhez szükséges támasztórendszer az extraceluláris mátrix, mely egy olyan szálrendszerből felépülő szövet, ami biztosítja a sejtek számára a merev térhálót, emellett kellőképpen rugalmas. Az extraceluláris mátrix információátadó közegként is működik, a sejtek egymás közötti kommunikációjában fontos szerepet játszik, amellett, hogy a sejtek bomlástermékeinek elszállítását és a tápanyag odaszállítását

is szabályozza. Ahhoz, hogy ezt a szerteágazó feladatkört el tudja látni, igen speciális felépítéssel kell rendelkeznie. Az élő rendszer különböző átmérőjű szálak szövédékeiből alakítja ki ezt a háromdimenziós szerkezetet, melyben a szálak közötti pórusok mérete szintén fontos paraméter.

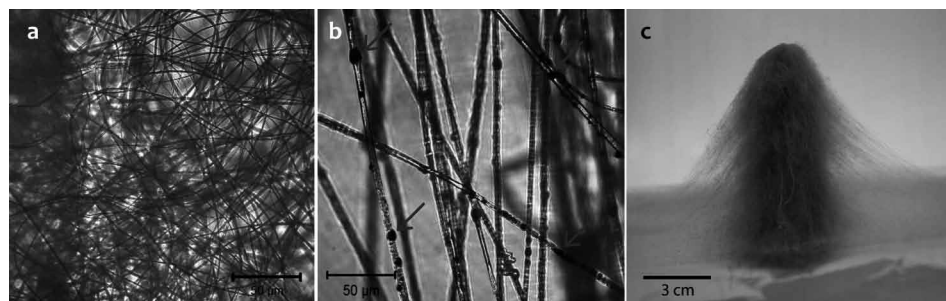
Kutatócsoportunk arra törekszik, hogy olyan mesterségesen előállított szövetstruktúrát állítson elő poliaminosavból felépülő szálakból, mely például alkalmas lehet sejtek tenyésztéséhez szükséges támasztópillérnek.

Ezeket a poliaminosavakból felépülő polimerszálakat elektromos szálhúzásos technikával (*electro-spinning*) állítjuk elő. Az elektromos szálhúzás igen nagy múltra visszatekintő technológia, az első szabadalmak az 1940-es évekig vezethetők vissza, azonban az így előállítható szervezett struktúra csak az elmúlt pár évben kapott nagy figyelmet a lehetséges orvosi biológiai felhasználhatóság miatt (Frenot et al., 2003). Az elektromos szálhúzás gyors, hatékony és nem túl drága módja a polimerszálak előállításának mikro- és nanométeres tartományban (3.a ábra).

A technológia alapja, hogy a polimer oldatot egy tűn keresztül elektromos tér jelenlétében folyamatosan áramoltatjuk, a túvel

szemben elhelyezett földelt lemezen pedig összegyűlnek a nagy feszültség hatására létrejött szálak. Amikor feszültséget alkalmazunk, töltés indukálódik a polimercsepp felületén, ami a tű végén jelenik meg. Amikor az elektromos térerősség eléri egy kritikus értéket, mind az elektrosztatikus taszító erők, mind a Coulomb-erők ellensúlyozzák az elektromos tér hatását a csepp felületén, és egy töltéssel rendelkező sugarat hoznak létre a polimer oldatból. A húzott szál nagyon vékony és hosszú lesz az instabil húzási folyamat során. A szálhúzás alatt az oldószer nagy része elpárolog, és a polimer szál a mintagyűjtő felületén felhalmozódik. Így végső soron egy véletlenszerű nano/mikroszálakból felépülő két-dimenziós hálózatot kapunk. A kapott struktúra leginkább a kollagénszálak szövédékére hasonlít az extracelluláris mátrixban (Kim et al., 2006).

Az alkalmazott polimertől függően a keletkezett struktúra igen eltérő fizikai tulajdonságokkal (például szakítószilárdság, tömeg, vastagság, porozitás, felületi funkciócsoportok) rendelkezhet, emellett a kísérleti körülmények változtatásával (alkalmazott feszültség, mintagyűjtő távolsága a tűhegytől, áramlási sebesség stb.) a szálak vastagsága és



3. ábra • Elektromos szálhúzással előállított poliaminosav (a); poliaminosav és mágneses részecske (nyilakkal jelezve) alapú szálak mikroszkópos felvétele (b), illetve mágneses részecskék hatására kialakuló makroszkopikus szálrendszer (c).

a szálátmérő eloszlása is módosítható. Ez a szálstruktúra lehetővé teszi ultravékony filmek előállítását is. Kisméretű vízoldható részecskéket adva a polimer oldathoz ezek a szálhúzás során éppúgy csapódhatnak a száraz szálrendszerben, mint bizonyos gyógyszer-molekulák (Frenot et al., 2003). A kutatók egyik fő célja az olyan célzott hatóanyag-bejuttatás megvalósítása, mely során a gyógyszer-molekula csak az adott helyen lokálisan fejti ki hatását, így az alkalmazandó gyógyszer koncentrációja csökkenthető, ami maga után vonja a mellékhatások csökkenését is. A daganatos betegségek terjedésével az ilyen célzott hatóanyag-bejuttatás különösen nagy jelentőségre tett szert.

A polimerszálakból felépített szövetek tehát a hatóanyag-bevitel mellett támasztópílerként szolgálhat a sejtek növekedéséhez, regenerálódásához, esetleg differenciálódásához (Ramakrishna et al., 2006). Az összejuttatás célja, hogy azokat a sejteket, melyek még nem köteleződtek el egy bizonyos funkció betöltésére, össze lehessen gyűjteni, és különböző kémiai vagy egyéb ingerek befolyásával a kívánt irányba eltolni a differenciálódást. Amennyiben sikerülne megtalálni a megfelelő molekulát, és beleépíteni az elektromos szálhúzással előállított polimerszálakból felépülő térhálóba, úgy az összejuttatott sejttípusok alakíthatóvá válnának. Az így kialakított két-, illetve háromdimenziós szövetek alkalmazhatóak lehet sebkezelésekben vagy speciális szöveti struktúra kialakításához is (Ramakrishna et al., 2006). A sebkezeléseknél szintén fontos, hogy ne csak az adott területen lévő szövetet pótoljuk, de megfelelő pórusrendszerrel rendelkezzen az adott szövetes struktúra, mely a sebgyógyulás során keletkezett szöveti folyadékot elvezeti, csökkentve ezzel a bakteriális fertőzések esélyét.

A térhálót nemcsak differenciálásra alkalmas molekulákkal módosíthatjuk, hanem olyan vegyületekkel is funkcionálizálhatjuk az alap polimerhálat, melyek a jobb bioadhézió miatt elősegítik a sejtek letapadását és növekedését a hálóban. Ilyen például a korábban már említett RGD-tripeptid (Yin et al., 1997), mely a sejtek megkötődését teszi lehetővé a polimer térhálóban.

Ahogy korábban már említettük, szisztematikusan változtatva a kísérleti paramétereket, különböző szakítószilárdságú, rugalmasságú, időben tervezhető lebomlású és biokompatibilis hálókat alakíthatunk ki. Ezek a tulajdonságok fontosak például a hasi sérvkapuk bezárásához használatos mesterséges hálók esetében is, melyeknél a legnagyobb problémát jelenleg az időben nem tervezhető lebomlásuk okozza. A sérvműtét napjainkban a leggyakoribb általános sebészeti beavatkozás, hazánkban évente húsz-huszonötezer ilyen műtétet végeznek. Jelenleg azonban a nem felszívódó háló okozta szövődmények igen súlyosak, illetve ezeknek a speciális hálóknak a költsége rendkívül magas. A hasfal-sebészetben a leggyakrabban a polipropilén hálót használják, ami nem lebomló anyag, a beültetés után zsugorodik, és a környező szövetekben károsodást okozhat. A sérvműtétek során alkalmazott mesterségesen szőtt szálzövetek közötti pórusok átmérője igen fontos paraméter az alkalmazhatóság során. A kereskedelmi forgalomban kapható hálók nagy változatosságot mutatnak ezen a téren. Egyes termékek egységesen néhány száz mikrométeres pórusokkal rendelkeznek, azonban olyan hálókat is találhatunk, melynek többféle méretű pórusai vannak. A különböző pórusátmérek jelenléte (például: a Hermesh 6 hálóban 410, 1800 és 2270 μm) elősegíti a kötőszövet regenerációját, illetve a nagyobb

pórus csökkenti a szöveti idegentest-reakciót. A hálónak a szövet újraépülésében betöltött szerepe mellett más egyéb szempontok is fontosak lehetnek, például hogy a pórusos struktúra elősegítse a háló hasfalán történő elhelyezhetőségét, kapcsolatokkal történő rögzítését is. Mivel azonban az ilyen hálókat nem képes lebontani a szervezet, ezért a hasfali hálók kutatása mindinkább abba az irányba tolódik el, hogy fokozatosan lebomló szőtt struktúrákat alakítsanak ki, mely, amíg a szövet nem képes regenerálni saját magát, megfelelő támasztékot és szakítószilárdságot biztosít a hasfal számára. Napjainkban már léteznek olyan többféle monomer egységből felépülő polimerek, amelyek hálónak egy része lebomlik, másik része pedig megmarad, és elősegíti a támasztó funkciót. Jelenleg azonban nem teljesen megoldott a lebomló rész tökéletes, időbeli kontrollálhatósága. Elektromos szálhúzással elő lehet állítani olyan, sérvkapu elzárására alkalmas hálót, mely a fentebb említett kritériumoknak eleget tehet. Mivel ezek a hálók poliaminosavból készülnek, így biztosan biokompatibilisak, azonban az irányított lebomlás, illetve a megfelelő szakítószilárdság elérése még jelenleg is problémát okoz a kutatók számára.

Az orvosi biológiában felhasználandó mesterséges anyagok esetében a korábban felsorolt kritériumok mellett cél az is, hogy legyen egy olyan külső kontroll, mellyel irányíthatjuk az előállított anyag egyes tulajdonságait. Míg a mesterséges poliaminosav-alapú térhálók szövetes struktúrájánál ez lehet a csapódó hatóanyag leadása, vagy a lebontásának irányítása időben, vagy akár a térfogatának a megnövekedése, addig az olyan parányi nanorészecskék esetében, melyek mágneses tulajdonsággal rendelkeznek, ez a külső kontroll a mágneses tér lehet. A

mágneses folyadékok olyan parányi, nanométeres tartományba eső szilárd részecskéket tartalmazó folyadékok, melyek külső mágneses térrel manipulálhatóak. Ezek a szintén speciális tulajdonságokkal rendelkező folyadékok kontrasztanyagként történő felhasználása MRI (mágneses rezonancia képalkotás) diganosztikai vizsgálatok során már megoldott (Hajdú et al., 2008; Wilhelm et al., 2008). A mágneses vagy ferro-folyadékok nanoméretű mágneses részecskéket, leggyakrabban vas-oxidokat (Fe_3O_4 vagy $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) tartalmaznak folyadék közegben szétosztatva. A részecskék mérete a néhány nanométertől (10^{-9} m) néhány száz nanométerig (10^{-7} m) terjedő tartományban kontrollálható. A vas-oxid nanorészecskéknek nincs mérgező hatásuk az élő rendszerekben, és emellett biokompatibilisek is. A nanorészecskék méretét változtatva hangolhatjuk például a sejt belsejében való felhalmozódásukat, hiszen ezek a részecskék képesek lehetnek átlépni a sejtmembránon, és így más és más szövetekben megjelenni. Egy másik fontos szempont alkalmazásuk során az egyedi részecskék megőrzése, melynek célja a mágneses folyadék stabilitásának megőrzése, illetve fokozása. Ezt különböző burkoló molekulák segítségével érhetjük el. A kutatások ezen a ponton igen szerteágazóak, más-más tulajdonságú molekulák segítségével széles körben felhasználhatóvá válnak a részecskék mind a diagnosztika, mind a terápia területén, szájon keresztüli és intravénás alkalmazás esetén egyaránt (Cornell, 1996). A korábban említett MRI-méréseknél szintén fontos a méret és a borítás: ha a jelet adó nanorészecskék méretüktől függően más és más szövetben halmozódnak fel, akkor ez nagyobb felbontást tesz lehetővé a különböző szervek képi megjelenítésében. Azonban a nanorészecskék borításának vál-

toztatásával alapvetően befolyásolhatjuk a részecskék hidratáltságát, elfedhetjük vagy éppen erősíthetjük a kontrasztképzés határfokát. A legfontosabb paraméter mind magának a részecskének, mind pedig a borításnak a vízzel való kölcsönhatása, mivel a detektálás a felvételek során a vízmolekulák protonjain keresztül történik. Így a borítás hidrofíl (vizet kedvelő) tulajdonságaival módosíthatjuk a felbontóképességet (a kapott kép élességét, részletgazdagságát), egy adott területet hangsúlyosabbá tehetünk. Ez az első olyan felhasználási terület a vizes közegű mágneses nanorészecskék esetén, ahol a kutatások már kereskedelmi forgalomban is lévő termékeket eredményeztek (pl. Endorem, Limurem, Resovist) (Hajdú et al., 2008; Wilhelm et al., 2008).

A szervezetbe juttatva ezek a részecskék az ott található fehérjékkel kölcsönhatásba lépnek, és ez a kölcsönhatás dönti el későbbi sorsukat az élő rendszerben. A nanorészecskék felületére tapadt fehérjék a sejtek felszínén lévő receptorokon képesek megkötődni, és ezzel előidézni a nanorészecskék sejtbe történő felvételét. A részecskék felületén megkötődő fehérjék lehetnek specifikusak vagy nem specifikusak is, a nanorészecskék borításának változtatásával pedig a megkötődés mértéke befolyásolható. Mint jól tudott, egyes betegségekben a fehérjék szerkezete megváltozik, és ezáltal a funkciójuk is módosul (von zur Muhlen et al., 2007). A nanorészecskéken történő megkötődés egy normális és egy szerkezetiileg megváltozott fehérje között szintén eltérő lehet. Ez újabb lehetőségeket nyit meg a diagnosztika, azon belül is a szűrővizsgálatok területén (Tansil – Zhiqiang, 2006). Amennyiben a megkötődött fehérjét azonosítani tudjuk, a betegség igen hamar, már néhány működésében megváltozott fehérje jelenlétében is kimutathatóvá válhatna.

A célzott hatóanyag-bejuttatás nemcsak szálal rendszerekbe csapódóva történhet meg, hanem nanorészecskék felületéhez kötve is. A terápiás területeken a rákos sejtek „falánkságát” kihasználva úgy tervezik megoldani a hatóanyag lokalizációját, hogy mágneses hordozóhoz kötik a gyógyszer-molekulát, majd egy külső mágnessel rögzítik a célterületen. A hatóanyag koncentrációja a vérben összefüggésbe hozható a hatás kialakulásával, így ha megnöveljük a hatóanyag mennyiségét, nagyobb valószínűséggel fejt ki a kívánt hatást. Azonban főleg a kemoterápiás szerek esetében ez igen nagy kockázattal jár. A mellékhatások gyakran végzetes kimenetűek is lehetnek, így a cél a hatóanyagnak csak az adott területen való felhalmozása. Ha mágneses nanorészecskékhez kapcsoltnak rögzíteni tudnánk a gyógyszer-molekulákat a kívánt területen, akkor a dózis csökkenthető lenne, ezáltal elkerülve a súlyosabb mellékhatások kialakulását. A burkolt nanorészecskékhez a hatóanyagok reverzibilisen kötődnek, és így könnyen felszabadulhatnak (McNeil, 2005; Alexiou et al., 2005).

A mágneses nanorészecskék egy további különleges tulajdonsága, hogy váltakozó mágneses térbe helyezve a részecskék hő termelnek, melyet terápiás célokra is kihasználhatunk (mágneses hipertermia). A tumoros szövetekbe juttatott mágneses folyadék nanorészecskéi mozgásba jönnek, vagy mágneses momentumuk fordul el külső váltakozó mágneses tér hatására, miközben hő szabadul fel. A daganatos sejtek érzékenyebbek a magasabb hőmérsékletre, mint az egészségesek, így lokálisan alkalmazva a nanorészecskéket, és egy adott területen megnövelve a hőmérsékletet (30 percig legalább 42°C -ra) a rákos sejtek elpusztíthatóvá válhatnak (McNeil, 2005; Alexiou et al., 2005). A hipertermiát

így kiegészítő kezelésként használhatnánk daganatos betegségek esetén, ezzel is csökkentve a kemoterapeutikumok dózísát és mellékhatásait. Az eljárás kivitelezése még számos kérdést vet fel, így meg kell még oldani például az emberi szervezeten belüli hozzáférhetőségi problémákat. A daganatoknak csak egy része helyezkedik el a testfelszínhez közel, másik része mélyen fekvő területeken alakul ki, így az alkalmazott mágneses tér számára nehezen elérhető.

A mágneses nanorészecskéket elegyítve a polimer oldattal speciális szálrendszereket építhetünk fel az elektromos szálhúzás módszerével (3.b,c ábra), melyek a polimerszálak és a mágneses részecskék előnyös tulajdonságaival egyaránt rendelkeznek. Az így előállított hálók manipulálhatók lesznek külső mágneses térrel, miközben megfelelő struktúrával rendelkeznek ahhoz, hogy támasztópilléreként szolgálhassanak szöveti regeneráció során. Rugalmasak maradnak, és nagymennyiségű folyadékot képesek a szálrendszerbe zárni. A mágneses nanorészecskék kölcsönhatása az elektromos térrel makroszkopikus háromdimenziós szerkezet kialakítását teszi lehetővé, illetve inhomogenitást okoz a szálak szerkezetében (3.c ábra). A mikro- és nanoméretű szálak felülete igen nagy a méretükhöz képest, a magnetit nanorészecskék hatására azonban ez a felület még tovább növekszik. Amennyiben mesterséges extracelluláris mátrixként tervezzük alkalmazni ezeket a mesterséges hálókat, úgy a felület megnövekedése szintén egy el nem hanyagolható szempont a kutatásokban. Amint azt már korábban említettük, a sejtek megtapadásához RGD-tripeptidet alkalmazhatunk. Fontos megjegyezni azonban, hogy a felszín érdessége szintén ezt a célt szolgálja. A sejteknek nemcsak az életben maradáshoz van szüksé-

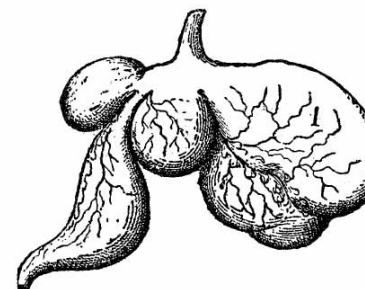
gük a letapadáshoz, de a szaporodáshoz is. Amennyiben differenciáltatni szeretnénk a sejteket, nem elegendő feltétel a biokompatibilitás, de olyan környezetet is biztosítanunk kell, melyben az osztódásuk végbemehet.

A kutatások irányát tehát a fentebb említettek alapján egyre inkább az határozza meg, hogyan lehet összekötni az egyes tudományterületeket, és az előnyös tulajdonságú anyagokat úgy társítani, hogy ezeket a speciális tulajdonságaikat megőrizték az egyesítést követően is. A néhány száz nanométeres, illetve néhány mikrométeres szálátmérőjú poliaminosav-alapú hálók előállítása elektromos szálhúzásos technikával alkalmas lehet orvosi biológiai alkalmazásra. A biokompatibilis és szerveszetben lebomló, funkcionálizálható két- és háromdimenziós szőtt struktúrák megfelelőek lehetnek például hasfali hálók kialakítására vagy mesterséges extracelluláris mátrixok létrehozására. A mesterségesen előállított térhálók támasztópillérei lehetnek olyan sejtpopulációk létrehozásának, melyek összejeleken alapulnak, és a szükséges sejttípus felé differenciálódnak, így lehetővé téve a sebkezelést, a szöveti regenerációt. A polimer térhálóban elosztatott mágneses nanorészecskék pedig elősegíthetik a térbeli struktúra kialakítását, mely elősegíti a sejtek növekedését laboratóriumi körülmények között, emellett mágneses tulajdonságai miatt maga a háló is irányíthatóvá válna egy külső mágneses tér segítségével. Végül, mivel a nanorészecskék váltakozó mágneses térben gerjesztődve képesek hőt termelni, így feltételezzük, hogy a hálókba bezárva is képesek lesznek lokális felmelegedést okozni.

Kulcsszavak: biopolimerek, térhálók, elektromos szálhúzás, mágneses nanorészecskék, extracelluláris mátrix, hasfali sérvháló, hipertermia

IRODALOM

- Alexiou, C. – Jurgons, R. – Schmid, R. et al. (2005): In Vitro and in Vivo Investigations of Targeted Chemotherapy with Magnetic Nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 293, 389–393.
- Benderbous, S. – Corot, C. – Jacobs, P. et al. (1996): Session 7 Superparamagnetic Agents: Physicochemical Characteristics and Preclinical Imaging Evaluation. *Academic Radiology*. 3, Suppl. 2, 292–294.
- Cornell, R. M. – Schwertmann, U. (eds.) (1996): *The Iron Oxides*. Vch, Weinheim
- Frenot, A. – Chronakis, I.S. (2003): Polymer Nanofibers Assembled by Electrospinning. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. 8, 64–75.
- Hajdú A. – Tombácz E. – Illés E. et al. (2008): Magnetite Nanoparticles Stabilized under Physiological Conditions for Biomedical Application. *Progress in Colloid and Polymer Science*. 135, 29–37.
- Kim, T. G. – Park, T. G. (2006): Biomimicking Extracellular Matrix: Cell Adhesive Rgd Peptide Modified Electrospun Poly(D,L-Lactic-Co-Glycolic Acid) Nanofiber Mesh. *Tissue Engineering*. 12, 2, 221–233.
- McNeil, S. E. (2005): Nanotechnology for the Biologist. *Journal of Leukocyte Biology*. 78, 585–594.
- von Zur Muhlen, C. – von Elverfeldt, D. – Bassler, N. et al. (2007): Superparamagnetic Iron Oxide Binding and Uptake as Imaged by Magnetic Resonance Is Mediated by the Integrin Receptor Mac-1 (Cd11b/Cd18): Implications on Imaging of Atherosclerotic Plaques. *Atherosclerosis*. 193, 1, 102–111.
- Ramakrishna, S. – Fujihara, K. – Teo, W. et al. (2006): Electrospun Nanofibers: Solving Global Issues. *Materialstoday*, 9, 3, 40–50.
- Tansil, N.C. – Zhiqiang, G. (2006): Nanoparticles in Biomolecular Detection. *Nanotoday*. 1, 1, 28–37.
- Varga Zs. – Molnár K. – Torma V. – Zrinyi M. (2010): Kinetics of Volume Change of Poly(Succinimid) Gels during Hydrolysis and Swelling. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 12, 12670–12675.
- Yip, K. P. – Marsh, D. J. (1997): An Arg-Gly-Asp Peptide Stimulates Constriction in Rat Afferent Arteriole. *American Journal of Physiology*. 273, F768–776.
- Wilhelm, C. – Gazeau, F. (2008): Universal Cell Labeling with Anionic Magnetic Nanoparticles. *Biomaterials*. 29, 3161–3174.



SZEMIKARBAZID-SZENZITÍV AMINOXIDÁZ-GÁTLÓK

mint új hatóanyagok gyulladásoos szembetegségek kezelésére:
a szelektív inhibitoroktól az új típusú többtámadáspontú
gyulladásgátló gyógyszerjelöltig

Énzsöly Anna

PhD-hallgató,
Semmelweis Egyetem Szemészeti Klinika

Dunkel Petra

PhD, tudományos segédmunkatárs,
Semmelweis Egyetem Szerves Vegytani Intézet

Czompa Andrea

PhD, egyetemi adjunktus,
Semmelweis Egyetem Szerves Vegytani Intézet

Deme Ruth

PhD-hallgató,
Semmelweis Egyetem Szerves Vegytani Intézet

Gyires Klára

az MTA doktora, egyetemi tanár,
Semmelweis Egyetem
Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet

Magyar Kálmán

az MTA rendes tagja, professor emeritus,
Semmelweis Egyetem Gyógyszerhatástani Intézet

Németh János

az MTA doktora, egyetemi tanár,
Semmelweis Egyetem Szemészeti Klinika

Mátyus Péter

az MTA doktora, egyetemi tanár,
Semmelweis Egyetem Szerves Vegytani Intézet
matyus.peter@pharma.semmelweis-univ.hu

Háttér, előzmények

A szemikarbazid-szenzitív aminoszénitív (SSAO) enzim [primer amin-oxidáz, EC 1.4.3.21.] primer alifás és aralkil-aminok oxidatív deaminálási reakcióját katalizálja a szervezetben, amikor is a megfelelő aldehid, H₂O₂ és ammónia keletkezik. Az SSAO az amin-oxidázok egy másik, jól ismert nagy csoportjától, amelyek közé a monoamin-oxidáz A (MAO-A) és -B (MAO-B) is tartozik, a kofaktor (az

SSAO rezet tartalmaz), sejten belüli megosz-lás, funkció, szubsztrátok és inhibitorok tekintetében különbözik. A humán SSAO-enzim membránhoz kötött, illetve a plazmában oldott formában fordul elő, és számos szövetben jelen van. Fő előfordulási helyként az endotél sejtek, a simaizom és az adipociták említhetők. Az enzimnek bizonyos endogén (metil-amin és aminoaceton) és xenobiotikus aminok metabolizmusában van szerepe. Fiziológiai körülmények közötti egyéb szerepei

ma is vizsgálatok tárgyát képezik. Emelkedett SSAO-aktivitást ismertettek számos, különösen gyulladásoos eredetű patológiás esetben (például: kongenitális szívelégtelenség, vese-elégtelenség, gyulladásoos májbetegségek, szklerózis multiplex, pszoriázis, Alzheimer-kór, miopátiák). Ezidáig a legalaposabban tanulmányozták az SSAO-enzim aktivitását 1-es és 2-es típusú diabéteszben: valamennyi vizsgálatban fokozott aktivitást figyeltek meg, különösen szövödmények esetén. E klinikai megfigyelések és további *in vivo* kísérletek alapján feltételezhető, hogy az enzimnek oki szerepe is lehet a fenti kóros állapotok kialakulásában vagy annak következményeiben (Dunkel et al., 2008), legalább részben a citotoxikus metabolitok képződése révén. Felvetődik emellett az említett kórképek monitorizálására való alkalmassága is biomarkerként.

Az SSAO-enzimmel kapcsolatos kutatásoknak új lendületet adott a leukocita adhézióban és transzmigrációban szerepet játszó vaszkuláris adhéziós protein-1 (VAP-1) és az SSAO az 1990-es évek elején felismert szekvenaciaazonossága; tehát egy, a gyulladásban adhéziós és enzimatis funkció egyaránt ellátó fehérjéről van szó, melynek fokozott aktivitása patológiás eseményekkel van szoros kapcsolatban. Következésképpen e körülmények között a VAP-1/SSAO-gátlóknak terápiás értéke lehet az adhézió és enzimfunkció gátlása révén, amit állatkísérletek alá is támasztanak. Napjainkig azonban mindössze néhány gyógyszerjelölt fejlesztését ismertették, de közülük csupán egyetlen jutott klinikai vizsgálatig (a többi vizsgálatát valószínűleg nem kívánt mellékhatások miatt állították le): egy monoklonális VAP-1 antitesttel II/III. fázisú vizsgálatok folynak (Dunkel et al., 2011). Az új VAP-1 inhibitorokat leíró szabadalmak növekvő száma azonban jelzi a terület iránti

érdeklődést, és újabban a lehetséges terápiás alkalmazások a betegségek szélesebb körét ölelik fel, így a közelmúltban írták le a VAP-1 inhibitorok előnyös hatásait tumornövekedésre és kóros angiogenezisre is (Salmi – Jalkanen, 2011). Az ígéretes preklinikai eredmények azonban további humán vizsgálatokat tesznek szükségessé ezen a területen is. Áttörést jelenthet egy saját gyógyszerfejlesztési projektünk, amely egy ismert gyógyszer, amelynek mi magunk igazoltuk SSAO-gátló hatását, új terápiás alkalmazásának vizsgálatára irányul.

Az SSAO-enzim katalitikus funkciója szempontjából a kulcsszereplő a topakinon kofaktor, melynek szerkezete és a katalitikus reakció támpontot nyújtanak inhibitorok tervezéséhez (nem olyan régóta már a humán enzim kristályszerkezete is ismert). Az eddig publikált számítógépes modellek mindazonáltal csupán triviális gyógyszerkémiail ismereket erősítenek meg, vagy legfeljebb csak egy-egy vegyületcsalád optimalizálására tűnnek alkalmasnak. Az enzim legismertebb, de nem különösebben erős gátlószere a szemikarbazid, amelyről nevé is kapta; mint ebből is következtethető, más karbonil-aktív vegyületek is szóba jönnek mint SSAO-gátlók. Korábban néhány egyszerű piridil-aldoxim és -ketoxim növényi (*Pisum sativum*), illetve bakteriális (*Arthrobacter globiformis*) eredetű réztartalmú aminoszénitív enzimre kifejtett gátló hatását is leírták (Mlíčková et al., 2001). Néhány oximnak emellett állati eredetű (*Bos taurus*) aminoszénitív enzim- és humán szérum SSAO-enzim-gátló hatását is tanulmányozták: ez utóbbiak közül a 2-butanon oximja bizonyult a leghatásosabb gátlószernek (Hiraoka et al., 1988). Sőt, néhány hidrazinszármazékról is kiderült SSAO-gátló hatása.

Meglepő módon, sem e vegyületek közül, sem az újabb kémiai szerkezetek közül ez

idáig egyetlen egy sem került klinikai vizsgálatra: e vegyületekről vagy kiderült, hogy a gyógyszerfejlesztés alapkritériumait sem teljesítik, vagy eleve fel sem merült, illetve nem is ismerték fel humán terápiás hasznosíthatóságuk esélyét (Dunkel et al., 2011).

Új típusú SSAO-inhibitor származékok. SSAO-inhibitorok szemészeti alkalmazása

Mi magunk is foglalkozunk SSAO-inhibitorok tervezésével, biológiai vizsgálatával, ilyen vegyületek terápiás célú hasznosításával, valamint az SSAO-aktivitás diagnosztikai célra való alkalmazhatóságával.

Kutatómunkánk egyik ága új oximvegyületek SSAO-gátló és gyulladásgátló hatásának szisztematikus vizsgálatára irányult. Tisztázni kívántuk a biológiai aktivitás szerkezeti feltételeit, és az alapján, szelektív, valamint új típusú többtámadáspontú gyulladásgátló hatóanyagokat kívántunk előállítani. Így számos új SSAO-inhibitor tervezünk és szintetizáltunk, továbbá egy új koncepciót is kidolgoztunk gyulladásgátló vegyületek tervezésére. Mindezek képezik találmányi leírásunk tárgyát (Mátyus et al., 2010, 2011). Röviden, igazoltuk, hogy egy oxim szerkezeti egység SSAO-gátló hatásának érvényesüléséhez meglehetősen specifikus szerkezeti feltételeknek kell teljesülnie, másrészt azt is felismertük, hogy ez a szerkezeti elem alkalmas lehet egy merőben új típusú gyulladásgátló szer tervezéséhez, ami különösen előnyös terápiás profilt biztosíthat a hatáskomponensek egyfajta szinergikus együttműködésének köszönhetően. Nevezetesen, két hatáskomponens új kombinációját egy új gyógyszerkéimiai megoldással, 'aktív prodrug' szintézisével, oly módon valósítottuk meg, hogy egy önmagában SSAO-inhibitor-hatást biztosító, ezáltal gyulladásgátló hatást kifejteni képes szerkeze-

tet úgy alakítottunk ki, hogy abból bioaktívációval egy ciklooxygenáz (COX) enzim gátlást, és ezáltal szintén gyulladásgátló hatást okozó szerkezet képződjék! A koncepció úgy tűnik, működik: egy ilyen kettős hatású vegyület gyulladásgátló és fájdalomcsillapító hatása jelentősnek bizonyult *in vivo* modelleken.

Az SSAO-inhibitorok terápiás alkalmazásának egyik fontos területét képezheti – gyulladásgátló hatásuk mechanizmusa és a szem különböző részeiben megfigyelt SSAO-aktivitás (Almulki et al., 2010) alapján – bizonyos szemészeti betegségek köre. Ismeretes, hogy a gyulladással szemben betegségek kiváltó okai változatosak, lefolyásuk hetekig, akár hónapokig tarthat, s ennek megfelelően hosszan tartó kezelést igényelnek. Mindemellett, súlyos eseteik akár vakáshoz vezethetnek. A terápia célja elsősorban a szemészeti gyulladást kiváltó okok eliminálása lenne, de legalább a tünetek mérséklése és a látást veszélyeztető szövödmények elkerülése. A kiváltó ok lehet fertőzés vagy egy szisztémás betegség, így például reumatoid artritisz. Az oki tényező felderítése azonban sokszor (az esetek negyedében) sikertelen.¹ Ilyenkor, a háttérbetegség ismeretének hiányában a kezelés a gyulladás tüneti csökkentésére irányul, immunszuppresszív szerek vagy szteroid és nem szteroid gyulladáscsökkentők helyi vagy szisztémás alkalmazásával. A szteroidok alkalmazását azonban számos mellékhatásuk (például: szürkehályog-képződés és szemnyomás-emelkedés) korlátozza. A klinikai gyakorlatban jelenleg alkalmazott egyéb szerek nemkívánt mellékhatásaik és/vagy korlátozott gyulladáscsökkentő hatásuk miatt szintén nem tűnnek optimálisnak. Így a krónikus

¹ Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja az uvea betegségeiről.

és rekurrens uveitisz esetek kezelése a gyógyszerkutatók számára ma is komoly kihívást jelent (Kanski, 2007).

Nemrégiben ismerték fel, hogy VAP-1 inhibitorok előnyösek lehetnek uveitisz, valamint az időskori makula degenerációban kialakuló látásromlás kulcstényezőjének tekinthető chorioidea érújdonképződés (angiogenezis) kezelésére, egy az ezek modelljének tekinthető, endotoxinnal kiváltott gyulladásmóddal kapott kedvező eredmények alapján (Noda et al., 2008a,b). Ezen túl, diabéteszes retinopátia állapotmodelljén végzett vizsgálatok szintén alátámasztják a VAP-1 inhibitorok alkalmazhatóságát a diabétesz e szövödményének kezelésére és megelőzésére is (Noda et al., 2009).

A mi célunk a VAP-1/SSAO további szerepének vizsgálata különféle szemészeti gyulladással betegségek patomechanizmusában, és ezzel is összefüggésben, a gátlószerek potenciális terápiás értékének elemzése (Énzsöly et al., 2011). E vizsgálatokhoz egy rágcslómodell alkalmaztunk. Egy bakteriális lipopoliszacharid bejuttatásával szisztémás gyulladást indukáltunk, majd a szem elülső (elülső csarnok) és hátsó szegmensének (chiororetinitisz) érintettségét szövettani vizsgálattal igazoltuk. A VAP-1/SSAO-gátló vegyületek vizsgálatát különböző dózisokban végeztük, kontrollszereként a szemészetben alkalmazott szteroid és nem szteroid gyulladásgátlókat használtunk. Eddigi tapasztalataink alapján az inhibitorokkal előidézett VAP-1/SSAO-gátlás jelentősen, mintegy ötödére csökkentette a gyulladással sejtek számát a szem elülső és hátsó szegmensében egyaránt. Ezen akut modellben a VAP-1/SSAO-gátlás hatását 24

órán át tartó gyulladásban vizsgáltuk. További kísérleteket végzünk krónikus hatásuk vizsgálatához.

Következtetések

Az SSAO/VAP-1 gátlása számos gyulladással, közöttük terápiás szempontból megoldatlan és népegészségügyi szempontból jelentős, például szemészeti, különféle gyulladással és onkológiai betegségek esetében kedvező terápiás hatást eredményezhet. E hatásmechanizmussal fejlesztett originális készítmény azonban még nem került forgalomba. Saját kutatási eredményeink és jelenleg folyó vizsgálataink hozzájárulhatnak a gátlószerek értékének precízebb megítéléséhez.

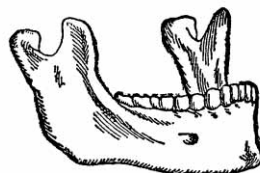
Az egyik találmányi bejelentésünk tárgyát képező új gyógyszerkéimiai koncepció és egy, az azt megvalósító új SSAO-gátló vegyület, valamint egy további találmányunk tárgyát képező, egy ismert gyógyszer SSAO-gátló hatására vonatkozó felismerésünk és annak terápiás kiaknázása, a jelenleg alkalmazott gyógyszerterápiák mellett értékes alternatívát nyújthatnak bizonyos szemészeti vagy más gyulladással betegségek kezelésére.

A munkát a TÁMOP-4.2.1.B-09/1/KMR-2010-0001 számú projekt támogatta. A projekt az Új Magyarország Fejlesztési Terven keresztül az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap és az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Kulcsszavak: *szemikarbazid-szenzitív aminoxidáz/vaszkuláris adhéziós protein-1, gyulladással szemben betegségek, uveitisz, új gyulladásgátló*

IRODALOM

- Almulki, L. – Noda, K. – Nakao, S. et al. (2010): Localization of Vascular Adhesion Protein-1 (VAP-1) in the Human Eye. *Experimental Eye Research*. 90, 26–32.
- Dunkel P. – Gelain, A. – Barlocco, D. et al. (2008): Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase/Vascular Adhesion Protein 1: Recent Developments Concerning Substrates and Inhibitors of a Promising Therapeutic Target. *Current Medicinal Chemistry*. 15, 1827–1839.
- Dunkel P. – Balogh B. – Meleddu, R. et al. (2011): Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase/Vascular Adhesion Protein-1: A Patent Survey. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 21, 9, 1453–1471.
- Énzsöly A. – Dunkel P. – Récsán Z. et al. (2011): Preliminary Studies of the Effects of Vascular Adhesion Protein-1 Inhibitors on Experimental Corneal Neovascularization. *Journal of Neural Transmission*. 118, 7, 1065–1069.
- Hiraoka, A. – Ohtaka, J. – Koike, S. et al. (1988): Inhibition of Copper-containing Amine Oxidase by Oximes. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 36, 3027–3031.
- Kanski, J. J. (2007): *Clinical Ophthalmology—A Systematic Approach*. Butterworth-Heinemann, Edinburgh
- Mátyus P. – Magyar K. – Pihlavisto, M. et al. (Semmelweis Egyetem) (2010): *Compounds for Inhibiting Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase (SSAO)/Vascular Adhesion Protein-1 (VAP-1) and Uses Thereof for Treatment and Prevention of Diseases*. WO2010029379
- Mátyus P. – Magyar K. – Pihlavisto, M. et al. (Semmelweis Egyetem) (2011): *Compounds for Inhibiting Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase (SSAO)/Vascular Adhesion Protein-1 (VAP-1) and Uses Thereof for Treatment and Prevention of Diseases*. US 2011/0263567
- Mličková, K. – Šebela, M. – Cibulka, R. et al. (2001): Inhibition of Copper Amine Oxidases by Pyridine-Derived Aldoximes and Ketoximes. *Biochimie*. 83, 995–1002.
- Noda, K. – Miyahara, S. – Nakazawa, T. et al. (2008a): Inhibition of Vascular Adhesion Protein-1 Suppresses Endotoxin-Induced Uveitis. *The FASEB Journal*. 22, 1094–1103.
- Noda, K. – She, H. – Nakazawa, T. et al. (2008b): Vascular Adhesion Protein-1 Blockade Suppresses Choroidal Neovascularization. *The FASEB Journal*. 22, 2928–2935.
- Noda, K. – Nakao, S. – Zandi, S. et al. (2009): Vascular Adhesion Protein-1 Regulates Leukocyte Transmigration Rate in the Retina During Diabetes. *Experimental Eye Research*. 89, 774–781.
- Salmi, M. – Jalkanen, S. (2011): Homing-Associated Molecules Cd73 and Vap-1 as Targets to Prevent Harmful Inflammations and Cancer Spread. *FEBS Letters*. 585, 1543–1550.



Terápia
3

CÉLKERESZTBEN A DAGANATOS BETEGSÉG

Ádám-Vizi Veronika

az MTA rendes tagja,
Semmelweis Egyetem Ált. Orvostudományi Kar
Orvosi Biokémiai Intézet
veronika.adam@eok.sote.hu

Ligeti Erzsébet

az MTA levelező tagja,
Semmelweis Egyetem Ált. Orvostudományi Kar
Élettani Intézet
ligetierzsabet@gmail.com

Matolcsy András

az MTA doktora,
Semmelweis Egyetem, Ált. Orvostudományi Kar
1. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet
matolcsy@korbi.sote.hu

Hunyady László

az MTA levelező tagja,
Semmelweis Egyetem Ált. Orvostudományi Kar
Élettani Intézet
laszlo.hunyady@eok.sote.hu

Mandl József

az MTA tagja,
Semmelweis Egyetem Ált. Orvostudományi Kar
Orvosi Vegytani, Mol. Biol. és Patobiokémiai Int.
jozsef.mandl@eok.sote.hu

Tímár József

az MTA doktora,
Semmelweis Egyetem Ált. Orvostudományi Kar
2. sz. Patológiai Intézet (modulvezető)
jtimar@gmail.com

Célkitűzések

Hazánk népegészségügyi szempontból egyik stratégiai problémáját már évtizedek óta a rosszindulatú daganatos betegségek jelentik. Bár az elmúlt években paradigmaváltásnak lehetünk szemtanúi a daganatos betegségek kezelésében, mind a mai napig hazánkban 35 ezer beteg hal meg évente és közel 75 ezer új beteget fedeznek fel. Ennek a hatalmas betegpopulációnak (becslések szerint 200 ezer beteg) sorsának jobbra fordulása csak a legkorszerűbb bio- és géntechnológiai eljárások csatasorba állításától, az igazi evidencialapú gyógyítástól várható. A Semmelweis Egyetem hazánk egyik rákgyógyászati központja a maga évi 15–20 ezer fekvő- és sok száz ezres

daganatos járóbeteg forgalmával, akik gyakorlatilag lefedik a hazai rákepidemiológia szinte teljes palettáját. A klinikai onkológia paradigmaváltása gyakorlatilag a molekuláris medicina megvalósulásának köszönhető, az onkológia területén létrehozva a molekuláris onkológiát. Ennek a gyakorlatban két meghatározó ága fejlődött ki a szemünk láttára: a molekuláris diagnosztika és a molekuláris terápia. A transzlációs kutatások az igen költséges célterápiák racionális (szakmai értelemben) és költség-hatékony (OEP-finanszírozás) alkalmazásának teremtheti meg a protokolláris és evidenciákra alapozott alapjait. A daganatos betegség komplex, mivel a szervezet sorsát nemcsak az agresszív daganat, hanem a gazdaszervezet válaszreakciója, illetve annak

hiánya, valamint általános (kóros) állapota, kísérőbetegségei legalább annyira befolyásolják. Hazánkban különösen gyakran kell azzal szembenéznünk, hogy a leggyakoribb népbetegségek, az ateroszklerózis, a diabétesz, a neurodegeneratív kórképek együttesen fordulnak elő a daganatos betegséggel. Ennek fényében egyértelmű, hogy a rákbetegek esetében a daganat elleni terápiát hatékonyan kell kombinálni az egyéb betegségek kezelésével: nem szabad interferálni a citotoxikus vagy célzott kezelésekkel, ugyanakkor optimális állapotba kell hozni a gazdaszervezetet, hogy hatékony legyen a daganat elleni küzdelemben.

*Mindezek figyelembevételével
kutatás-fejlesztési programunkat
az alábbiakban határoztuk meg:*

Rosszindulatú daganatok esetében elemezzük, hogy

1. a primer vagy az áttéti tumor genotípusára érdemes-e alapozni a kezelést;
2. a kemoterápia iránti érzékenységet multigén-mintázat alapján lehet-e jósolni;
3. megkísérünk molekuláris célpontot azonosítani májrákban, illetve
4. malignus melanómában.

A haematopoetikus daganatok esetében jellemezzük

1. a krónikus mieloid leukémia és
2. a B-sejtes non-Hodgkin-limfóma genetikai progresszióját, valamint
3. elemezzük a mikroökönyezet moduláló szerepét.

A daganatos beteg vonatkozásában

1. vizsgáljuk, hogy az endoplazmás retikulum lehet-e a metabolikus szindróma új terápiás célpontja;
2. tanulmányozzuk a G-fehérjékhez kapcsolt receptorok működésének mecha-

nizmusát kóros és normál körülmények között, terápiás lehetőségek feltárása céljából;

3. neurodegeneratív kórképek esetében hatékony(abb) terápiás elveket kívánunk megvizsgálni, végül
4. mikropartikulum-alapú új antiszeptikus terápiás eszközt dolgozunk ki.

EREDMÉNYEK

*Célkeresztben a szolid daganat
(Dr. Timár József)*

A daganatos betegek disszemináció miatt hunynak el, azonban a végső stádiumú rákot genetikailag alig ismerjük. Egyetemünkön a holttestek boncolásának gyakorisága lehetővé teszi, hogy a világon egyedülálló áttéti rák DNS-bankot alakítsunk ki a gyakori daganatfeleségek megismerésére. A mintagyűjtés megkezdése óta többszörös melanóma-, tüdőrák- és emlőrák-eseteket sikerült archiválni. A munka során új, vákumos natív minta tárolási eljárást dolgoztunk ki és validáltunk, mely egyhetes intervallumban biztosít szöveti és nukleinsav megőrzöttséget.

Disszeminált daganat kezelése a primer tumor genotípusára alapozva • Emlődaganatok sejtkapcsoló fehérje (klaudin) kifejeződését végeztük primer tumorokban, nyirokcsomó-, illetve szervi metasztázisaikban. Véleményünk szerint a nyirokcsomóáttétek klauudin-1 és -4 expressziója prognosztikus jelentőséggel bírt. A bizonytalan kimenetű grade 2 differenciáltágú emlődaganatok prognosztikus kilátásainak előrejelzésére génexpressziós mintázatot dolgoztunk ki. A tumoros betegség kimenetét kromoszómális instabilitást tükröző markerek segítségével jósoljuk meg. A rutin diagnosztikában is használható, a relapsusmentes túlélést magas szignifikan-

ciával előrejelző Claudin-Cadherin Score-t (CURIO) állítottunk fel, mely a kludin-4 és az E-cadherin immunhisztokémiával detektálható expressziójának mértékéből képezhető. A CURIO az ösztrogénreceptor-pozitív és a tripla negatív emlőrák alcsoportokban is független prognosztikai faktornak bizonyult a statisztikai elemzés során. A teljes betegcsoportban a magas score rosszabb, az alacsonyabb jobb prognózist jelzett, ám érdekes módon a magas proliferációs aktivitású luminalis B csoportban fordított volt az eredmény: a magasabb score-érték jobb, az alacsonyabb rosszabb prognózissal társult (Szász et al., 2011). 387 emlőrákmintát vizsgáltunk szöveti mikrosorozatokban, ahol a sejtciklus-szabályozó fehérjék expresszióját elemeztük (MCM2, geminin, MCM6, H-H3-SP, PLK-1, Cyclin A, Ki67). A Ki67-expresszió mértéke korrelált legjobban a mitózisszámmal, a cyclin A expresszió pedig a DNS-ploiditással. A relapsusmentes túlélést a valamennyi fehérje expressziójából képzett meta-score jelezte, igen magas szignifikanciával (Dr. Kulka Janina).

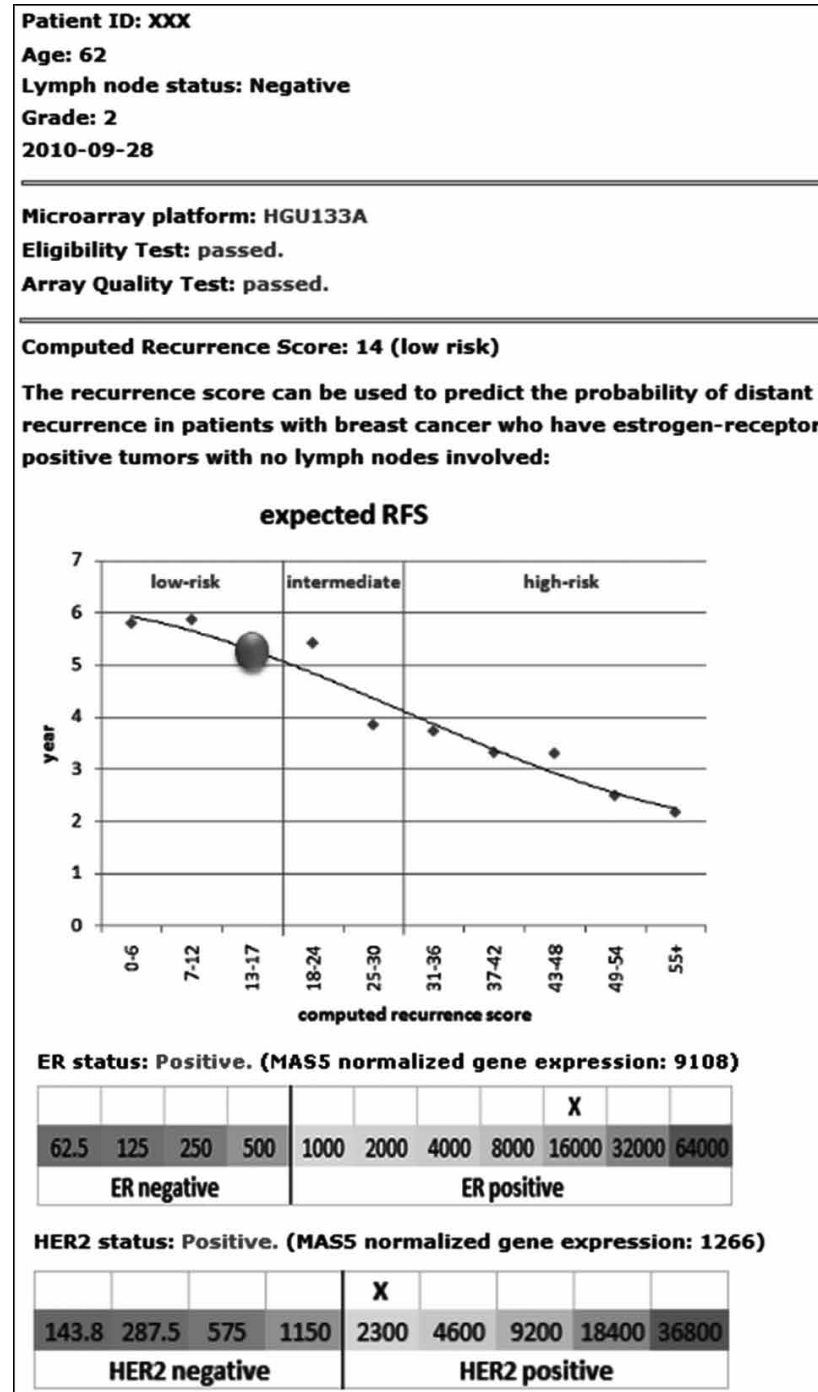
Emberi veserákok esetében az egyik típusos áttétképzési mód a csontáttét. Primer vesetumorok és csontáttéteik HIF-regulált génexpressziós mintázatát elemeztük RNS- és fehérjeszinten. Prognosztikus értékűnek találtuk a HIF1 α , HIF2 α , VEGFR2 és EPOR fokozott expresszióját. A veserák-csontáttétekben fokozott, elsősorban a lipidkináz jelpályát érintő EGFR-aktivitást észleltünk, ami újszerű terápiás stratégiák tervezését segítheti elő. Fejnyaki laphámrákokban a célterápia szempontjából fontos EGFR-génhibákat és expressziós mintázatot elemezve megállapítottuk, hogy az esetek 40%-ában emelkedett kópiaszám és ehhez kapcsolatos VIII deléciós mutáció észlelhető, ami a nyirokcsomóáttétekben is megmarad.

Új lipidomikai módszert teszteltünk hetvenegy emberi vastagbélrák esetében (primer tumor és májjáttétek). Az eljárás a szövettani daganat elkülönítéshez hasonló érzékenységgel képes a lipidprofil alapján vastagbélrákszövetet azonosítani. Az eljárás érzékenysége jellemző, hogy lipidomikai alapon a K-RAS-mutáns és vad típusú daganatok is elkülöníthetők, sőt a mutáns csoporton belül ilyen mintázat alapján a 12-es vagy 13-as mutáns kodont hordozó tumorok is elkülöníthetők.

Az emlőrákok kemoterápia iránti érzékenységeinek predikciója multigénmintázat alapján (Dr. Kulka Janina)

Létrehoztunk egy integrált adatbázist, amely 2472 emlőrákos beteg túlélési és génexpressziós adatait tartalmazza (22 277 gén). Kaplan-Meier-módszerrel meghatároztuk azon gének csoportját, amelyek a fenti betegekben a túlélés előrejelzésére alkalmazhatóak. A kifejlesztett *on-line* prediktor már rendelkezésre áll a kutatók számára: www.recurrenceonline.com (Gyórfy et al., 2012) (1. ábra). A genetikai emlőrákprediktor eljárások igen költségesek, ezért igyekeztünk minimalizálni a vizsgálandó gének körét, és egy kétféles, úgynevezett TOP-FOX génpár expressziót dolgoztunk ki (TOPO2A+ FOXM1), mely hasonlóan hatékony: kutatásaink szerint a daganat kromoszóma-instabilitásával függ össze.

Negyvennégy neoadjuvánsan kezelt emlőtumoros beteg mintáiban vizsgáltuk az AURKA- és a gamma-tubulin expressziót. Szignifikánsan magasabb gamma-tubulin expresszió (centrosoma amplifikáció) volt kimutatható a patológiai komplett remissziót mutató betegcsoportban, szemben a részlegesen vagy egyáltalán nem reagáló betegekkel ($p=0,03$), így hasznos prediktív marker kifejlesztésére nyílik mód.



1. ábra • Recurrenceonline emlőrákprediktor-vizsgálat lelete

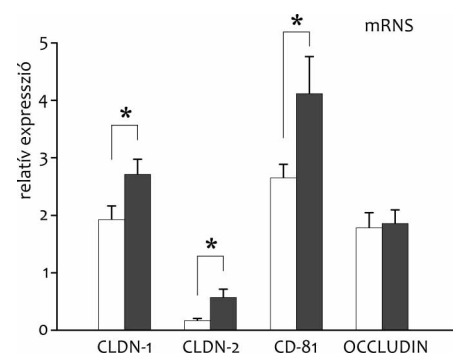
A tripla-negatív daganatok különösen agresszív molekuláris altípusát képezik az emlőrákoknak, melyet hormonreceptor-negativitás, a HER-2-génhiba hiánya és EGFR-expresszió jellemez. Felmerült bennünk hogy a RAS-jelpálya érintett lehet ebben a daganatfélésegekben, ezért kilenc tripla-negatív emlőrákban elemeztük a K-RAS-kodon12/13 mutációt. Vizsgálataink szerint az esetek harmadában (3/9) klasszikus kodon12 mutációt észleltünk, amely gyakoriság nagyban hasonlít a vastagbélrákokéhoz. Ezt az eredményünket nagyobb anyagon kívánjuk igazolni, mivel amennyiben ez megerősítést nyer, ez a daganattípus is az EGFR-célterápiák iránti rezisztens csoportot gyarapíthatja (vastagbélrák, tüdőrák, hasnyálmirigyrák).

Molekuláris célpont-azonosítás primer májrákban (Dr. Schaff Zsuzsa)

A máj hepatocita eredetű tumoraiban a klaudin-4 sejtkapcsoló fehérje nem expresszálódik, ellentétben az epéut eredetű daganatokkal (Patonai et al., 2011). Az utóbbi, mivel a klostrium perfringens enterotoxin receptora, diagnosztikus tumormarkerként és terápiás célpontként is felhasználható. A klaudin-1 expresszió viszont jelentősen megnövekszik cirózisban és hepatocelluláris karcinómában. Ugyanakkor előzetes eredményeink alapján a klaudin-1 tumorszuppresszorként gátolja a májtumork növekedését. A hepatocelluláris karcinóma egyik legfontosabb okozója a hepatitis C vírus (HCV). Vizsgálataink során tanulmányoztuk a HCV-fertőzés kialakulásában szerepet játszó receptorok, így a CD81, a scavenger receptor class B1 és a klaudin-1/6 és okcludin szerepét a fertőzés krónikussá válásában és összefüggését egyéb sejtkapcsoló struktúrával. A transzplantált humán májak-

ban újra kialakuló HCV-hepatitis megjelenése során a CLDN-1 mRNS- és fehérjeszintje is megnövekedett, ezzel szemben a CD81 fehérjeexpresszió lecsökkent a reinfekció során (Zádori et al., 2011), ami szignifikánsan változott az IFN-kezelés után (2. ábra). Miután a CD81-fehérje csökkenése közben az mRNS-expresszió nem változott, ez felveti a mikroRNS-szabályozás lehetőségét.

A májsejtek mikroRNS készletének 70%-át a MIR-122 mikroRNS alkotja. A MIR-122 kimutatásának beállítását a patológiai diagnosztikai gyakorlatban leggyakrabban használt két mintatípuson, a formalinfixált, paraffinba beágyazott mintákon (FFPE), illetve friss fagyasztott mintákon végeztük. A MIR-122 mind a fagyasztott, mind a paraffinos mintákon detektálható volt 10 ng totál RNS-ből kiindulva. A legkifejezettebb MIR-122-expressziót a normál máj mutatta. A MIR-122 a krónikus hepatitis C vírusfertőzés során csökkent expressziót mutatott a normál májhoz képest. A HCV-rekurrencia során a MIR-99a-expresszió szignifikánsan emelkedett, míg a MIR-33, a MIR-21 és a MIR-194 expressziója szignifikáns csökkenést mutatott



2. ábra • HCV-receptorok expressziójának változása HCV-reinfekció IFN-kezelése során májtranszplantált betegekben

a normál májhoz képest. A CLDN-6 mRNS-szint is csökkent a HCV-rekurrencia során.

A továbbiakban a klaudin-1 és a MIR-122, MIR-221, valamint a MIR-96 expresszióját vizsgáltuk a májrák kialakulásában szerepet játszó szteatotikus és nem szteatotikus krónikus HCV-hepatitisben, valamint nem HCV-fertőzött, elzsírosodást mutató és nem mutató májmintákban: 18 HCV⁺ [1/b genotípus] minta szteatózissal; 28 HCV⁺ minta szteatózissal; 18 HCV negatív minta, szteatózissal és 6 normál FFPE-minta). A MIR-122 és a MIR-221-expresszió mindegyik csoportban csökkent volt a normál mintákhoz képest. A legkisebb expresszió a HCV-pozitív, nem szteatotikus csoportban volt mérhető, míg a legmagasabb expresszió a HCV-negatív, zsíros degenerációt mutató mintákban volt kimutatható. Összességében tehát a HCV-fertőzés önmagában a szteatózishoz képest emelkedett, de nem szignifikáns MIR-122-expressziót eredményezett. Ezzel ellentétben a MIR-96-expresszió mindegyik csoportban magasabb volt a normál májhoz képest, és a legmagasabb értékeket a zsíros degenerációt mutató (akár HCV-pozitív, akár HCV-negatív) mintákban mértük. Ezen belül a HCV⁺/szteatózissal csoportba képest kétszer nagyobb expressziót mutatott a HCV⁺/szteatózissal-negatív csoportba képest. Az emelkedett MIR-96-expresszió a vizsgálatok alapján a szteatózissal karakterisztikus marker lehet. A zsíros degenerációval a klaudin-1 expressziója is pozitív korrelációt mutatott. A hepatokarcinogenezis kapcsán észlelt MIR-221-emelkedés ezen csoportokban nem volt észlelhető, ellenkezőleg, csökkent expressziót találtunk a krónikus HCV-hepatitisben és a szteatózissal. Ez megerősíti azt, hogy a MIR-221 a hepatocelluláris karcinoma markereként lenne felhasználható.

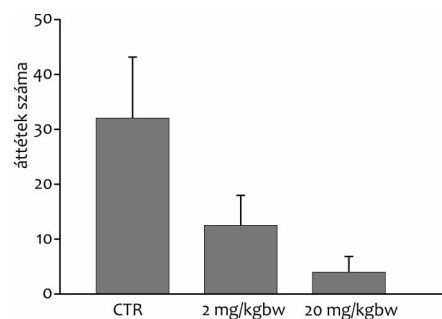
Molekuláris terápiás célpont-keresés malignus melanómában

A melanómás betegek terápiája drámai változás előtt áll a célzott terápiák korszakának beköszöntével, azonban a betegek egy jelentős csoportjának továbbra is marad a konvencionális citokinterápiára (interferon – IFN). Ennek személyre szabott alkalmazását segíti elő, hogy egy 32 génből álló rezisztenciamentázatot határoztunk meg a primer tumorokban, melynek csak 15%-a tartozik a klasszikus IFN-regulált gének közé. Megvizsgáltuk, hogy az IFN-rezisztenciamentázat milyen kapcsolatban áll az áttétképzéssel: 13 génje függetlennek bizonyult, azonban egy hatgénes csoport egyben ún. metasztatikus mintázatot képez: közülük 2 IFN-szabályozott gén. Egy ettől eltérő hétgénes mintázat alkotta az ún. metasztázis-kezdő génmintázatot (a primer tumorban) és egy négygénes csoport a metasztázis-fenntartó génmintázatot (az áttétekben): mindkét csoportban 2–2 gén az IFN direkt szabályozása alatt áll (Tímár et al., 2010). Mindezen eredmények arra utalnak, hogy a malignus melanóma IFN-rezisztenciája genetikailag az áttétképző képesség kialakulásához kapcsolódó folyamat. A génexpressziós mintázat validálása során fény derült arra, hogy egyes génalkotói (IL13R1 és NID1) a fokozott expresszióval párhuzamosan új hasítási formákban jelentkeznek. Megkezdjük az emberi melanóma metasztatikus mikro környezetének genetikai elemzését, ami során a CCL12 kemokin szerepét igazoltuk.

Genetikai vizsgálataink során a korszerű célterápiák egyik népszerű célpontjának, az EGF-receptornak genetikai eltéréseit elemeztük emberi melanómákban, és azt találtuk, hogy nagy gyakorisággal fejeződnek ki ún. hasítási variánsok és kisebb mutációk, delé-

ciók, melyek valamennyien a ligandkötő extracelluláris szakaszt érintik. Előzetes megfigyeléseink szerint ezek a variánsok is fokozott aktivitáshoz vezetnek, és ezzel potenciális gyógyszer-célpontot képezhetnek (3. ábra). *In vitro* vizsgálataink során kiderült, hogy a parakrin EGF (és a bFGF) elsősorban motogén hatást vált ki emberi melanómasejteken, de ennek feltétele az, hogy a daganatsejtekben az EGFR-jelpálya genetikailag ép legyen (N-RAS és B-RAF vad típusú).

Array-vizsgálatok felvetették a CNR1 kanabinoid receptor expresszióját emberi melanómában, melyet sejtvonalakon és emberi melanómákban is igazoltunk, bemutatva a vad típusú gén jelenlétét. A CNR1 szintetikus agonistákkal és antagonistákkal történő modulálásának antiproliferatív, antimigratórikus és proapoptotikus hatása volt, melynek *in vivo* következménye specifikus antimetasztikus hatás volt preklinikai modellben. Elemeztük a B-RAF, N-RAS, illetve kettősvad genotípusú melanómák érzékenységét prenilációgátlásra *in vitro* és *in vivo*: megállapítottuk, hogy az N-RAS mutáns sejtek rezisztensek, míg a B-RAF sejtek érzékenyek. Ennek klinikai jelentősége az, hogy a jelenleg bevezetett



3. ábra • EGFR tirozinkináz-gátló Iressa hatása EGFR-génhibával rendelkező emberi melanóma májáttétképzésére SCID-egérben

B-RAF-gátló szerek csak a mutáns melanómákban hatnak, és csak átmenetileg, így a prenilációgátlás másodvonalon szóba jöhető opció lehet. Nagyobb beteganyagban elemeztük a B-RAF mutáció hatását a bőr melanómáprogreessziója szempontjából, és megállapítottuk, hogy ez a genetikai sajátosság fokozott szervi áttétképző képességgel jár.

A HIF transzkripciós faktor fokozott aktivitása számos daganat progressziós képességének alapja, így a melanómáé is. Újabban fény derült arra, hogy a Zn specifikusan képes felfüggeszteni aktivitását. Vizsgálataink szerint a ZnSO₄ *in vitro* és *in vivo* körülmények között jelentős szelektív antiproliferatív és antimetasztikus hatással rendelkezik humán melanóma preklinikai modelljében, amikor a normális sejtek (endothel, fibroblasztok) érzéketlenek.

Célkeresztben a hematopoetikus rendszer daganatai (Dr. Matolcsy András)

A krónikus mieloid leukémia (CML) progressziója során kialakuló genetikai léziók kimutatása.

A CML-ben szenvedő betegek közel harmada rezisztenciát mutat a betegség hátterében álló fúziós géntermék- (BCR-ABL) specifikus terápiára, az imatinibre. Munkánk során olyan szekvenáló eljárást állítottunk be, amely specifikus a BCR-ABL-génre és a normál ABL-gént nem amplifikálja, ezáltal alkalmas a mutációk érzékeny kimutatására. Vizsgálataink során közel 160 rezisztens beteg vizsgálatát végeztük, melynek során harmincegy betegben mutattunk ki mutációt. A rezisztencia mutációk tizenöt beteg esetében meghatározták a II. generációs tirozin kináz inhibitor (TKI) terápiát (nilotinib *versus* dasatinib). Két esetben mutattunk ki teljes

TKI-rezisztenciát mutató T315I-mutációt. Tizenhárom esetben mutattuk ki az abl gén 7 exon delécióját, amelynek rezisztenciát okozó hatása a jelen adatok alapján kérdéses. Két esetben mutattuk ki a 8 és 9 exon között 35 bázis inzercióját, mely a BCR-ABL-konformáció változását okozza, amely által nem tud kötődni az imatinib.

B-sejtes non-Hodgkin-limfómák progressziójában szerepet játszó genetikai léziók kimutatása

A krónikus limfocitás leukémia (CLL) a betegek 5–30%-ában magasabb malignitású limfómává transzformálódik. Munkánk során CLL-es betegek formalinban fixált paraffinba ágyazott nyirokcsomómintáiban del(11)(q23), del(13)(q14), del(17)(p13) és +12 genetikai eltéréseket mutattunk ki fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) módszerrel. A nyirokcsomók pszeudofolikulusaiban (PF) szignifikánsan nagyobb arányban fordultak elő kromoszóma-aberrációk a környező interfolikularis területekhez viszonyítva. A genetikai eltérések PF-okban történő felhalmozódása arra utal, hogy a CLL genetikai progressziója és transzformációja feltehetően ezen proliferációs centrumokban kezdődik (Balogh et al., 2011). A progresszió kiindulásának lokalizálása céljából fehérvérsejteket szeparáltunk a CLL által érintett predilekciós helyekről, a nyirokcsomókból, perifériás vérből és csontvelőből. A szeparált tumorsejtekből DNS-t, RNS-t és miRNS-t izoláltunk, majd array-CGH, mátrix-CGH (M-CGH) és teljes génexpressziós array-vizsgálatot végeztünk. Eredményeink alapján a legtöbb genetikai eltérés a perifériás vérben megtalálható tumorsejtekben észlelhető, a legkevesebb viszont a nyirokcsomó malignus sejtjeiben.

A mikrokörnyezet szerepe a limfómatranszformációban

Harmincöt follikuláris limfómás (hús csontvelői infiltrációt mutató és tizenöt csontvelői infiltrációt nem mutató) beteg nyirokcsomómintán a reaktív immunsejtekre vonatkozó immunhisztokémiai reakciókat végeztünk. Eredményeink alapján a CD8 pozitív citototoxicus T-limfociták és a CD68-pozitív macrofágok denzitása prognosztikus értékű a csontvelői infiltráció kialakulása tekintetében. Összehasonlító vizsgálatokat is végeztünk a hús csontvelői manifesztaációval rendelkező FL csontvelői és nyirokcsomómintákon a reaktív mikrokörnyezet tekintetében. Szignifikáns különbség volt kimutatható az egyazon beteghez tartozó tumoros nyirokcsomó és csontvelői infiltrátum CD8+ T-sejt, a CD68+ macrofágok, PD1+ helper T- és a FOXP3+ regulator T-sejt tekintetében. Eredményeink összhangban vannak az eddig ismert teóriákkal, miszerint a tumorsejtek importálják magukkal a számukra túlélési szignálokat biztosító reaktív mikrokörnyezetet a csontvelőbe (Rajnai et al., 2012).

A primer csontlimfóma (PBL) ritka betegség, az extranodális limfómák kevesebb mint 5%-át teszi ki. Az esetek kb. 80%-a szövettanilag diffúz, nagy B-sejtes limfómának (DLBCL) felel meg. A prognózis kedvező, a túlélést befolyásoló legfontosabb tényezők az életkor és a betegség stádiuma. A germinatív centrum (GCB) és az aktivált B-sejtes (ABC) eredet a nodális limfómák esetében eltérő prognózist mutat, míg PBL esetében az eddigi vizsgálatok nem találtak összefüggést a túléléssel. Negyvenöt primer csont DLBCL-eset klinikopatológiai elemzését végeztük el. A sejteredet-meghatározási algoritmus alapján a negyvenöt PBDLBCL-es eset közül hu-

szonygy ABC- és huszonnégy GCB-eredetűnek bizonyult. Az ABC-eredetű csoportban a kezelés tizenhárom betegnél eredményezett komplett remissziót (62%), és hat beteg halt meg egy éven belül, míg a GCB-csoportban tizenkilenc beteg (83%) került komplett remisszióba, és három beteg halt meg – a két csoport túlélése szignifikánsan különbözött. A GCB-csoportban a tumoros mikrokörnyezet szignifikánsan több CD3+ limfocitát tartalmazott, és a CD4/CD8-arány is szignifikánsan magasabbnak bizonyult az ABC-csoportéhoz képest, és a CD3+ T-limfociták denzitása is prognosztikusnak bizonyult. Magasabb proliferációs rátát észleltünk a progresszív esetekben. A komplett remissziót mutató esetekben szignifikánsan több CD3+ T-limfocitát, illetve szignifikánsan több CD8+ cytotoxikus T-limfocitát észleltünk.

CÉLKERESZTBE A DAGANATOS BETEG: A MOLEKULÁRIS MEDICINA LEHETŐSÉGEI

Az endoplazmás retikulum lumen redox homeosztázisa: a metabolikus szindróma lehetséges terápiás célpontja
(Dr. Mandl József)

Az endoplazmás retikulum lumenében a citoplazmától elkülönült piridin-nukleotid-készlet (NAD(P)-NAD(P)H) található. Ennek redukált állapotát – ami elengedhetetlen a glukokortikoidok prereceptorális aktivációjához – elsősorban a hexóz-6-foszfát-dehidrogenáz tartja fenn. Mivel az enzim a citoplazmából bejutó glukóz-6-foszfátot használ fel, kulcsszerepet játszik az organelum tápanyagszenzor funkciójában. In vivo kísérleteinkben azt találtuk, hogy a táplálékfelvétel nagymértékben befolyásolja az endoplazmás retikulum redox státusát. Ennek megfelelően az organel-

um kortizoltermelő képessége jóllakott állapotban nő, és éhezésben progresszíven csökken. Bizonyítottuk az enzim „housekeeping” jellegét, ami összhangban van a tápanyagszenzor funkcióval. Bemutattuk hogy a lokális kortizoltermelést ezekben a sejtekben tehát a fruktóz-anyagcsere intermedierjei is serkenthetik, ami részben megmagyarázhatja a fruktóz elhízásban és a diabétesz kialakulásában játszott szerepét. Kimutattuk, hogy az ismert antidiabetikus és elhízásgátló hatással rendelkező epigallokatechin-gallát (EGCG) gátolja a máj mikroszóma kortizoltermelését, és ezt a hatást – a metiraponhoz hasonlóan – nem a részt vevő enzimek gátlása, hanem a luminális [NADPH]:[NADP] arány csökkentése révén fejt ki. A megfigyelés alátámasztja, hogy az endoplazmás retikulum luminális redox homeosztázisa potenciális gyógyszerátadáspont az elhízással kapcsolatos anyagcsere-betegségekben. A zsírsavdeszaturációban és a diabétesz patomechanizmusában fontos szerepet játszó, újonnan azonosított oxidoreduktáz, az Ncb50r természetes humán *missense* mutációit vizsgálva megállapítottuk, hogy két Glu-Gly cserét okozó mutáció gyorsítja a kódolt fehérje proteasomális lebontását, és ezáltal csökkenti az enzim féléletidejét. Sejtes és *in vivo* kísérleti eredményekkel támasztottuk alá a H₂O₂ fehérje-tioloxidációban betöltött szerepét. Kimutattuk, hogy az EGCG az ER-ben zajló N-glikoziláció gátlása révén egyes fehérjéket a proteasomális lebontás felé terel, aminek szerepe lehet a katekinek daganatellenes hatásában (Konta et al., 2011). Kiterjedt vizsgálatokat folytattunk a BGP-15 inzulinérzékenyítő, HSP-indukáló molekula hatásainak tisztázására. Kimutattuk, hogy a BGP-15 képes kivédeni egy antipszichotikum, az olanzepin metabolikus mellékhatásait (inzu-

linrezisztencia, elhízás). Kísérletesen indukált májkárosodásban (acetaminofen) a BGP-15 anti-apoptotikus hatása volt, és ezt a hatását a mitokondriális membrándepolarizáció befolyásolásán keresztül fejtette ki. (Literáti-Nagy et al., 2010)

G-fehérjéhez kapcsolt receptorok aktivációs modelljeinek elemzése
(Dr. Hunyady László)

A tervezett kutatás elvégzése érdekében olyan módszereket alkalmazunk, illetve fejlesztünk ki, melyek segítségével nyomon tudjuk követni különböző agonista, illetve antagonistavegyületek hatását a receptorok által szabályozott jelátviteli folyamatok működésére. Rezonancia energiáttranszferen alapuló módszereket állítunk be, melyek segítségével vizsgálni tudjuk különböző ligandok hatását a receptor b-arresztin kötésére, cAMP- és MAP-kináz aktiváló képességére (Balla et al., 2011). A 2-es típusú vazopresszin receptor (AVPR₂) veleszületett funkcióvesztéses mutációja nefrogén diabétesz inszzipidusz (nDI) klinikai képét okozza. Kísérleteink célja olyan vazopresszin receptor agonisták azonosítása, melyek képesek egyes betegséget okozó mutáns receptorok aktiválására. A receptor működésének nyomon követése érdekében elkészítettük a vad típusú AVPR₂ C-terminális fluoreszcens fehérjével (mVenus, corulean), valamint lumineszcens fehérjével (Sluc) jelölt változatait. Mindezen jelölt receptorokkal mérhetővé vált az agonista arginin-vazopresszin kezelés hatására bekövetkező β-arresztin kötődés élő adherens, HEK-293 sejtvonalban (Ligeti et al., 2012). A fentiek mellett szükség van a hormon celluláris jelátvitelének detektálására is. Mindehhez egy holland kutatócsoport által elkészített, és rendelkezésünkre bocsátott cAMP-függő Epac-aktiváló

dást mérő szondát alkalmazunk, amellyel sejtpopuláció-szinten tudjuk a cAMP-szint változásait detektálni, így a potenciális agonisták hatékonyságát vizsgálni. Kísérleteinkben az intracelluláris cAMP-szint mérésére használt FRET- (fluoreszcencia rezonancia energiáttranszfer) alapú Epac-bioszenzor segítségével nem tudtunk megfelelő jeleket detektálni. Ezért molekuláris biológiai módszerekkel elkészítettük az Epac bioszenzor BRET- (biolumineszcencia rezonancia energiáttranszfer) alapú verzióját is, mivel a BRET-módszeren alapuló mérések nagy előnye a FRET-mérésekkel szemben a nagy érzékenység. A Semmelweis Egyetem II. Belgyógyászati Klinikájának munkatársaival (Dr. Tóth Miklós, Dr. Patócs Attila, Prof. Dr. Rácz Károly) együttműködve azonosítottunk egy kongenitális nDI-betegben előforduló *missense*-mutációt az AVPR₂ génjében. A mutáció (N321K) egy aminosav cseréjét okozza a vazopresszin receptorban. Az előzetesen létrehozott bioszenzorok (receptorfüziós fehérjék) mutagenézisével az azonosított mutációt tartalmazó konstruktokat is elkészítettük. Adataink szerint a mutációt tartalmazó receptor fiziológiás koncentrációban adott vazopresszin, illetve a terápiában alkalmazott dezmozopresszin hatására nem hozta létre a vad típusú receptorra jellemző cAMP-szint-emelkedést, receptor – β-arresztin kapcsolódást, illetve MAP-kináz aktiválódást. További kísérleteinkben vizsgáljuk, hogy a mutációt tartalmazó receptor milyen egyéb tulajdonságai károsodtak, illetve különböző AVPR₂-ligandokat használva keressük olyan farmakonokat, melyek az N321K-mutációt tartalmazó receptor károsodott funkcióit helyreállítják. Beállítunk HEK293-sejtekből kiindulva egy transzpozonozos „Sleeping Beauty” (SB) rendszert, ahol az AVPR₂-mVenus DNS-t

egy SB-CMV-EGFP-vektorba klónoztuk. Ezek segítségével különböző mutáns receptorkat is tartalmazó sejtvonalakat hozunk létre, és így lehetőség nyílik különböző vegyületek AVPR2-aktiváló hatásának vizsgálatára.

Új metabolikus kutatások és eredményeik felhasználása a központi idegrendszer neurodegeneratív betegségeinek befolyásolásában (Dr. Ádám-Vizi Veronika)

Izolált mitokondriumokban kimutattuk, hogy amikor az elektron transzportlánc hibás vagy gátolt, az F₁F₀ATPase revertál, és a membránpotenciál megtartott mindaddig, amíg a matrix szubsztát foszforiláció működik, és nem következik be az adenin nukleotid transzlokáz (ANT) reverziója. Ezt a folyamatot igazoltuk tenyésztett neuronokban is, ahol a mitokondriumok légzési láncát blokkoltuk. A jelenséget COS-7-sejtekben és asztrocitákban is kimutattuk. Megfigyeléseink alapján létezik egy védőmechanizmus, amely gátolt sejtlégzés esetében megakadályozza a citoszolikus és magi ATP-depléciót.

Izolált aranyhüvely-mitokondriumokon kimutattuk, hogy nukleotidok jelenlétében a Ca₂₊ által indukált ROS-felszabadulás membránpotenciál-függő: depolarizált mitokondriumok esetében alig indukál a Ca₂₊ H₂O₂-felszabadulást. Ugyanakkor erősen polarizált mitokondriumok esetében a Ca₂₊ nem indukál mitokondriális ROS-felszabadulást. A jelenség független a mitokondrium membrán-permeabilitás változásaitól. Az alfa-glicerofoszfát dehidrogenáz jelentős szerepet tölt be a citoplazmában képződő NADH oxidálásában. Az enzim egy flavoprotein, mely a mitokondrium belső membrán citoplazma felőli részén helyezkedik el. Az enzimet kalciummal a citoplazma felől aktiválni lehet, és az aktiválást jelentős mennyi-

ségű ROS keletkezése kíséri. A ROS-k részben a Komplex I-en, részben a mátrixban, részben pedig magán az alfa-glicerofoszfát dehidrogenáz enzimen keletkeznek. Eddigi vizsgálataink szerint az enzim Na⁺-mal való aktivációja fokozza mind a mitokondriális ATP-, mind a mitokondriális ROS-képzést.

A továbbiakban a kalcium szerepét vizsgáltuk a reaktív oxigénszármazék-keletkezésben. Megállapítottuk, hogy az alkalmazott kísérleti körülményektől (alfa-glicerofoszfát-koncentráció, kalciumkoncentrációk) függően a ROS-képzésben három mechanizmus játszik szerepet: a reaktív oxigénszármazékok részben a komplex I-en, részben a mátrixban, részben pedig magán az alfa-glicerofoszfát dehidrogenáz enzimen keletkeznek. Tanulmányoztuk a metilmalonsav hatását a mitokondriális metabolizmusra, és megállapítottuk, hogy gátolja a szukcinát dehidrogenáz enzimet, valamint egy új, a citrát kör sebesség meghatározó lépését aktiváló hatással is bír.

A metil-malonsav (MM) számos katabolikus folyamat közös intermediere, felhalmozódása azonban súlyos, idegrendszeri tünetekkel is járó kórkép okozója. A betegségben a mitokondriumok diszfunkciójára utaló jelek is megfigyelhetők. Megállapítottuk (az irodalmi adatokkal összhangban), hogy a MM gátolja a szukcinát oxidációját, a gátlás kompetitív jellegű. Érdekes, új megfigyelésünk, hogy a MM hatására az alfa-ketoglutarát (a-KG) oxidációja szignifikánsan fokozódik. A MM oxidációt fokozó hatása tükröződik az ATP-termelés fokozódásában és a DYm hiperpolarizációjában is. A jelenséget magyarázhatja, hogy i) a MM fokozza az a-KG mitokondriális transzportját, ii) a mitokondriumokhoz adott MM maga is aktiválódik, és oxidálódik, iii) a MM fokozza az a-KGDHc aktivitását. Eredményeinket úgy interpretál-

juk, hogy a MM hatására legvalószínűbben az a-KG mitokondriális transzportja aktiválódik, de nem zárható ki a szukcinil-CoA – acetacetát transzferreakció analógiájára a szukcinil-CoA – metilmaloni-CoA transzfer lehetősége sem. Eredményeink arra utalnak, hogy az extracelluláris MM csak lassan jut be a sejtekbe, és a sejtkárosodást az intracellulárisan termelődő és nem a keringéssel transzportálódó MM okozza.

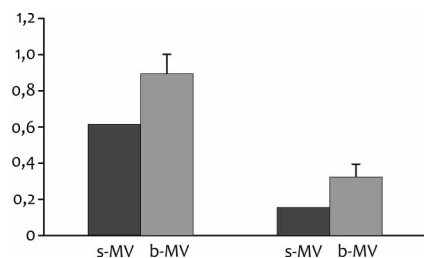
Elemeztük a dihidrolipoamid dehidrogenáz (LADH) patogén mutációinak funkcionális következményeit expressziós vektorban. Négy mutáció az LADH enzimaktivitásának csökkenésével, de ROS-generáló képességének fokozódásával járt. A genetikai változások nem eredményeztek konformációs eltéréseket. Az emberi LADH-hiányos betegségekben az antioxidáns terápia racionális megközelítés lehet (Ambrus et al., 2011).

A ciclofilin-D- (CD) hiányos egerek rezisztensek a fokális agyi isémiára és nekrozisra, de érzékenyek maradnak apoptózisra. A jelenséget agyszövetben, illetve izolált neuron és asztrocita mitokondriumokon elemeztük. A Ca₂₊ CD-függő módon indukált mitokondriális duzzadást, melyet complex I gátlás felfüggesztett. Asztrocitában, illetve neuronokban a CD eltérően vett részt a mitokondriális duzzadásban. Neuronokban a CD-hiányos mitokondriumok glutamátindukált duzzadása késleltetett volt. Ezen megfigyelések azt igazolják, hogy bizonyos körülmények között a CD véd agyi nekrozis kialakulása ellen (Doczi et al., 2011).

Mikrovezikulum mint új terápiás támadáspont a szepszis kezelésében (Dr. Ligeti Erzsébet)

Kimutattuk, hogy izolált neutrofil granulociták különböző stimulusok hatására mikrove-

zikulumokat képeznek, amelyek bizonyos körülmények között baktériumok növekedését képesek gátolni. Összehasonlítottuk az antibakteriális hatással rendelkező, valamint az antibakteriális hatást nem mutató mikrovezikulumokat. Áramlási citométerben nem találtunk különbséget a méret és granuláltság tekintetében. Az antibakteriális hatást mutató és azzal nem rendelkező mikrovezikula populáción proteomikai elemzést végeztünk. Mindegyik preparátumban 90 fehérjét sikerült 98%-os biztonsággal azonosítani: ezek között a legnagyobb mennyiségben antibakteriális fehérjéket, felszíni adhéziós proteineket, metabolikus enzimeket, valamint a citoszkeleton alkotórészeit találtuk. A proteomikai analízis sem HLA-antigéneket, sem NADPH oxidáz komponenseket nem talált. Ezen vizsgálatok alapján kimondhatjuk, hogy az általunk felfedezett mikrovezikulumok nem oxidatív mechanizmussal gátolják a baktériumok szaporodását. Kimutattuk, hogy glukóz hiányában elvész ezen mikrovezikulumok baktériumnövekedést gátló hatása. Részletesen megvizsgáltuk a proteomikai analízis eredményeit, és azt tapasztaltuk, hogy az antibakteriális hatással rendelkező mikrovezikulumokban számos, eredetileg neutrofil granulumban elhelyezkedő protein bedúsult. Megállapítottuk, hogy az antibakteriális hatással rendelkező vezikulákban legalább 50%-os dúsulást tapasztaltunk 29 fehérje esetében. Ezek közül 26 fehérje a neutrofil granulociták különböző granulumban elhelyezkedő populációinak ismert összetevője (például lactoferrin és myeloperoxidase, 4. ábra), tehát opsonizált részecske fagocitózisa során a keletkező mikrovezikulumokba halmozottan jutnak be a granulumban (Csépanyi-Kömi et al., 2011). A proteomikai elemzés eredményét sikerült immunblottal megerősíteni a laktoferrin, valamint a mielo-



4. ábra • Antibakteriális mikrovezikulumok (b-MV) lactoferritin- és myeloperoxidase-tartalma.

peroxidáz esetében. Immun-fluoreszcens vizsgálatokat végeztünk a granulomfehérjék vezikulán belüli lokalizációjának kimutatására. Nyugvó vezikulumban a mieloperoxidáz enzim csak a vezikula permeabilizálását követően festődik, tehát egyértelműen a vezikula belsejében helyezkedik el. A mikrovezikulumok eltarthatóságának vizsgálatában kimutattuk, hogy egy hétig -20°C -on történő tárolás – amit az exoszomák esetében más munkacsoportok kiterjedten alkalmaznak – az antibakteriális hatás elvesztését eredményezi. Az antibakteriális hatás specificitásának igazolására kimutattuk, hogy a kontroll vezikulumok számának növelésével nem lehetséges antibakteriális hatást elérni. A mikrovezikulumok gátolják az *S. aureus* és az *E. coli* növekedését, de nem hatásosak például a *P. mirabilis* ellen, antibakteriális hatásuk tehát bizonyos szelektivitást mutat.

Eredmények számokban

A kutatásokban tizenhárom főállású és huszonhárom részfoglalkozású kutató vett részt, tizenhárom új PhD-hallgató mellett. A kutatási eredményekről hatvanhat nemzetközi közlemény és harminchárom nemzetközi konferencia előadása ad számot, míg ezekből két szabadalom is született.

A résztvevők bemutatása

A Semmelweis Egyetem II. számú Patológiai Intézete az ország egyik meghatározó patológiai intézménye. Vezetője Dr. Tímár József, az MTA doktora. Hazai referenciaközpont az emlőrákok, a gasztrointesztinális- és urogenitális-, tüdő- és májdaganatok terén. Fő kutatási területek: a daganatok ereződése és az áttétképzés genetikája (vezetője Dr. Tímár József), a hepatokarcinogenezis (vezetője Dr. Schaff Zsuzsa akadémikus) és az emlőrák molekuláris patológiája (vezetője Dr. Kulka Janina egyetemi tanár). Közös kutatásokat végez az Semmelweis Egyetem I. számú Gyermekgyógyászati Klinika MTA-kutatócsoportjával (Dr. Györffy Balázs). Ezen kutatásokat három MTA doktori, kilenc PhD-fokozattal rendelkező kutató és hét PhD-hallgató végzi.

A Semmelweis Egyetem I. számú Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézete tíz éve tölti be a Magyarországi Onkohematológiai Centrum szerepét, vezetője Dr. Matolcsy András, az MTA doktora. Az onkohematológiai diagnosztikát az intézet „komplex” módon, morfológiai, citogenetikai, áramláscitometriai, és molekuláris módszerekkel végzi. Az onkohematológiai diagnosztikát mintegy tizenöt munkatárs, köztük három minősített orvos, három minősített biológus és kilenc technikus végzi. A munkacsoportot akadémiai doktor, egyetemi tanár vezeti. Az onkohematológiai munkacsoport egyik legfőbb feladata a hematológiai diagnosztika folyamatos fejlesztése, és a fejlesztések bevezetése a mindennapi rutin diagnosztikába.

A Semmelweis Egyetem Orvosi Biokémiai Intézet 1996-ban kapta jelenlegi elnevezését. Az intézetet hagyományai a metabolikus, az idegrendszeri és a hemosztázis kutatásokhoz

kötik. Az intézet igazgatója 1990-től Ádám Veronika, az MTA rendes tagja. Irányítása alatt vált a neurobiokémia az intézet meghatározó profiljává, és szintén ő a vezetője az intézetben működő MTA Neurobiokémiai kutatócsoportjának is. A Neurokémiai munkacsoport vizsgálja a neurodegenerációban és stroke-ban szerepet játszó bioenergetikai folyamatokat.

A Semmelweis Egyetem Orvosi Vegytani, Molekuláris Biológiai és Patobiokémiai Intézet vezetője Dr. Mandl József, az MTA tagja. Az intézetben működő munkacsoportok többek között a metabolikus szindróma különböző aspektusait vizsgálják, így az endoplazmás retikulum stressz, a humán genetikai polimorfizmusok szerepét, a chaperonok működését, a kinázgátló vegyületek lehetséges alkalmazását; emellett nagyobb, hálózatkutatással és tirozin kinázokkal foglalkozó munkacsoportok is működnek. Az intézet kutatói a közelmúltban két magyar fejlesztésű molekula sikeres, klinikai fázis-II vizsgálatának előkészítésében vettek részt. Az ER-stressz befolyásolásával, illetve kinázgátló molekulák hatásvizsgálatával preklinikai vizsgálatokat végeznek cukorbetegség-ellenes szerek kutatásában. Több EU-pályázatban – köztük két

nanotechnológiai – pályázatban vesznek részt intézeti kutatók.

A Semmelweis Egyetem Élettani Intézetében nemzetközi szinten is elismert kutatási és fejlesztési tevékenység folyik. Az intézet vezetője Dr. Hunyady László, az MTA levelező tagja. A hazai pályázati források mellett az intézet kutatói olyan jelentős nemzetközi támogatásokat nyertek el, mint a European Research Council, a Wellcome Trust, a Howard Hughes Medical Institute, illetve az MTA Lendület programjának támogatása, és az elmúlt években több sikeres NKTH által támogatott fejlesztési projekt is megvalósult. Az intézet több EU-pályázat megvalósításában vesz részt, melyek közül közül a *Tarkinaid projektben* a konzorcium vezetője Dr. Mócsai Attila, az Élettani Intézet egyetemi docense. Dr. Hunyady László akadémikus a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok kutatásának nemzetközileg elismert képviselője. Dr. Ligeti Erzsébet akadémikus munkacsoportja a kis G-fehérjék és ezek működését szabályozó elemeket kutatja, illetve vizsgálják a NADPH-oxidáz enzim szerepét az immunvédekezésben.

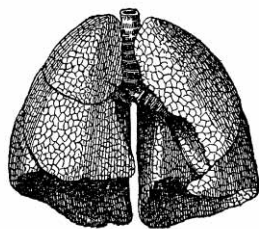
Kulcsszavak: molekuláris terápia, daganat, gazdaszervezet

IRODALOM

- Ambrus A. – Töröcsik B. – Tretter L. – Ozohanic O. – Ádám-Vizi V. (2011): Stimulation of Reactive Oxygen Species Generation by Disease-Causing Mutations of Lipoamide Dehydrogenase. *Human Molecular Genetics*. 20, 2984–2995.
- Balla A. – Erdélyi L. S. – Soltész-Katona E. – Balla T. – Vámai P. – Hunyady L. (2011): Demonstration of Angiotensin II-induced Ras Activation in the Trans-Golgi Network and Endoplasmic Reticulum Using Bioluminescence Resonance Energy Transfer-Based Biosensors. *Journal of Biological Chemistry*. 286, 5319–5327.

- Balogh Zs. – Reiniger L. – Rajnai H. – Csomor J. – Szepesi Á. – Balogh A. – Deák L. – Gagyai É. – Bödör Cs. – Matolcsy A. (2011): High Rate of Neoplastic Cells with Genetic Abnormalities in Proliferation Centers of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Leukemia & Lymphoma*. 52, 1080–1084.
- Csépányi-Kömi R. – Sirokmány G. – Geiszt M. – Ligeti E. (2011): ARHGAP25, A Novel Rac GTPase Activating Protein Regulates Phagocytosis in Human Neutrophilic Granulocytes. *Blood*. 119, 573–582.
- Doczi J. – Turiak L. – Vajda S. – Mandi M. – Torocsik B. – Gerencsér A. A. – Kiss G. – Konrad C. – Ádám-Vizi V. – Chinopoulos, C. (2011): Complex

- Contribution of Cyclophilin D to Ca²⁺-Induced Permeability Transition in Brain Mitochondria, with Relation to the Bioenergetic State. *Journal of Biological Chemistry*. 286, 6345–6353.
- Györfly B. – Benke Zs. – Lániczky A. – Balázs B. – Szálasi Z. – Tímár J. – Schäfer R. (2012): Recurrence Online: an online analysis tool to determine breast cancer recurrence and hormone receptor status using microarray data. *Breast Cancer Research Treatment*. (epub)
- Konta L. – Száraz P. – Magyar J. E. – Révész K. – Bánhegyi G. – Mandl J. – Csala M. (2011): Inhibition of Glycoprotein Synthesis in the Endoplasmic Reticulum as a Novel Anticancer Mechanism of (-)-Epigallocatechin-3-gallate. *Biofactors*. 37, 468–476.
- Ligeti E. – Welti S. – Scheffzek K. (2012): Inhibition and Termination of Physiological Responses by GTPase Activating Proteins. *Physiological Reviews*. 92, 237–272.
- Literáti-Nagy B. – Péterfai E. – Kulcsár E. – Literáti-Nagy Z. – Buday B. – Tóry, K. – Mandl J. – Sümegei B. – Fleming, A. – Roth J. – Korányi L. (2010): Beneficial Effect of the Insulin Sensitizer (HSP Inducer) Bgp-15 on Olanzapine-induced Metabolic Disorders. *Brain Research Bulletin*. 83, 340–344.
- Patonai A. – Erdélyi-Belle B. – Korompay A. – Somorácz A. – Straub B. K. – Schirmacher P. – Kovalszky I. – Lotz G. – Kiss A. – Schaff Zs. (2011): Claudins and Tricellulin in Fibrolamellar Hepatocellular Carcinoma. *Virchows Archiv*. 458, 679–688.
- Rajnai H. – Bödör Cs. – Balogh Z. – Gagyí E. – Csomor J. – Krenács T. – Tóth E. – Matolcsy A. (2012): Impact of the Reactive Microenvironment on the Bone Marrow Involvement of Follicular Lymphoma. *Histopathology*. (epub)
- Szász A. M. et al. (2011): Identification of a Claudin-4 and E-cadherin Score to Predict Prognosis in Breast Cancer. *Cancer Science*. 102, 12, 2248–2254.
- Tímár J. – Györfly B. – Rásó E. (2010): Gene Signature of the Metastatic Potential of Cutaneous Melanoma. *Clinical & Experimental Metastasis*. 27, 371–387.
- Zádori G. – Gellei F. – Törzsök P. – Sárváry E. – Doros A. – Deák A. P. – Nagy P. – Schaff Zs. – Kiss A. – Nemes B. (2011): Examination of Claudin-1 Expression in Patients Undergoing Liver Transplantation Owing to Hepatitis C Virus Cirrhosis. *Transplantation Proceedings*. 43: 1267–1271.



G-FEHÉRJÉHEZ KAPCSOLT RECEPTOROK AKTIVÁCIÓS MODELLJEINEK ELEMZÉSE

Balla András Erdélyi László Sándor

PhD • balla.andras@med.semmelweis-univ.hu

PhD-hallgató

Hunyady László

az MTA levelező tagja

Semmelweis Egyetem Általános Orvosi Kar Élettani Intézet

A G-fehérjéhez kapcsolt receptorok (GFKR) szupercsaládjába nagyszámú receptor tartozik, és az emberi genom egyik legnagyobb (a kódolt fehérjék kb. 3 %-a) családját alkotják. E receptorok többnyire a sejtmembránban helyezkednek el, és a belső környezetből (hormonok, neurotranszmitterek), illetve a külső térből érkező információ (fény, szagok, ízek) közvetítésében vesznek részt (Ferguson, 2001). A receptorok specifikus ligandfelismerő képessége kiváló terápiás célpontot jelent, és klinikai jelentőségüket jelzi, hogy a használatban lévő gyógyszerek többsége e receptorok működését befolyásolja (Ma – Zimmel, 2002). GFKR-ek ligandjuk kötését követően ún. heterotrimerikus G-fehérjéket aktiválnak, majd ennek következtében az adott receptorra jellemző sejten belüli jelpályák indulnak be, melyek kiváltják a sejtválaszt. A ligandkötése következtében azonban egyéb szabályozási mechanizmusok is aktiválódnak. Ide tartozik a deszenzitizáció (a receptor ligand iránti érzékenységének csökkenése), illetve a receptor internalizációja (bejutása a sejt belsejébe). A klasszikus receptortéória szerint a receptorok a működésük során egy aktív és

egy inaktív konformációt vehetnek fel. Az agonista ligand a receptor aktív konformációját okozza, míg a receptor nyugalmi állapotában vagy antagonist ligand kötésének hatására inaktív konformációt vesz fel. Az utóbbi években egyértelművé vált, hogy egy adott GFKR-nek több aktív konformációja is létezhet, ezért aktivációjakor többféle jelátviteli folyamat is létrejöhet, melyet egyes agonisták szelektíven befolyásolhatnak (ezt a jelenséget nevezik *biased* vagy jelátvitel-szelektív agonizmusnak) (Kenakin – Miller, 2010). Az elmúlt években nyilvánvalóvá vált, hogy a más-más receptorkonformációkhoz köthető, eltérő jelátviteli utak és receptorszabályozási útvonalak szelektív, útvonal-specifikus ligandok által befolyásolhatóak. Lehetséges például a receptor internalizációt szelektíven, G-fehérje-aktiválás nélkül elindítani, így a receptor működését leállítani. Ennek ellenkezője is megvalósítható: szelektív ligand alkalmazásával internalizáció és deszenzitizáció nélkül G-fehérje-aktiválást létrehozni, így kisszámú sejt felszíni receptorral is nagy sejtválaszt lehet elérni.

Számos olyan öröklődő betegséget ismerünk, amelyek hátterében a GFKR-ek mu-

tációja áll. A mutációk hatására a receptor funkciójának elvesztése különböző okokból történhet: gátolt lehet a receptor helyes másodlagos/harmadlagos struktúrájának kialakulása, és ezért a fehérje az endoplazmatikus retikulumban reked, nem jut ki a sejtmembránra; csökkenhet a receptor G-fehérje aktiválásának a képessége; csökkenhet a receptor ligandkötésének affinitása; illetve a receptor internalizációja fokozott, ezért a sejtfelszínen levő receptorok száma csökken. Arra is fény derült, hogy egyes receptormutációk más módon befolyásolhatják az egyes jelátviteli folyamatokat, tehát jelátvitel-szelektív mutációk is léteznek (Rajagopal et al, 2010). Ez új lehetőségeket teremt azoknak a betegségeknek a jobb megértésében és kezelésében, melyeket e receptorok mutációi okoznak. Egyes nem-peptid ligandok, például antagonisták (ún. farmakológiai chaperonok) használatával elérhető az is, hogy a mutáció következtében a sejt belsejében elhelyezkedő receptorokat a sejtfelszínre irányítsuk. Az ilyen típusú molekula elősegítheti az endoplazmatikus retikulumból való kijutást a sejtmembránra, de csökkentheti a receptor fokozott eltűnését is a sejtmembránról, így elősegítve a receptor normális működését.

A jelátviteli szelektív ligandok és receptor-mutációk felvetik annak lehetőségét, hogy e folyamatokban rejlő terápiás lehetőségeket betegséget okozó receptormutációk esetében is megvizsgáljuk. Kísérleteinkben a mutációk által létrejött, a veleszületett nefrogén diabétesz inszzipidusz kezelésére alkalmas ligandok feltérképezését célozzuk meg. A betegségben szenvedő betegek jellemző, hogy normális vagy emelkedett plazma vazopresszin (kilenc aminosavból álló peptidhormon) koncentrációk ellenére sem tudják koncentrálni a vizeletüket. A betegek mindennapi életét a

fokozott vizeletürítés (10–20 liter naponta), a fokozott folyadékbevitel és kínzó szomjúság teszi igen nehézé. A veleszületett nefrogén diabétesz inszzipidusz 90%-ban a vazopresszin receptorának (V2-R) valamilyen mutációja okozza, ami a receptor funkciójának elvesztését eredményezi. Szemben a vazopresszinhány esetén kialakuló diabétesz inszzipidusszal, a nefrogén diabétesz inszzipidusz nem kezelhető a vazopresszin hatásának pótlásával. Jelenleg több mint kétszáz V2-R mutánst azonosítottak, amelyek mind nefrogén diabétesz inszzipiduszt okozhatnak, de ezek különböző módon okoznak funkcióvesztést (Spanakis et al, 2008). A mutációk egy része (például a *frameshift*-ek, deléciók), gyakorlatilag a receptor teljes hiányát eredményezik, hiszen csak egy részlegesen elkészült receptor termelődik a sejtben. A betegséget okozó mutációk jelentős része azonban (a V2-R esetében százkettszáz ismert mutáció, az esetek 56%-a) úgynevezett *missense* mutáció, ami egy-egy aminosav cseréjét eredményezi a fehérjében egy másik aminosavra. A missense V2-R mutációk esetében többféle farmakológias megoldás mérülhet fel. Ha a receptor oly módon károsodott, hogy helytelen harmadlagos szerkezet miatt a sejt nem képes kijuttatni a sejtfelszínre, akkor farmakológiai chaperonokkal segíthetjük a helyes konformáció kialakulását. GFKR-ek esetében olyan sejtpermeabilis antagonisták (tehát receptorhoz kapcsolódni képes molekulák) jöhetnek számításba, melyek a normális konformációt stabilizálják, és elősegítik a receptor kijutását a sejtmembránba, ahol kölcsönhatásba léphet a ligandjával. Más mutációk azt eredményezhetik, hogy ugyan a receptor kijut a sejtfelszínre, de fokozottan deszenzitizálódik, vagy bekerül a sejt belsejébe (internalizálódik), és emiatt a működőképes receptorok száma a sejtmembrán-

ban nem elegendő. Ebben az esetben terápia jelentősége lehet azoknak a jelátvitel-szelektív ligandoknak, melyek G-fehérje aktiválást létrehozhatnak, de internalizáció/deszenzitizáció szempontjából antagonistaként viselkednek. Néhány mutáció esetében már leírtak hasonló megoldásokat V2-R esetében (Jean-Alphonse et al. 2009). Csökkent G-fehérje-aktiválási képesség esetén a sejtfelszíni receptorszám növelése és/vagy a deszenzitizáció csökkenése részlegesen helyreállíthatja a receptor működését. Mivel a nefrogén diabétesz inszzipidusz ritka betegség, és a kórokok között nagyon sokféle mutáció elképzelhető, ezért a terápia egyénre szabott kell legyen, ami figyelembe veszi a funkcióképtelen mutáció tulajdonságait. Ez azt jelenti, hogy meg kell találni azt a vegyületet, amely képes egy adott mutáns receptort funkcióképesé tenni.

Az AT₁-R jelátvitel-szelektív agonizmusa

Laboratóriumunkban vizsgáljuk az 1-es típusú angiotenzin receptor (AT₁-R) működését. Az AT₁-R receptor angiotenzin II (AngII) kötése Gq-fehérje aktivációját okozza, melynek hatására a sejtekben Ca²⁺-jel és protein-kináz C enzim aktiválódás jön létre. Mindezek mellett az aktivált receptorokhoz β-arresztin fehérjemolekula is kötődik, amely a receptor deszenzitizációját és internalizációját hozza létre (Hunyady – Catt, 2006). Az AT₁-R esetében ismerünk egy jelátvitel-szelektív agonistát: a [Sar¹, Ile⁴, Ile⁸]-AngII-t. A fiziológias liganddal (az AngII-vel) ellentétben az [Sar¹, Ile⁴, Ile⁸]-AngII nem okoz G-fehérje-aktivációt, de hatására a receptor képes β-arresztint kötni és internalizálódni, valamint a G-fehérjétől függetlenül jelátviteli utak is aktiválódnak (Wei et al, 2003; Szidonya et al, 2007).

A jelátviteli folyamat vizsgálata céljából fúziós és mutáns fehérjéket állítottunk elő standard molekuláris biológiai módszerekkel. A létrehozott konstrukciókat, illetve a mutagenézist tartalmazó cDNS-eket restriktációs emésztéssel azonosítottuk, majd a szekvenciákat DNS-szekvenálással ellenőriztük. A DNS-konstrukciókat eukarióta sejtben fehérjekifejeződés létrehozására alkalmas plazmidokba építettük be. A vizsgálni kívánt fehérjéket a sejt kultúrában fenntartott eukarióta sejt vonalakban fejeztük ki. Az immortalizált sejt vonalakban fejeztük ki a megfelelő cDNS-t tartalmazó plazmiddal és transzfekciós reagens segítségével történt. A transzfekciót követően a sejtek 24 órán belül kifejezik a vizsgálni kívánt fehérjéket.

Kísérleteinkben biolumineszcencia rezonancia energiáttranszfer (BRET) technikával megvizsgáltuk a receptoraktiváció során az AT₁-R megjelenését a sejtmembrán különböző mikrodoméneiben. A BRET-mérés során egy sejtpermeabilis szubsztrát (coelenterazin) hatására a vizsgált fehérjéhez kapcsolt *Renilla* luciferáz (lumineszcens *energiadótor*) fotonokat emittál, mely a két vizsgált fehérje (ún. *intermolekuláris szondák*) vagy ugyanazon fehérje különböző részei (*intramolekuláris szondák*) molekuláris szintű (< 100 Å) közelsége esetén energiáttranszfert képes kiváltani, amely szintén a vizsgált fehérjéhez kapcsolt YFP (*energiakceptor*) fényemisszióját hozza létre. Az energiáttranszfer mértékét az ún. BRET-hányaddal jellemezhetjük. A BRET-vizsgálatok elvégzéséhez speciálisan nagy érzékenységgű, Berthold gyártmányú *Mithras multilabel* leolvasót használunk. Membrán mikrodoméneket jelző sárga fluoreszcens fehérjével (YFP) jelölt bioszenzorokat készítettünk, melyekkel BRET-jelet válthattunk ki, ha a renilla luciferázzal jelölt receptor

megjelenik a kompartmentben. E módszerrel kimutattuk, hogy AngII hatására az AT₁-R eloszlása a sejtmembrán fénymikroszkóppal nem látható mikrodoménjei között megváltozik: az aktivált receptor előbb áthelyeződik nem-raft mikrodoménekbe, majd internalizációs kompartmentekbe kerül. Az AT₁-R konzervált DRY (Asp-Arg-Tyr) szekvenciájának AAY (Ala-Ala-Tyr) szekvenciára cserélése olyan receptort eredményez, mely nem képes G-fehérjét aktiválni. E mutáns AT₁-R segítségével HEK293-sejtekben kimutattuk, hogy a G-fehérje-aktiválás szükséges a receptor különböző mikrodomének közötti mozgásának kialakulásához (Balla et al., 2011). Azt is megfigyeltük, hogy a receptor internalizációja hamarabb jön létre, ha a receptor stimulálása G-fehérje-független módon történik, illetve a receptor nem jelenik meg a nem-raft mikrodoménben G-fehérje kötésére képtelen AT₁-R stimulusát követően (Balla et al., 2012). Részletesen jellemeztük a receptor mozgásának és internalizációjának kinetikai eltéréseit az AT₁-R G-fehérjét aktiváló (AngII) vagy G-fehérjétől független aktivációt eredményező agonisták ([Sar⁺, Ile⁴, Ile⁸]-AngII) használatával is. Kimutattuk, hogy az AngII hatással ellentétben [Sar⁺, Ile⁴, Ile⁸]-AngII agonista hatására a receptor nem jelenik meg a nem-raft mikrodoménben a receptor internalizációját megelőzően HEK293-sejtekben (Balla et al., 2012). E vizsgálatok alátámasztják, hogy a receptorok bizonyos mutációi, illetve egyes agonisták képesek a receptor jelátviteli folyamatainak szelektív aktiválására.

Betegséget okozó mutáció azonosítása a V₂-receptorban

A Semmelweis Egyetem II. Belgyógyászati Klinika munkatársaival (Dr. Patócs Attila, Dr. Tóth Miklós, Prof. Dr. Rácz Károly) együtt-

működve azonosítottunk egy nefrogén diabétesz inszpidusz betegben előforduló misense mutációt a V₂-R génjében. Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a betegben azonosított mutáció a receptor mely funkcióját károsítja; a továbbiakban olyan V₂-R ligandokat próbálunk azonosítani, amelyek a receptor jelátviteli folyamatait szelektíven aktiválják, és amelyek emiatt pozitívan befolyásolják a mutáns receptor működését. Első lépésben vizsgáltuk a mutáns receptor működését, mert nem állt rendelkezésre irodalmi adat arról, hogy e rendkívül ritka mutáció milyen mechanizmussal okoz funkcióvesztést. A méréseink során élősejtes kísérletekben vizsgáltuk a mutációt tartalmazó receptor tulajdonságait, és összevetettük őket a normális (eredeti) V₂-receptor tulajdonságaival.

Kísérleteink elvégzése céljából olyan tesztszereket fejlesztettünk ki, melyek alkalmasak lehetnek nagyszámú vizsgálat (HTS) elvégzésére is. Erre alkalmas a nagy érzékenységű, 96-lyukú lemezekben, élő sejtekben is elvégezhető BRET-módszer. A V₂-R olyan GFKR, mely Gs típusú heterotrimer G-fehérjét képes aktiválni. A különböző Gs-fehérje kapcsolt receptorok a fiziológiás agonista kötését követően elsősorban a Gs heterotrimer G-fehérje által közvetített jelátviteli útvonalakat aktiválnak, és adenilát-cikláz aktiválásán keresztül cAMP-függő jelátviteli folyamatok indulnak el. Kimutatták, hogy ezen típusú receptorok más jelátviteli útvonalakat is aktiválhatnak, melyek közül fontosnak tűnik a β-arrestin-kötés és a MAP-kináz (mitogén-aktivált proteín-kináz) kaskád elindítása emlős sejtekben. Megvizsgáltuk a mutáns receptor tulajdonságait, és összevetettük az eredeti receptoréval. Konfokális mikroszkópos eredmények alapján kimutattuk, hogy a mutáns receptor megtalálható a sejtmembrán-

ban, és a receptorszám az eredeti receptoréval összevethető nagyságrendű. További kísérleteinkben a sejtben belüli cAMP-szint mérését végeztük el, mivel a V₂-R-agonista kötését ez a másodlagos hírvivő képzését indítja el. A HTS-vizsgálatok kivitelezhetőségét szem előtt tartva, alkalmazhatunk olyan rezonancia energiáttranszferen alapú bioszenzorokat, amelyek segítségével élősejtes kísérletekben nyomon követhetjük a receptor aktiválódását. A cAMP a szabályozó hatását fehérjékhez kapcsolódva feje ki, ilyen fehérje az EPAC (*Exchange Protein directly Activated by cAMP*), amely kis G-fehérjék működését befolyásolja. Az EPAC-fehérje cAMP-kötését követően konformációváltozáson megy keresztül, megteremtve a cAMP szenzoroként való alkalmazásának lehetőségét. Az irodalomban már leírtak egy EPAC-alapú cAMP-szondát, amelynek működése fluoreszcencia rezonancia energiáttranszferen (FRET) alapult (Ponsioen et al., 2004). A FRET-módszer hátránya a magas jel/zaj arány, valamint korlátozott alkalmazhatósága nagy elemszámú méréseknél, így szükségessé vált egy érzékenyebb módszer kidolgozása. Molekuláris biológiai módszerekkel biolumineszcens luciferáz fehérjét építettünk a bioszenzorba, amely már BRET-alapú, nagy érzékenységű, valós idejű mérések kivitelezését tett lehetővé (*1. ábra, A*). Ezen új bioszenzor felhasználásával megvizsgáltuk a mutációt tartalmazó V₂-R cAMP jelátvitelét HEK293-sejtekben. Vazopresszin hatására a vad típusú receptordózis-függő cAMP választ detektáltuk, de a mutáns receptor fiziológiás hormonszint-tartományban nem hozott létre cAMP-szint emelkedést (*1. ábra, B*). Mivel a vazopresszin V₁-receptoron keresztüli érszűkítő (és vérnyomásemelő) hatást hozhat létre, ezért a terápiában dezmpresszint alkalmaznak, mely egy V₂R-sze-

lektív vazopresszin analóg. Kísérleteinkben a dezmpresszin még nagy dózisban alkalmazva sem volt képes aktiválni a mutáns receptort.

A mutáció hatása a receptor jelátvitelére

További kísérleteinkben megvizsgáltuk, hogy a különböző Gs-kapcsolt receptorok létrehozzák-e a sejtproliferáció, sejtnövekedés és számos egyéb transzkripciós szintű szabályozásában központi szerepet játszó Ras-aktiválódást, illetve az ennek következtében létrejövő Ras- kis G-fehérje-aktiválódását. Gs-kapcsolt β₂ adrenerg receptort (β₂-R), az MC melanokortin receptort (MC₄-R), az 5HT₇A szerotonin receptort (5HT₇A-R) és a V₂ receptorokat expresszáltunk HEK293-sejtekben, és megmértük a cAMP-jelet, a MAPK foszforilációt és a Ras-aktiválódást (Balla et al., 2011). A sejtek endogén receptorainak feltérképezésére receptorral nem transzfektált sejteket is használtunk. Forskolin használatával, ami a cAMP képzéséért felelős enzimet közvetlenül aktiválja, a receptorok agonista kötését nélkül válthattunk ki cAMP-jelet, és az így kapott adatokat összevetettük a receptorokkal kapott adatokkal. Eredményeink szerint a V₂-R a Ras által kiváltott jelpályán keresztül, míg a forskolin ingerlés, illetve a β₂-R-, az MC₄-R- és az 5HT₇A-R-hormon kötését Ras-független útvonalon vált ki MAPK aktiválódást. Az általunk azonosított, betegséget okozó mutációt tartalmazó V₂ receptort alkalmazva viszont nem kaptunk Ras-jelpályát aktiválódást, ami alátámasztja, hogy a receptor mutációja következtében a jelátviteli folyamat károsodott. Előzetes kísérleteink arra utalnak, hogy nagy dózisú vazopresszin képes aktiválni az általunk vizsgált mutáns receptort, ezért további kísérleteink célja olyan receptor agonisták azonosítása, melyek képesek e mutáns receptor aktiválására.

Összefoglalás

Kísérleteinkben kimutattuk, hogy az általunk használt megközelítési módok alkalmasak GFKR-ok aktivációjának és szelektív jelátvitelének tanulmányozására, valamint segítséget nyújthatnak a betegséget okozó receptormu-

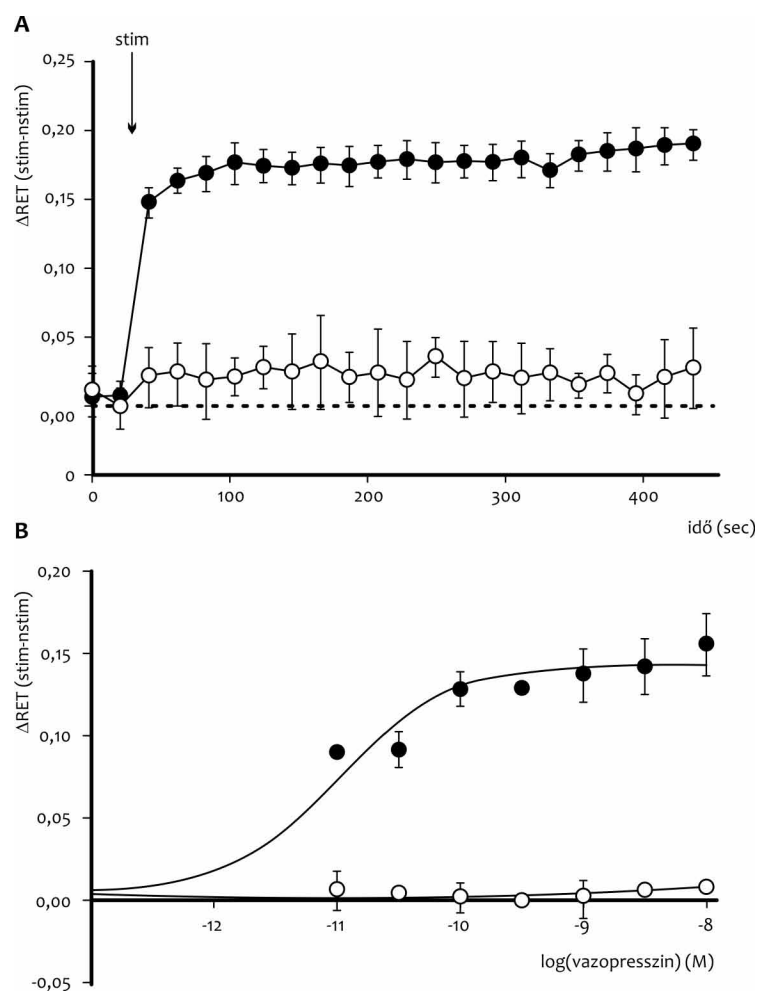
tációk jobb megértéséhez. Vizsgálataink azonosítottak egy betegséget okozó V2-R-mutációt. További kísérleteinkben olyan peptid- és nem-peptid vazopresszin receptor ligandokat próbálunk azonosítani, amelyek az általunk meghatározott, károsodott receptor mutáns működését kedvezően befolyásolják. Az álta-

lunk beállított BRET-technikán alapuló tesztszerek alkalmasak nagyszámú minta analízisére, így van esély arra, hogy vegyületeknyvtárak felhasználásával olyan molekulákat találjunk, melyek a mutáns V2-R működését kedvezően befolyásolják.

A nefrogén diabétesz inszzipidusz betegséget számos más mutáció létrehozhatja, így az alkalmas terápiás megoldásnak a mutációtól függően egyénre szabottnak kell lennie.

Ebben segíthet a különböző, betegséget okozó receptor mutációk működésének megértése és olyan gyógyszerjelöltek azonosítása, melyek az adott receptormutációt hordozó betegekben segíthetnek.

Kulcsszavak: *G-fehérje kapcsolt receptorok, vazopresszin receptor, biolumineszcencia energiaátvitel (BRET), szelektív jelátvitel, személyre szabott terápia*



1. ábra • A: Az általunk létrehozott Epac-BRET (•) és a FRET-alapú cAMP (o) bioszenzor működésének összehasonlítása. V2-R-t kifejező HEK293-sejteket a jelzett időpontban vazopresszinnel kezeltük (stim). A görbék a hatóanyagot nem tartalmazó oldattal kezelt mintákra normalizáltak (szaggatott vonal). – B: A vad típusú (•) és a mutáns (o) V2 vazopresszin receptor eltérő dózishatásgörbéje.

IRODALOM

- Balla A. – Erdélyi L. S. – Soltész-Katona E. – Balla T. – Várnai P. – Hunyady L. (2011): Demonstration of Angiotensin II-Induced Ras Activation in the Trans-Golgi Network and Endoplasmic Reticulum Using Bioluminescence Resonance Energy Transfer-Based Biosensors. *The Journal of Biological Chemistry*. 286, 5319–5327.
- Balla A. – Tóth D. – Soltész-Katona E. – Szakadati G. – Erdélyi L. S. – Várnai P. – Hunyady L. (2012): Mapping of the Localization of Type I Angiotensin Receptor in Membrane Microdomains Using Bioluminescence Resonance Energy Transfer-Based Sensors. *The Journal of Biological Chemistry*. 287, 9090–9099.
- Ferguson, S. S. (2001): Evolving Concepts in G Protein-Coupled Receptor Endocytosis: The Role in Receptor Desensitization and Signaling. *Pharmacological Reviews*. 53, 1–24.
- Hunyady L. – Catt, K. J. (2006): Pleiotropic AT₁ Receptor Signaling Pathways Mediating Physiological and Pathogenic Actions of Angiotensin II. *Molecular Endocrinology*. 20, 5, 953–970.
- Jean-Alphonse, F. – Perkovska, S. – Frantz, M. C. – Durroux, T. – Mejean, C. – Morin, D. – Loison, S. – Bonnet, D. – Hibert, M. – Mouillac, B. – Mendre, C. (2009): Biased Agonist Pharmacochaperones of the AVP V₂ Receptor May Treat Congenital Nephrogenic Diabetes Insipidus. *Journal of the American Society of Nephrology*. 20, 2190–2203.
- Kenakin, T. – Miller, L. J. (2010): Seven Transmembrane Receptors As Shapeshifting Proteins: the Impact of Allosteric Modulation and Functional Selectivity on New Drug Discovery. *Pharmacological Reviews* 62, 265–304.
- Kenakin, T. (2011): Functional Selectivity and Biased Receptor Signaling. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 336, 296–302.
- Ma, P. – Zimmel, R. (2002): Value of Novelty? *Nature Reviews* 1, 571–572.
- Ponsioen, B. – Zhao, J. – Riedl, J. – Zwartkruis, F. – Van Der Krogt, G. – Zaccolo, M. – Moolenaar, W. H. – Bos, J. L. – Jalink, K. (2004): Detecting cAMP-Induced Epac Activation by Fluorescence Resonance Energy Transfer: Epac as a Novel cAMP Indicator. *EMBO Reports*. 5, 12, 1176–1180.
- Rajagopal, S. – Rajagopal, K. – Lefkowitz, R. J. (2010): Teaching Old Receptors New Tricks: Biasing Seven-Transmembrane Receptors. *Nature Reviews*. 9, 373–386.
- Spanakis, E. – Milord, E. – Gragnoli, C. (2008): AVPR₂ Variants and Mutations in Nephrogenic Diabetes Insipidus: Review and Missense Mutation Significance. *Journal of Cellular Physiology*. 217, 605–617.
- Szidonya L. – Süpeki K. – Karip, E. – Türu, G. – Várnai P. – Clark, A. J. – Hunyady L. (2007): AT₁ Receptor Blocker-Insensitive Mutant AT_{1A} Angiotensin Receptors Reveal the Presence of G Protein-Independent Signaling in C9 Cells. *Biochemical Pharmacology*. 73, 10, 1582–1592.
- Wei, H. – Ahn, S. – Shenoy, S. K. – Karnik, S. S. – Hunyady L. – Luttrell, L. M. – Lefkowitz, R. J. (2003): Independent Beta-Arrestin 2 and G Protein-Mediated Pathways for Angiotensin II Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinases 1 and 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 10782–10787.

AZ ANGIOSZTATIN FELHASZNÁLÁSI LEHETŐSÉGEI A DAGANATELLENES TERÁPIÁBAN

Szilák László

ügyvezető, PhD,
Szilák labor Kft., Szeged, Semmelweis Egyetem
2. sz. Patológiai Intézet

Keller-Pintér Anikó

PhD,
Szegedi Tudományegyetem
Általános Orvosi Kar Biokémiai Intézet, Szeged

Tímár József

az MTA doktora, tanszékvezető egyetemi tanár,
Semmelweis Egyetem 2. sz. Patológiai Intézet

Bevezetés

A tumorok növekedésének elengedhetetlen feltétele, hogy csatlakozzanak a vérhálózat-hoz mint oxigén- és egyéb tápanyagforráshoz. A tumor növekedésekor leggyakrabban érújdonképződést indukál, ami a meglévő erekből ered, és így biztosítja a kapcsolódást a keringéshez. A tumor méretének növekedésével hipoxiássá válik, és termelni kezd olyan faktorokat (VEGF, FGF2), melyek az angiogenezist serkentik. Az endotélsejtek osztódni kezdenek a tumor közvetlen közelében, és benyomulhatnak a tumorba. Am az így létrejött erek különböznek a normális erektől; általában permeábilisabbak a normálisnál, és zsákutcaszerűen végződve keveredik bennük az artériás és a vénás vér (Vaupel, 1998).

Az igény már korán megfogalmazódott az angiogenezis biokémiájának megértésére. Ismert jelenség a klinikumban, hogy az elsődleges tumor eltávolítását követően indul meg a metasztatizáció kialakulása. Ezt kezdetben az elégtelen műtéti beavatkozásnak rótták fel.

Mára már elfogadottá vált, hogy a még nem ezert mikrometasztázisok jelenléte esetében az elsődleges tumor által termelt faktorok gátolják ezek növekedését, aminek alapja be nem éreződésük. Judah Folkman és munkatársai felfedezték, hogy a primer tumor két olyan faktort (angiosztatin és endosztatin) termelhet, amellyel gátolja a mikrometasztázisok növekedését (O'Reilly et al., 1994, 1997). Az angiosztatint főként a tumor sztróma termeli, kontrollálva a metasztatizált sejtek osztódását. Állatkísérletek megerősítették ezt a megfigyelést, mert az exogén angiosztatin nyugalmi állapotban tudta tartani az indukált tumorgócokat. Későbbiekben számos mátrix fehérje degradációs termékéről derült ki, hogy angiogenezist gátló fiziológiás inhibitor kapacitással rendelkeznek.

A tumorindukált angiogenezis folyamata az áttétképzésben

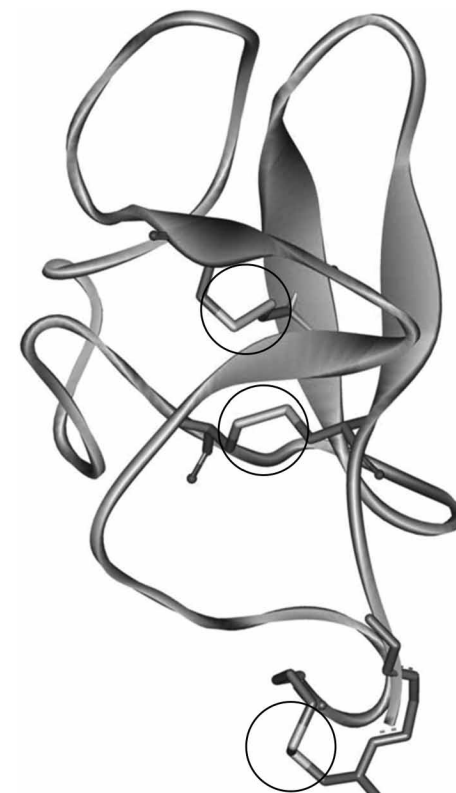
A keringő daganatsejtek a célszervbe érve az érfalhoz tapadnak ki, ahol lokálisan fibrinrögök/-háló keletkezik. Ez egy nagyon fontos

momentum, mert így mintegy álcázza magát a daganatsejt az immunrendszer elől, és az extracelluláris mátrix és/vagy a bazális membrán feloldásával olyan folyamatok stimulálódnak, melyek eredménye az, hogy az endotélsejtek visszanyerik migrációs képességüket, megindulnak a sztróma felé, és eközben osztódnak, kialakítva az új eret. Az érfal kialakulásáig ez a folyamat támadható sejt-osztódást gátló ágensekkel. Az utolsó lépés a véredény-kialakításban a periciták megjelenése mely stabilizálja az endotél tubust. Látható tehát, hogy az érújdonképződés gátlása fontos eszköz lehet a daganatellenes terápiában. Előnye, hogy széles spektrumú, a legkülönbözőbb eredetű tumorok ellen is hatásos lehet. Hogy az elv mennyire átültethető a gyakorlatba, azt bizonyítja az elmúlt öt évben törzskönyveztetett angiogenezis-moduláló gyógyszerek sora.

Az angiogenezis fiziológiás gátlása

Az angiosztatin egy nagyobb fehérjének, a plazminogén/plazminnak proteolitikus terméke. A plazmin a fibrinolízis fő enzime, mely a fibrinrög oldásában vesz részt, lebontva a fibrinszálakat. A plazminogén/plazmin N-terminális részén található öt, ujjszerű, fibrin felismerő domain, amit a szakirodalom kringle-nek nevez (1. ábra). Ebből gyakrabban az 1–3., ritkábban az 1–4. kringle-ke tekintik angiosztatinnak, de az 5. kringle-nek is van angiosztatikus hatása.

Az angiosztatin rövid életű polipeptid, féleletideje kb. 15 perc, és főként ebben rejlik terápiás célú alkalmazásának nehézsége. Az angiosztatin számos úton keletkezhet. A legkézenfekvőbb az autokatalízis, amikor az aktív plazmin szabadítja fel, de a plazminogénről különböző proteázok is lehasíthatják: mátrix metallo-proteázok (MMP-k), proszta-



1. ábra • Egy kringle modul szerkezete. A bekarikázott részek a kénhidak.

taspecifikus antigén (PSA), 13 kDa szerin proteáz, 24 kDa endopeptidáz, elasztáz, kallikrein és katepszin (stb.).

Az angiosztatin hatásmechanizmusa

Habár az angiosztatin a plazmin/plazminogén fehérje része, eltérő receptorokhoz kötődik. Az angiosztatin esetében ezidáig három kötőfehérjét azonosítottak: az ATP-szintáz-t, az angiotensin II-receptorot és az avb3 integrint. Az ATP-szintáz azért meglepő, mert eddig főként mitokondriális jelenlétét írták le, azonban egyre gyakrabban figyelnek meg ektopikusan mitokondrium-specifikus enzimeket. Az angiotensin II-receptorot 2001-ben írták le, ez egy PDZ-

fehérje, és szerepe van az endotél sejtek migrációjában. Az integrin receptorok közül az avb3, ayb1 és kisebb affinitással az a4b1 specifikusan köti a kringle-ket, de sem a plazminogénhez, sem a plazminhoz nincs szignifikáns affinitásuk. Érdekes: a kölcsönhatást RGD-peptiddel blokkolni lehet, noha a kringle-k nem tartalmazzák az RGD-szekvenciát.

A kringle-k szerkezetiileg hasonlóak bizonyos növekedési faktorokhoz, így például a HGF-hez (hepatocita növekedési faktor), ami tartalmaz kringle-szerű domáineket, és konzervált aminosav-motívumokat. Így nem meglepő, hogy az angiosztatin kringle-k interferálnak a HGF-el a c-met/HGF-receptorhoz történő kötődéskor, ezért az angiosztatin leszoríthatónak bizonyult a c-met receptorral fölöslegben adott HGF-fel.

Megoldások az angiosztatin *in vivo* termelésére

Az angiosztatin rövid féléletideje (~15 perc) miatt *in vitro* termeltetése nem gazdaságos. A bakteriális fermentáció a kénhidak miatt nehézkes. Tehát az *in vivo* és lehetőleg az *in situ* expressziója lenne kívánatos rövid *turn-over* ciklusa miatt, tehát a forszírozott aktiválás fokozhatná az aktív fehérjemennyiséget. Elképzelésünk szerint egy proteáz – kringle kiméraféhrje – teljesíthetné ezeket az elvárásokat. Vagyis a kringle fehérjéket kódoló DNS-t összeépítenénk a megfelelő proteázt kódoló DNS-fragmenttel, létrehozva egy eddig nem létező enzimet, melynek kontrollálható az autokatalitikus hatása. Ezen túlmenően, ha figyelembe vesszük proteázunk sajátosságait, akkor egy megfelelően megválasztott proteáz esetében, amely rendelkezik fibrinolitikus tulajdonsággal is, újabb támadási pontot tudnánk alkalmazni a keringésben lévő vagy a metasztázálási folyamat korai

fázisában lévő daganatsejtcocokkal szemben, mert a kringle-k biztosítják a fibrinkötődést, és az enzim koncentráltan degradálhatná a metasztázisok letapadási pontján kialakuló fibrinhálót, ezzel lehetőséget biztosítva az immunrendszernek a beavatkozásra. Az eddigi *in vitro* daganatsejtes kísérletek megerősíték elvárásainkat, és igazolták, hogy az ilyen konstrukció gátolja az endotél sejtek migrációját és a VEGF-indukálta endotél proliferációt. Állatkísérletekben a konstrukció *in vivo* expressziója gátolta a daganatnövekedést a korai fázisban.

Expressziós lehetőségek

Mivel ez egy génterápiás megközelítés, ezért további expressziós szabályozási lehetőséget biztosíthatunk egy megfelelően választott promoterral. A génbevitelnél használhatjuk a standard génbeviteli eljárásokat, vagyis lipofektint, vagy ezzel ekvivalens nukleinsav-bevivő ágenseket. Ebben az esetben a tumorban, vagy közvetlen közelében történne a transzfekció. Jelenleg ennek optimalizálásán dolgozunk. Egy esetleges vírusvektor használatát, amennyiben bizonyítottan biztonságos, megfontolhatjuk. Azonban a fő alkalmazási módot a kombinált összejtterápiában látjuk. Össejtek azok a szomatikus sejtek, amelyek megőrizték osztódási képességüket, ami a differenciálódás során szükségszerűen elvesz. Felosztásuk többféle szempont alapján történhet. A csontvelői össejtek egy csoportja, a mezenhimális össejtek képesek specifikusan a tumoros góckhoz migrálni, és azokba beépülni. Tehát alkalmazásuk kecsegtetőnek tűnik egy irányított rákterápia kidolgozásakor. A csontvelői hematopoetikus össejtek szintén szóba jöhetnek, mint lehetséges expresszálo gazdasejtek. Munkánkat az ösztönzi, hogy az USA-ban az FDA már engedélyezett egy ha-

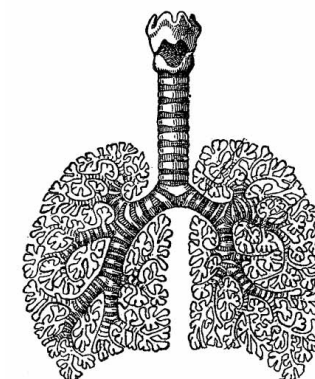
sonló elrendezésű, kombinált össejtes terápián alapuló vizsgálatot. Az itt bemutatott molekula szabadalmaztatása egy időben

kezdődött az Európai Unió (EPO) és az USA szellemi tulajdon védelmével foglalkozó hivatalaiban (EP 12155368.9; US 61/598371).

IRODALOM

- Katona Róbert – Keller-Pintér Anikó – Letoha Tamás – Tímár József – Szilák László (2012): Angiostatin Chimeras and Uses Thereof (EP 12155368.9; US 61/598371).
O'Reilly, M. S. – Boehm, T. – Shing, Y. – Fukai, N. – Vasios, G. – Lane, W.S. – Flynn, E., Birkhead, J.R. – Olsen, B.R. – Folkman, J. (1997): Endostatin: An Endogenous Inhibitor of Angiogenesis and Tumor Growth. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 88, 277–285.

- O'Reilly, M. S. – Holmgren, L. – Shing, Y. – Chen, C. – Rosenthal, R. A. – Moses, M. – Lane, W. S. – Cao, Y. – Sage, E. H. – Folkman, J. (1994): Angiostatin: A Novel Angiogenesis Inhibitor That Mediates the Suppression of Metastases by a Lewis Lung Carcinoma. *Cell*, 79, 315–328.
Vaupel, P. – Kallinowski, F. – Okunieff, P. (1998): Blood Flow, Oxygen and Nutrient Supply, and Metabolic Microenvironment of Human Tumors. *Cancer Research*, 49, 6449–6465.



SZEMÉLYRE SZABOTT ORVOSLÁS PARADIGMAVÁLTÁS AZ EGÉSZSÉGÜGYBEN

Molnár Mária Judit

egyetemi tanár,
Semmelweis Egyetem Molekuláris Neurológiai Klinikai és Kutatási Központ
molneur@gmail.com
www.molneur.coldal.hu

4 Prevenció

Bevezetés

A személyre szabott gyógyításra való törekvés nem új gondolat, az mindig foglalkoztatta a gyógyítással foglalkozó bölcseket (Németh, 2011). „Sokkal fontosabb ismerni, hogy a betegség milyen embert érint, mint hogy az embernek milyen betegsége van” – vélte Hippokratész i. e. kb. 400-ban, és nagyon hasonló gondolatokat fogalmazott meg Maimonidesz ezer évvel később, miszerint „nem a betegséget kell gyógyítani, hanem a szenvedő beteget”. Paracelsus (1493–1541) más szemszögből közelítette meg az individualizált gyógyítás kérdését, amikor először utalt a farmakogenomika jelentőségére, miszerint „egy cseppje gyógyszer, sok cseppje mérég” egy adott gyógyszernek. A jelen nyugati orvoslás egyénre szabása iránti igényt Sir William Osler (1849–1919) fogalmazta meg azon gondolatában, miszerint „ha nem lenne az egyének közti hatalmas variabilitás, akkor az orvoslást pusztán tudománynak tekinthetnénk és nem művészetnek.”

Annak ellenére, hogy több mint két évezrede foglalkoztatja az orvosokat a személyre szabott orvoslás gondolata, a 20. században ettől eltérő törekvéseket is megfigyelhetünk. A diagnosztika rohamos fejlődésének követ-

keztében az RTG, UH, CT és MRI segítségével betekintést nyertünk az emberi szervezetbe, a penicillin és az inzulin felfedezésével számos emberéletet mentett meg az orvostudomány, a biokémiai és genetikai diagnosztika új távlatokat nyitott meg a betegségek felismerésében. A gyógyszeriparban is rohamos fejlődés szemtanúi lehettünk, azonban az új gyógyszerek a betegséget vették célpontba és nem az adott egyén betegségét. Egy adott betegség pedig általában szimptómák együttese, és hátterében különböző okok állhatnak. A gyógyítás arany szabályait a bizonyítékokon alapuló orvoslás, a bizonyítékokon alapuló gyógyszerhasználat (evidence based medicine) határozta meg. A különbözőségeket statisztikai megközelítésből kezeltük. A piacra kerülő gyógyszerek törzskönyvezése randomizált klinikai vizsgálatok kísérleti eredményeiből származó hatásossági adatokon alapult, ami a hagyományos gyógyítás paradigmáját követte. Ennek a paradigmának az alapja a próbálgatás, miszerint, ha egy adott betegség diagnózisát felállítottuk, akkor a kezelési protokollt a statisztikai számítások alapján leghatásosabbnak bizonyuló terápiával indítottuk, és nem vettük figyelembe az adott betegcsoporton belüli egyének kü-

lönbözőségét. Abban ez esetben, ha az első választandó terápia nem volt hatásos, vagy nem kívánt mellékhatások jelentkeztek, változtattuk a terápiás stratégiát. Mivel a betegséget célozta a gyógyítás és nem az adott egyént, vagy legalábbis a betegségen belüli azonos etiológiájú alcsoportot, napjainkban a legtöbb gyógyszer a kezelt betegek 50–60%-ában nem, vagy csak korlátozottan hatásos. Ezzel szemben a nemkívánatos gyógyszer-mellékhatás évente százezer beteg haláláért és kétfélmillió ember kórházi gondozásáért felelős egy amerikai statisztika szerint. Az esetek 50%-ában genetikai faktorról függ össze a gyógyszer mellékhatása, illetve hatástalansága. Mindezekből nyilvánvaló, hogy paradigma-váltásra van szükségünk, és ezt a paradigma-váltást a személyre szabott orvoslás jelenti.

A személyre szabott gyógyítás fogalma

A személyre szabott orvoslás legrövidebb definícióját a www.nature.com 2011-es *glossary*-jában olvashatjuk, miszerint az nem más, mint egy olyan szemléletű gyógyítás, amely a genetikai fogékonyság és a farmakogenetikai tulajdonságok ismeretében állítja fel a preventív stratégiát, és határozza meg a gyógyszeres terápiát. Bár a genetikai jellegzetességek meghatározhatják az egyén adott kezelésre mutatott potenciális biológiai és élettani választását, elengedhetetlen az élete során őt ért környezeti hatások és az életmód figyelembevétele is, mert ezek is befolyásolhatják a genetikai tényezőket. Napjaink klinikumának még mindig gyenge pontja sok esetben a pontos diagnózis hiánya és a betegség stádiumának pontos meghatározása. Ezek közvetlen hatással vannak a prognózisra, a terápiás döntésekre, a beteg válaszára és az életminőségre. Így az individualizált kezelés első legfontosabb feltétele a klinikai tünetek

háttérben álló pontos etiológia megállapítása, melyhez olyan biomarkerekre van szükség, amelyek noninvazív vagy minimal invazív módszerekkel közelíthetőek meg (Molnár, 2011).

A Modern Orvostudományi Technológiák a Semmelweis Egyetemen című TÁMOP-pályázat Prevenációs Modulja a Személyre szabott orvoslás szolgálatában

A fenti célok megvalósításáért a Semmelweis Egyetem (SE) preventív medicinával foglalkozó kutatócsoportjai (témavezetők: Bagdy György, Bereczki Dániel, Falus András, Merkely Béla, Molnár Mária Judit és Takáts Zoltán) a fenotípzálás minőségének javítását, a technológiai korlátok ledöntését, új patogenetikai ismeretek feltárását, diagnosztikai problémák megoldását tűzték ki célul. A kutatások egy új betegségkonceptió-megközelítéshez visznek közelebb bennünket, amelyben fontos szerepet játszanak a gén–gén, a gén–környezet interakciók mind az egyes személyiségvonások, mind a betegségek vonatkozásában. A génjeink ugyanis nemcsak betegségekre hajlamosítanak, illetve gyógyszer-metabolizmusunkat befolyásolják, hanem determinálják egyes személyiségvonásainkat, ahogy azt Bagdy György és munkatársainak vizsgálatai igazolták. Eredményeiket az 1. táblázat foglalja össze.

Másrészt viszont a pszichopatológiai folyamatok meghatározásában is fontos szerepet játszanak a genetikailag determinált biológiai folyamatok. Inczedy-Farkas Gabriella és munkatársai (2012) közleményében a mitokondriális diszfunkció következtében megfigyelt pszichiátriai rendellenességeket írják le. A vizsgálatok szerint a mitokondriális betegek Beck- (BDI-SF) és a Hamilton-depresszió becslőskálája (HDRS) is szignifikánsan ma-

személyiségvonás	gén neve
neuroticizmus, szorongás, negatív életesemények rossz hangulatot, depressziót kiváltó hatása	SLC6A4, CNR1
stressz feldolgozása	HTR1A, HTR1B
agresszió	SLC6A4
reménytelenség	TPH2
önemésztés	CREB1, KCNJ6
gyermekkori életesemények	CREB1, BDNF, NTRK2

1. táblázat • Bizonyos gének egyes nukleotid polimorfizmusai az egyes személyiségvonásokkal kapcsolatba hozhatók. A táblázatban azokat a géneket tüntettük föl, amelyek vizsgálatai során Bagdy György és munkacsoportja pozitív asszociációkat talált.

gasabb pontszámot ért el (BDI-SF $p < 0,031$, HDRS $p < 0,043$), mint a hasonló életminőségben élő, mozgásukban szintén gyakran korlátozott hereditár neuropatiás (HN) kontrollcsoporté. Az általános pszichiátriai tüneteket felmérő *Global Severity Index* az SCL-90-R kérdőív alapján szignifikáns különbséget talált a somatizáció kivételével minden paraméterben. A SCID-II strukturált klinikai interjú nyolc mitokondriális betegnél (42%) talált személyiségzavart, háromnál elkerülő magatartást, kettőnél obszesszív-kompulzív rendellenességet, háromnál pedig nem specifikált személyiségzavart. A fenti eredmények igazolják, hogy az mtDNS-mutációval rendelkező betegeknek gyakoriak a pszichiátriai tünetek, melyek sok esetben nem reagálnak a hagyományos terápiákra. A megfigyelések a pszichiátriai egy új irányzat, a mitokondriális pszichiátria létjogosultságát támasztják alá, hiszen a mitokondriumok optimális működése elengedhetetlen a normális pszichofiziológiához.

A fenotípus pontos meghatározása és a fenotípus adatainak rendszerezett tárolása a személyre szabott medicina egyik alappillére. Ennek megfelelően a kutatási stratégia egyik

fontos tényezője volt a különböző adatbázisok, biológiai mintagyűjtemények, biobankok kialakítása, illetve a már meglévő biobankok továbbfejlesztése. A Semmelweis Egyetem Kardiológiai Központ Budakalász epidemiológiai vizsgálata (vezető: Merkely Béla) során egy kisváros (Budakalász) teljes felnőtt lakosságát (8000 fő) megcélzó, önkéntes alapú vizsgálat során kérdőív mintavétel mellett orvosi eszközös vizsgálatokra kerül sor. A rizikóbecsléshez szükséges antropometriai mérések és noninvazív vizsgálatok (szív- és karotisultrahang, nyugalmi vérnyomás, boka-kar-index) mellett speciális lakossági csoportokban (férfi > 35 é, nő > 40 é) natív szív-CT-vizsgálatok készülnek a kalcium score és kardiális zsír analízise céljából. A projektben szérum-, plazma- és DNS-reverzibilisen anonimizált tárolása mellett a fenotípusos adatok rögzítésére is sor kerül. A vizsgálat prospektív, 2011. 04. 15-én indult, és a háromévente ismétlődő felmérések a longitudinális követést teszik lehetővé. 2012. év elejéig 605 fő eszközös vizsgálatára került sor (átlagéletkor: 48,9 év). Kóros BMI (> 25 kg/m²) 446 fő (74%), emelkedett nyugalmi szisztolés vérnyomás 268 fő (44%), kóros HgbA1c

278 fő (45%), kóros LDL-koleszterinszint 299 fő (49%) esetében igazolódott. 2–10 közötti CRP-t 235 fő (39%) esetében mértünk. Jó szisztolés bal kamrafunkció mellett 87 fő (14%) esetében igazolódott emelkedett B-típusú natriuretikus peptid- (NT-proBNP) szint, ami szívelégtelenséget jelez. A vizsgált lakosság átlagos tízéves kardiovaszkuláris mortalitási rizikója 20,7%. A hazai lakossági minta szív- és érrendszeri rizikója meghaladja a fejlett európai országok rizikóértékeit. Az adott település felnőtt lakosságának vizsgálatát követően utánkövetést végzünk a morbiditási viszonyok változása és rizikófaktorokkal való összefüggéseinek elemzése céljából.

A SE Neurológiai Klinika munkacsoportja Budapest két kerületében, a VIII. és a XII. kerületben hasonlította össze a stroke jelentkezésének időpontját. A vizsgálat szerint szignifikánsan korábban jelentkezik a stroke a VIII. kerületi betegek között, és a férfiak tíz évvel hamarabb halnak meg ebben a betegségben (Kéri et al., 2011). Az alacsony életszínvonal egyértelmű rizikófaktorok bizonyult.

A SE Molekuláris Neurológiai Klinikai és Kutatási Központja számos ritka, monogénes neurológiai betegségben (Huntington-kór, örökletes ataxiák, fiatalkori Parkinson-kór és fiatalkori Alzheimer-kór, mitokondriális betegségek), illetve komplex, elsősorban neurodegeneratív és autoimmun betegségekben (stroke, migrén, neurodevelopmentális betegségek, sklerózis multiplex, miaszténia grávis, autoimmun neuropátiák) gyűjtött ezidáig több mint ötezer betegől biológiai mintákat (DNS, RNS, plazma, fibroblast), klinikai és laboratóriumi adatokat. A beteg minták mellett az egészséges kontroll biológiai anyagok gyűjtése is folyamatos. A biobank neve: NEPSYBANK. Kutatóink két országos konzorcium biobankjának építésében is aktívan részt

vesznek, a Genetikai- Sejt és Immunbiológiai Intézet az OBEKON (Obesitas Biobank), míg a Molekuláris Neurológiai Klinikai és Kutatási Központ, valamint a Pszichiátriai Klinika a SCHIZO 08 konzorcium országos Skizofrénia Biobankjának építésében (SCHIZOBANK). 2011-ben megalakult a Semmelweis Egyetem Önálló Biobank Hálózata is, melynek jelenleg tizenhét intézet a tagja.

A személyre szabott orvoslást akadályozó tényezők

Korreláció versus kauzalitás • Arisztotelész a *Második analitika* 2. könyvében így fogalmaz: „...akkor tudományos az ismeretünk, ha ismerjük az okot...” De vajon az orvostudományban mennyire érvényes ez a gondolat? A hozzáférhető tudományos irodalmak száma és ezzel együtt a rendelkezésre álló információ mennyisége exponenciálisan nő az idővel, azonban ezeknek a klinikai relevanciája és a mögöttes valós tudás csak minimálisan növekedett, ha az elmúlt húsz-harminc évet vesszük alapul. Ez azt jelenti, hogy a legtöbb közlemény korrelációkról számol be, ami nem más, mint egy statisztikai viszony, és csak elenyésző a kauzalitást, azaz az ok és hatás közötti kapcsolatot elemző munka. A személyre szabott orvoslás pedig éppen ezt célozza meg. Az igaz, hogy elsősorban a komplex betegségek genetikai rizikófaktorainak kutatása során számos esetben nagy valószínűséggel csak korrelációkra derül fény, ennek megfelelően sok esetben az adott genetikai rizikófaktor hatására egy adott betegség kialakulására változhat a több ezres betegszámot magába foglaló metaanalízisek eredményeit figyelembe véve.

Metodika korlátok • Nemcsak a hiányzó kauzalitás nehezíti a kutatást, hanem sok esetben metodikai korlátokkal is szembe

kerülünk. Egy ilyen metodikai hibalehetőségre hívja fel a figyelmet György Bence és munkatársai közleménye (2011) a mikrovezikulum- (MV) kutatásban. Megfigyelésük szerint a sejtek közötti kommunikáció új formájának, a mikrovezikulumnak kutatását nehezíti a tény, hogy a szérumban lévő fehérje aggregátumok mérettartománya és fényelérzékenysége hasonló citofluorimetria során, mint a mikrovezikulumoknak. Így a mikrovezikulum-kutatás során ez a metodika csak fenn tartásokkal alkalmazható. De ezen kiragadott példán túl számos metodikai, illetve technológiai korlát akadályozza azt, hogy parallel több biomarkert is vizsgáljunk, ami az adott patológias állapotot jellemzi, és amelyek segítségével a betegség minél koraiabb fázisban, esetleg még preszimptomásan felismerhető, és a terápia hatékonysága monitorozható. A problémát a komplexitás jelenti, ugyanis a legtöbb biológiai folyamat nagyon összetett, így általában egy vagy két biomarker ritkán tud a folyamatról elegendő információt szolgáltatni. A technológiai platformok fejlődése a teljes exom, illetve a teljes genom szekvenálásával számos genomikai biomarkert tud már a rendelkezésünkre bocsátani, azonban ezek értelmezése valódi kihívás a kutatók számára. A genomika mellett a proteomikai és metabolomikai biomarker vizsgálatok is egyre inkább előtérbe kerülnek. Modulunkban a tandem tömegspektrometria kiváló szakértői igyekezetnek a metabolitok feltérképezésével korai diagnosztikus biomarkereket azonosítani.

A diagnosztika korlátai sok esetben nehezítik a pontos diagnózis felállítását (a fenotipizálást), ami a klinikai ellátásban még mindig az egyik legnagyobb kihívás. Ennek oka, hogy a komplex betegségek ritkán homogének. Ez a megállapítás sokkal inkább szabály, mint kivétel, sok „betegség” valójában „szindróma”,

azaz tünetek összessége, a betegség folyamat és nem állapot, és a komplexitás többet kíván, mint egyszerű biomarker-keresést.

A paradigmaváltás: új betegségkonceptió, új betegségmodell

A betegség kialakulásáról alkotott koncepciónk átalakulóban van, hiszen a tradicionális, redukcionista koncepció, miszerint egy okra vezethető vissza egy adott betegség, megdőlt. Ma már minden betegség kialakulásában azt gondoljuk, hogy az alapkockázatot a környezeti tényezők modifikálják, és ezeknek a hatásoknak az együttes következménye a betegség kialakulása. Még a monogénesen öröklődő betegségekben sem hagyhatók figyelmen kívül se az intergénikus hatások, se a környezeti tényezők, nem is beszélve a poligénes, multifaktoriális komplex betegségekről, ahol számos gén variánsai (egyes nukleotid polimorfizmusok és a környezeti tényezők eredményezik a kóros állapotot. Mindkét típusú betegségben vannak köztes fenotípusok, melyek felismerése sokszor nem könnyű.

Kutatócsoportjaink eredményei (Reményi Viktória és munkatársai – *in print*) is találtak erre bizonyítékot. Megfigyeléseik alapján egy monogénesen öröklődő Charcot-Marie-Tooth-I betegségben az *Early Growth Response* (EGR2) gén patogén mutációját a perifériás mielin protein (PMP22) gén deléciója modifikálta, mégpedig jótékonyan, ui. a csak az EGR2-mutációt hordozó, kerekesszékhez kötött öccsével szemben járóképes volt az a beteg, akinél mindkét gén hibáját sikerült azonosítani.

A gén-gén interakció nemcsak a betegségek kialakításában fontos, hanem bizonyos személyiségvonások meghatározásában is. Bagdy György és munkatársai (közlés folyamatban) vizsgálatai szerint CB1R- és a SERT-

gén promóterei interakciójának szerepe van a szorongás kialakításában. Mindezt haplotípus-analízis és transzkripció faktor kötődési mintázat alapján sikerült bizonyítaniuk.

A komplex multifaktoriális betegségben még nagyobb szerepet kapnak a gén–gén interakciók. Sok esetben nem patogén mutációk, hanem az egészséges populációban is változó gyakorisággal jelenlevő polimorfizmusok együttese hajlamosít egy adott komplex betegségre. Ahhoz, hogy ezeknek a genetikai szuszceptabilitási tényezőknek a hatása érvényre jusson, különböző környezeti tényezők együttes jelenléte is szükséges. Kutatásaink során több ilyen komplex betegség genomikáját is kutattuk, ezek közül két autoimmun betegséggel kapcsolatos eredményeinket mutatjuk be.

A miaszténia grávisz egy ritka autoimmun betegség, melyet kóros izomfáradékonyság jellemez, és legtöbb esetben az acetilkolin receptor, illetve a MuSk-ellenes ellenanyagok felhalmozódása okozza a betegséget. A betegségre hajlamosító genetikai tényezők vizsgálata

lata során talált eredményeinket a 2. táblázatban foglaltuk össze.

Az asztmakutatás során igazoltuk az oxidatív stresszre adott választ reguláló transzkripció faktor szabályozó régiójában (NFE2L2) két egyes nukleotid polimorfizmus inverz asszociációját az infekciós eredetű asztmával. Egy másik asztmatípusban, a nem allergiás asztmában a BIRC5-gén szabályozó régiójában talált két egyes nukleotid polimorfizmus szignifikáns asszociációt Falus András kutatócsoportja (személyes közlés). A hatás nőkben erősebb volt, mint férfiakban. A betegség patomechanizmusát keresve pedig az asztmatikus légúti gyulladásban egy nyákszekréciót reguláló, antibakteriális oldható lektin fehérje, az INTL1 génexpressziójának növekedését is megfigyelték.

A genetikai tényezők fontosak a szervezeteinket érő külső hatások, sebészi beavatkozások, intervenciós kezelések sorsát illetően is. Ilyen például a koronáriaszűkület esetén behelyezett koronária sztent, mely a behelyezést követően sztentotizálhat (*In Stent ReStenosis* – ISRS). A resztenózist befolyásoló tényezők lehetnek betegfüggőek, mint például a társbetegségek (diabétesz mellitusz, hipertónia), a beteg neme, a sztentózis súlyossága és genetikai tényezők. Vannak magából az eljárásból adódó hajlamosító tényezők is, mint a sztent megtöretése, a nem megfelelő sztent expanzió és a sztent nem megfelelő pozíciója. Merkely Béla és munkatársai (*in print*) koronária sztent behelyezés után 133 *in stent restenosis*-ban szenvedő beteg és 69 kontrollegyen VEGF C2578A és VEGF G405C SNP-it vizsgálta. Előzetes eredményeik szerint mindkét SNP jelenléte „védőfaktor” lehet az ISRS kialakulásával szemben.

Az új betegségmodell • A 21. században új betegségmodell van kialakulóban, melyben a beteg egy egészségügyi ökoszisztéma közepontjában áll, az orvos, a finanszírozó és a gyógyszeripar háromszögében. A rendszer a betegségre hajlamosító rizikófaktorok becslésével indul még az egészséges egyénnél. Ezek a rizikófaktorok származhatnak a genetikai okokból, de adódhatnak az életmódból, illetve a környezeti tényezőkből is. Abban az esetben, ha a prevenció stratégia nem működik, kialakul a betegség, majd megszületik a diagnózis. De egy betegcsoporton belül (például cukorbetegség) stratifikációra van szükség, azaz lehetőség szerint meghatározni a betegségre vezető okokat. A stratifikáció teszi majd lehetővé a célzott oki kezelést.

A legtöbb betegség esetében szimptomákkal találkozunk (például pszichózis), ami számos ok miatt alakulhat ki, tehát több betegség tünete is lehet. Ilyen esetekben rendkívül fontos a betegség pontos okának tisztázása, tehát az adott szimptomával rendelkezők alcsoportba osztása, azaz stratifikációja. Például a skizofrénia egy nagyon heterogén betegcsoport, amelyben ismerjük, hogy

erős a genetikai determináció. A betegség komplex, multifaktoriális, de az eddig elvégzett genetikai kutatás ellenére nem sikerült a genetikai hajlamosító tényezőket azonosítani (*missing heritability*). Vizsgálataink arra hívták fel a figyelmet, hogy vannak olyan monogénes betegségek, melyek a skizofrénia tüneteit utánozva más öröklődésmenetet mutatnak. Ilyen például a Niemann–Pick C betegség felnőttkorban manifesztálódó formája, mely diagnosztikájának javítása, tehát a stratifikáció előremozdítása céljából speciális diagnosztikai módszert, a fibroblast-tenyésztetek filipin festését vezettük be a klinikai gyakorlatban. E betegcsoport azonosítása a skizofréniaszerű tüneteket mutatók között különösen fontos, mert ennek a betegségnek oki terápiája is létezik, tehát a betegek kezelési módja eltér a komplex, multifaktoriális betegekétől.

Egy másik nagy betegcsoportban, az Alzheimer-kórban a korai diagnózis felállítását célozták meg tandem-tömegspektrometriás vizsgálataink, melyek során biztosan Alzheimer-kórban szenvedők és egészséges idős kontrollok agymetszeteit elemeztük tömegspektrometriás képképző eljárással (DESI-tömegspektrometriás imaging). A degenerációra jellemző lipidomikai/metabolomikai markerek azonosítása során eddig 34 potenciális markert sikerült azonosítanunk.

A tandem tömegspektrometria a sebészeti beavatkozások során abszolút individualizált döntéseket tesz lehetővé. Modulunk Takáts Zoltán által vezetett kutatócsoportja formatervezett, ergonómikus mintavető intelligens sebészeti kést állított elő, amely képes az elektrosebészeti folyamat során keletkező gázfázisú ionok elszállítására és valós idejű elemzésére is. Alkalmazása az operatort műtét közben a szövet összetételének valós idejű elemzésével segíti a döntésben, hogy például

gén	vizsgált SNP-k	korábban leírt betegség-asszociáció
ösztrogén receptor α	rs2234693 rs9340799	reumatoid arthritisz, szklerózis multiplex
IL-4R α	rs1805010 rs1805015 rs1805075	asztma, reumatoid arthritisz, szklerózis multiplex
IL-2R β	rs743777 rs228941	reumatoid arthritisz
Galektin-1	rs4820293 rs4820294	—
Galektin-8	rs2737713	—

2. táblázat • A miaszténia gráviszra hajlamosító genetikai vizsgálatok eredményeit foglalja össze a táblázat. A vizsgálatokat Molnár Mária Judit munkacsoportja végezte. A félkövérrel szedett egyes nukleotid polimorfizmusok mutattak pozitív asszociációt a miaszténia gráviszra, a többi SNP-t a vizsgálatok nem igazolták miaszténia gráviszra hajlamosító tényezőnek.

tumor eltávolítása esetén hol legyen a kimetszés határa. A témáról bővebben olvashat a *Magyar Tudomány* jelen különszámában Szaniszló Tamás és mtsai közleményében.

Farmakogenomika és individualizált kezelések

A farmakogenomika a gyógyszerhatást befolyásoló tényezők összességének egy része. A gyógyszerhatást ui. külső és belső tényezők határozzák meg. A külső tényezők között szerepel többek között a környezet, a klíma, a szennyezés, a szocioökonomiai tényezők, az oktatás, az orvosi gyakorlat, az alkoholfogyasztás, a táplálkozás, a társ gyógyszerek használata, a stressz. A belső tényezők egyike a farmakogenomika, amelyet a gyógyszerek metabolizmusában részt vevő enzimeket kódoló gének polimorfizmusai jellemeznek, de ezek mellett fontos tényező még az egyén viselkedése, kora, betegségei, májának, veséjének és szívének állapota, valamint a *compliance*.

Modulunk kutatócsoportjai farmakogenomikai kutatásokat is végeztek a projekt keretén belül. Bagdy György és munkatársai kutatásai során egyes gyógyszerek depressziót, szorongást kiváltó hatásait találták összefüggésben az SLC6A4, CNR1 gének SNP-jével (Lazáry et al. 2011). Sok esetben nemcsak egy SNP határozza meg az adott gyógyszer metabolizmusát, hanem itt is gén-gén interakciók felelősek a gyógyszermetabolizmusért. Ilyen pl. Lazáry Judit és munkatársai (2011) megfigyelése, miszerint a CB1R és a szerotonin transzporter gének SNP-ivel kiszűrhetők azok az egyének, akik rimonabant (obezitás-terápiában használatos gyógyszer) mellett rezisztensek a pszichiátriai mellékhatásokra.

Molnár Mária Judit és kollégái a CYP2C19 gén 2* allél hatását határozták meg a magyar betegekben a cerebrovaszkuláris betegségek

kezelése során (Nyíró et al., 2012). Elemeztük az mtDNS A1555G és C1494G SNP-k predikciós erejét a hazai populációban az aminosav-indukálta süketiségre (Gál et al., 2011, 23–24.). Falus András munkatársai az ABC1 (MRP1) transzporter gén genotípus hatását vizsgálták kemoterápia okozta kardiális mellékhatások vonatkozásában. Semsei Ágnes és munkatársai (2011) azt találták, hogy az ABC1 rs3743527 polimorfizmusának ismerete megjósolhatja az *anthraciklin* indukálta kardiotoxicitást a gyermekkori akut limfoblasztos leukémiában (lásd a *Magyar Tudomány* jelen különszámában Semsei Ágnes és munkatársai közleményét).

A gyógyszerek hatásossága nem csak egyes nukleotid polimorfizmusok segítségével jósolható meg. Szklerózis multiplexben (SM) jól ismert, hogy az interferon béta kezelés során a gyógyszer hatását negatívan befolyásoló ellenanyagok keletkeznek. Az ellenanyag kimutatása nem vált a rutin klinikai gyakorlat részévé, mivel a metodika drága és nem felhasználóbarát. Munkacsoportunk a Debreceni Egyetem Neurológiai Klinikájával közösen azt vizsgálta, hogy a mixovírus rezisztencia protein (MXA) mRNS expressziója alkalmas-e annak predikciójára, hogy mely SM-betegeknél válik hatástalanná az interferon béta kezelés. Az MXA alacsony titerre az interferon béta kezelés mellett segíti a kezelőorvost abban a döntésben, hogy terápiás stratégiát váltson, és a hatástalan drága készítményt ne alkalmazza éveken át (Csépany et al., 2011, 23–24.).

Röviden összefoglalva mit is várhatunk a személyre szabott orvoslástól?

A betegségek molekuláris alapjainak megértésével, a betegség-alcsoportok azonosításával, és az egyének bizonyos betegségekre való

hajlamának meghatározásával segíti a megelőzést, az egészségügyi ellátást, a gyógyszeres kezelési stratégia optimalizálását. Célja az egyes betegek egyéni jellegzetességeinek megfelelő, individualizált kezelési és prevencióstratégia felállítása. Segítségével pontosabb diagnosztikához juthatunk. A genetikai és környezeti tényezők figyelembevételével prediktálja a betegségekre való egyéni hajlamot,

IRODALOM

- Csépany T. et al. (2011): *Magyar Személyre Szabott Medicina Társaság 2. Konferenciája. Eger, 2011. 09. 23.–24.*
- Gál A. et al. (2011): *Magyar Személyre Szabott Medicina Társaság 2. Konferenciája. Eger, 2011. 09. 23.–24.*
- Gonda X. – Fountoulakis, K. N. – Csukly G. et al. (2011): Interaction of 5-HTTLPR Genotype and Unipolar Major Depression in the Emergence of Aggressive/Hostile Traits. *Journal of Affective Disorders*. 132, 3, 432–7.
- György B. – Módos K. – Pállinger E. et al. (2011): Detection and Isolation of Cell-derived Micro-particles Are Compromised by Protein Complexes Resulting from Shared Biophysical Parameters. *Blood*. 117, 4, e39–48.
- Inczédy-Farkas G. – Reményi V. – Gál A. et al. (2012): Psychiatric Symptoms of Patients with Primary Mitochondrial DNA Disorders. *Behavioral and Brain Functions*. 13, 8, 1, 9.
- Juhász G. – Dunham, J. – McKie, S. et al. (2011): The CREB1-BDNF-NTRK2 Pathway in Depression: Multiple Gene-Cognition-Environment Interactions. *Biological Psychiatry*. 69, 8, 762–771.
- Kéri Gy et al. (2011): *European Stroke Conference (ESC): Hamburg from 24 – 27 May 2011.*
- Lazáry J. – Lazáry A. – Gonda X. et al. (2008): New Evidence for the Association of the Serotonin Transporter Gene (SLC6A4) Haplotypes, Threatening Life Events, and Depressive Phenotype. *Biological Psychiatry*. 15, 64, 6, 498–504.
- Lazáry J. – Juhász G. – Anderson, I. M. et al. (2011): Epistatic Interaction of Creb1 and Kcnj6 on Rumi-

teszi lehetővé a betegség korai felismerését. A genetikai és személyes információk alapján lehetővé teszi a mellékhatás nélküli gyógyszeres dózisválasztást. Mindez javítja az egészségügyi ellátás hatékonyságát, minőségét, és költséghatékonyabbá teszi az egészségipart.

Kulcsszavak: *személyre szabott orvoslás, genomika, prevenció, predikció*

- nation and Negative Emotionality. *European Neuropsychopharmacology*. 21, 1, 63–70.
- Lazáry J. – Juhász, G. – Hunyady, L. – Bagdy, G. (2011): Personalized Medicine Can Pave the Way for the Safe Use of CB(1) Receptor Antagonists. *Trends in Pharmacological Sciences*. 32, 270–80.
- Mekli K. – Payton, A. – Miyajima, F. et al. (2011): The HTR1A and HTR1B Receptor Genes Influence Stress-Related Information Processing. *European Neuropsychopharmacology*. 21, 1, 29–39.
- Molnár M. J. (2011): Gyógyítás a posztgenomikus korszakban. Transzláció a személyre szabott orvoslás irányába. *Medical Tribune*. 9, 13–14, 10–11.
- Németh Gy. (2011) Perszonalizált, preventív, proaktív. Költségsökkentés nem, hatékonyságfokozás igen. *Medical Tribune*. 9, 13–14, 3.
- Nyíró G. et al. (2012): The Effect of the CYP 2C19*2 Polymorphism on Stroke Care. *Acta physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 99, 1, 33–39.
- Pál Zs. – Antal P. – Millinghoff A. et al. (2010): A Novel Galectin-1 and Interleukin 2 Receptor β Haplotype Is Associated with Autoimmune Myasthenia Gravis. *Journal of Neuroimmunology*. 15, 229, 1–2, 107–111.
- Pál Zs. – Varga Z. – Semsei Á. et al. (2012): Interleukin-4 Receptor Alpha Polymorphisms in Autoimmune Myasthenia Gravis in a Caucasian Population. *Human Immunology*. 73, 2, 193–195.
- Semsei Á. F. – Erdélyi D. J. – Ungvári I. et al. (2012): ABC1 Polymorphisms in Anthracycline-induced Cardiotoxicity in Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Cell Biology International*. 1, 36, 1, 79–86.

A GYERMEKKORI AKUT LIMFOID LEUKÉMIA FARMAKOGENETIKÁJA EGY GYÓGYSZERMELLÉKHATÁS PÉLDÁJÁN

F. Semsei Ágnes

MSc, Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet
f.semseia@gmail.com

Kutszegi Nóra

MSc, Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Eipel Olivér

MD, Semmelweis Egyetem
II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika

Szalai Csaba

PhD, DSc, Heim Pál Gyermekkorház, MTA–SE
Gyulladásbiológiai és Immunogenetikai Kutatócs.

Erdélyi Dániel

MD, PhD, Semmelweis Egyetem Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet,
Semmelweis Egyetem II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika

Lautner-Csorba Orsolya

MSc, Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Schermann Géza

MD, Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Falus András

PhD, DSc, Semmelweis Egyetem
Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet

Kovács T. Gábor

MD, PhD, Semmelweis Egyetem
II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika

A gyermekkori akut limfoid leukémia

A gyermekkori akut limfoid leukémia (ALL) egy rosszindulatú hematológiai betegség, amit a limfoid (nyirok) sejtek rosszindulatú elfajulása jellemez. Bár a ritka betegségek közé tartozik, mégis ez a leggyakoribb gyermekkori hematológiai betegség Magyarországon. Incidenciája (azaz egy meghatározott időszakban észlelt új esetek száma) a magyar populációban 3:100 000-hez, ez körülbelül évi ötvenhatvan új megbetegedést jelent. Leggyakrabban kettő-öt éves kor között alakul ki.

A gyermekkori akut limfoid leukémiában a B- vagy T-limfoid vonal sejtjeinek megváltozott genetikai információja fokozott sejtosztódást eredményez. Kialakulásának okai még nem teljesen ismertek, de az biztos, hogy környezeti és genetikai tényezők egyaránt hozzájárulnak a betegség kialakulásához. A leukémiás sejtek a fehérvérsejtek normális védekező feladatát nem tudják ellátni. Szaporodásukkal és a csontvelőben és a vérben való felhalmozódásukkal kiszorítják az ép elemeket is, ami vérszegénységhez, fertőzésekhez és vérzésekhez vezethet.

A betegség lefolyása nagyon gyors. Gyakori a csontfájdalom, a máj, a lép és a nyirokcsomók megnagyobbodása, sápadtság, bőrvérzések, általános gyengeség. A diagnózis felállításához általános vérkép- és vérkenet- vizsgálatot, majd csontvelőbiopsziát végeznek. A mintákat morfológiai, immunfenotípus- és genetikai vizsgálatoknak vetik alá (Pui et al., 2004).

A gyermekkori akut limfoid leukémia kezelése

Hazánkban a betegeket a Berlin–Frankfurt–Münster- (BFM) munkacsoport által kifejlesztett terápiás protokollok szerint kezelik. Ez egy hat-nyolc hónapos, úgynevezett intenzív kezelési szakaszból, majd további másfél éves fenntartó kezelési szakaszból áll. A protokoll több terápiás ágat tartalmaz, a betegeket ezekbe különböző rizikófaktorok és a kezelésre adott kezdeti válasz alapján osztják be. A kezelés során a betegek többször kapnak intravénásan kemoterápiát (az alkalmazott gyógyszerek közé tartoznak: vinkrisztin, aszparagináz, daunorubicin, doxorubicin, metotrexát, ciklofoszfamid, citozin-arabinozid, a magas rizikójú ágon továbbá ifoszfamid, vindezin, etopozid, szájon át prednizolon, dexametazon, merkaptopurin, tioguanin). A központi idegrendszeret célozva a gerincvelőbe metotrexátot, és a magas malignitású ágon prednizolont, citozin-arabinozidot alkalmaznak, és a betegek egy kis hányada agyi/gerincvelői sugárkezelésben részesül.

A kezelés célja annak az állapotnak (*remisszió*) az elérése, amikor a beteg tünetmentes, és vérében már nem található kóros sejtek. Ekkor azonban még maradhat leukémia sejt a páciensben, amiből a betegség újra kialakulhat, az eredeti sejtpopuláció megjelenhet, ez a *relapszus*. Ha öt évig megmarad a remisszió állapota, a beteg gyógyultnak

tekinthető, mert ezután már csak ritkán következik be relapszus.

A kemoterápia késői mellékhatásai

Napjainkban a gyermekkori akut limfoid leukémiában (ALL) megbetegedett gyermekek túlnyomó többsége meggyógyul, és még évtizedekig él a betegsége után. Az öt éves túlélés hazánkban is 80% fölé emelkedett. Az ALL kezelése az elmúlt ötven évben nagyon sokat fejlődött. A rizikócsoportok pontos meghatározása, a több gyógyszert alkalmazó kombinált terápia használata, az összejtültetés bevezetése és fejlődése, a jobb technikai felszereltség a betegség túlélését jelentősen megnövelte. A gyermekeknél az öt éves túlélés ezek hatására nőtt 30%-ról 80%-ra az elmúlt ötven évben.

Sajnálatos módon azonban a hosszú távú túlélés ALL után nem jelenti azt, hogy az egykori betegek teljesen egészségesek. A kemoterápia nagyon komoly gyógyszeres beavatkozás a szervezet sejtjeinek anyagcseréjébe. Ezért ennek késői mellékhatásai évtizedekkel a kezelés befejezte után is megjelenhetnek. Általában véve a gyermekkori rosszindulatú daganatos betegségek túlélői gyakrabban szenvednek fizikális egészségügyi problémáktól, mint társaik. A túlélők körülbelül 40%-ánál jelentkezik valamilyen egészségügyi probléma a diagnózis után harminc éven belül. A gyermekkori daganatok kezelésének késői mellékhatásai a túlélési idő növekedésével arányosan gyakrabban fordulnak elő. A terápia késői hatásaként többek között másodlagos tumorok, szívproblémák, légzőrendszeri problémák, elhízás alakulnak ki. A szívét ért sugárterhelés, a nagy dózisú antraciklinkezelés összefügg a késői szívproblémák miatt jelentkező, súlyos, életet is fenyegető következményekkel.

Mivel a daganatos betegségek hosszú távú túlélőinek száma szerencsére növekszik, fontos a kezelés késői mellékhatásainak vizsgálata. Az eredeti betegségük miatt egyre kevesebben halnak meg, sokkal többen a késői szövődmények, késői mellékhatások, többek között a szívproblémák miatt. A károsodás megelőzése különösen fontos a gyermekekben, mert ők a kezelés után még sok évtizedig élnek. A kóros eltérések minél hamarabbi felismerése szükséges a károsító terápia függesztéséhez és a korai kezelés elkezdéséhez. Ezért fontos a betegek állandó vizsgálata a szubklinikus, azaz diagnosztikus eljárással kimutatható, de klinikai tüneteket nem mutató elváltozások felismerése érdekében is.

Ezért a legújabb gyermekkori akut limfoid leukémiával kapcsolatos kutatások elsődleges célja ma már nem csupán a túlélési arány növelése, hanem a felnőttkori életminőség javítása a kemoterápia késői mellékhatásainak minél hamarabbi felismerése és csökkentése által (Fulbright et al., 2011).

A farmakogenetika tudománya

Az 1950-es években dokumentálták először, hogy a gyógyszerek hatásában mutatkozó különbségek okaiért öröklött tényezők is felelősek, ezzel megindítva a farmakogenetikai kutatásokat. Ez azt jelenti, hogy különböző emberek eltérő módon reagálhatnak ugyanarra a gyógyszeres kezelésre, és ez az eltérés gyakran nagyobb az egyes emberek között, mint egy egyénen belül különböző időpontokban. A betegek közt jelentősen eltér a mellékhatások mértéke és kialakulásának ideje, ami a genetikai háttér befolyásoló szerepére utal. A gyógyszeres kezelés hatását befolyásolja az életkor, a szervek működése, gyógyszerkölcsonhatások, a betegség természete, a nem, de a gyógyszerekre adott válasz

különbségének 20–95%-ban genetikai oka van. A legtöbb gyógyszerhatást számos gén-termék kölcsönhatása határozza meg, melyek befolyásolják a gyógyszerek szervezetbeni sorsát és a gyógyszer szervezetre kifejtett hatását. Különbségek lehetnek a gyógyszercél-pont-molekulákat, gyógyszer szállító-fehérjéket, anyagcsere-enzimeket kódoló génekben, és a variánsok között előfordulhat olyan, amely befolyásolja a felszívódást, a szervezeten belüli eloszlást, anyagcserét vagy kiválasztást, és így klinikailag jelentős hatása van. A farmakogenetika és a farmakogenomika az öröklődés szerepét kutatja a gyógyszerekre adott reakció egyedi különbségeiben. A farmakogenetika egyes genetikai variációkra fókuszál, míg a farmakogenomika több genetikai eltérést vizsgál egyszerre, azaz a teljes genom szintjén végez megfigyeléseket. Sok esetben nem elég egyetlen genetikai eltérést vizsgálni, mert például az anyagcsere-enzimek legtöbb variáns formája csak kis mértékben tér el a normál típusútól, viszont több eltérés kombinációja egy anyagcsere-útvonalon belül már jelentős mértékben befolyásolhatja a terápiára adott választ. A farmakogenetika az egyéni variációkat felhasználva lehetőséget ad a személyre szabott gyógyszerelésre: a megfelelő gyógyszer és dózis beállítására, ezzel növelve a kezelés hatékonyságát, és csökkentve a toxicitást, a mellékhatásokat. Ez azoknál a gyógyszereknél különösen fontos, ahol viszonylag kicsi a különbség a káros és a gyógyító dózis között, vagy amelyek esetében nagy az egyének közötti különbség a hatás vagy a mellékhatások tekintetében, és ezeket nehézkes lehetne egyénenként követni, illetve nincs más terápiás lehetőség. A fentiek igazak a kemoterápiás szerekre, és a daganatos megbetegedések súlyos kimenetele miatt is fontos az onkológiában a farmakogenetika alkalmazása.

A farmakogenetikai kutatások célja a terápia további személyre szabása, annak érdekében, hogy a terápia hatékonyságát és biztonságosságát növeljék (Sim – Ingelman-Sundberg, 2010).

A fenti folyamatokban közreműködő genetikai eltérések lehetnek többek között egy pontos nukleotid polimorfizmusok (SNP-k). Ezek esetében a DNS-t felépítő nukleotidok közül egy kicserélődik, például timin (T) helyett citozin (C) lesz az adott helyen. Az ilyen típusú eltéréseket akkor tekintjük SNP-nek, ha a változat legalább 1%-ban előfordul a vizsgált populációban. Az SNP-k hivatalos azonosítója az rs (reference SNP) rövidítést követő szám, például rs3743527. Az SNP-eket az NCBI (National Center for Biotechnology Information) által létrehozott nyilvános SNP-adatbázisban (URL) gyűjtik össze.

Az SNP-k előfordulása a xenobiotikumokat, azaz testidegen anyagokat metabolizáló enzimekben, xenobiotikum-szállító molekulákban vagy gyógyszer-célpontokban befolyásolhatja a betegség kialakulását, a kezelés hatékonyságát vagy mellékhatások előfordulását.

Az antraciklinek kardiotoxikus hatása

A gyermekkori akut limfoid leukémia kezelése után előforduló egyik legfontosabb késői mellékhatás a kardiotoxicitás, azaz a szív károsodása, aminek kialakulásában az antraciklinek nagy szerepet játszanak. Az egyes betegek közt jelentősen eltérhet a károsodás mértéke és kialakulásának ideje, ami a genetikai háttér befolyásoló szerepére utalhat. A gyógyszer anyagcseréjében, a mellékhatás kialakulásában szerepet játszó gének egy pontos nukleotid polimorfizmusai okozhatnak ilyen eltérést. Az antraciklinek közül a doxorubicin és daunorubicin természetes vegyületek, amelyeket először mint antibiotikumokat izoláltak. A

daunorubicint elsősorban hematológiai betegségek, például: leukémiák, limfómák, a doxorubicint szolid tumorok, például: karcinómák, szarkómák kezeléséhez használják. Magyarországon a BMF-protokollokkal kezelt ALL-es gyermekek mind a kettőt kapják.

Az antraciklinek a leghatékonyabb daganatellenes szerek közé tartoznak, a gyógyszer használatának bevezetése hozzájárult a túlélés 80%-ra való növekedéséhez. Alkalmazásukat korlátozza, hogy a szívműködést nagymértékben károsítják. Az antraciklinek okozta kardiotoxicitás kialakulásának menete még nem teljesen ismert, de valószínű, hogy az alapvegyület és az anyagcsere-termékei is károsítják a szívet. A folyamatok feltehetőleg egymást erősítik, és a korai toxicitás hozzájárul a betegség későbbi kialakulásához (Lipshultz et al., 2008).

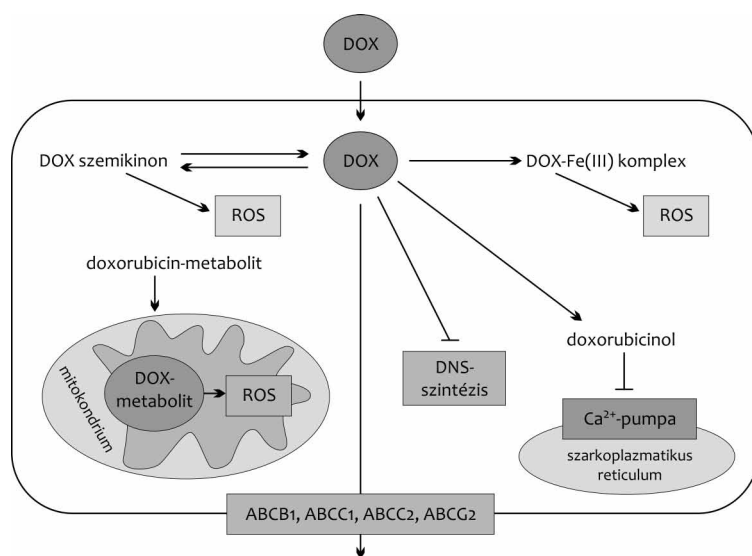
Az antraciklinek zsírszárban oldódó vegyületek, ezért a sejtek membránján való átjutásuk passzív diffúzióval történik. Egyik sejtkárosító hatásuk a reaktív oxigéngyökök (ROS) képzése, ami többféle úton lehetséges (i. ábra). Az enzimatis úton szemikininon keletkezik belőlük, amelynek spontán visszaalakulása során először szuperoxid-anion, majd ebből hidrogén-peroxid keletkezik. Antraciklin-vas-komplexek keletkezésekor az antraciklinek vasionokkal reagálnak; ez is katalizálja a reaktív oxigén gyökök keletkezését. Egyéb antraciklinanyagcsere-termékekről feltételezik, hogy a mitokondriumba bejutva hozzákapszolódnak a mitokondrium belső membránjában található kardiolipinhez, a légzési láncot gátolják, és hatásukra itt is keletkeznek reaktív oxigéngyökök. Az antraciklinek emellett alkohol-metabolitá (például doxorubicinol) alakulnak, ami felhalmozódva a szívműködésben a szívet hosszú távon károsíthatja a szarkoplazmatikus retikulum Ca^{2+} -pumpájának gátlása-

val. Emellett feltételezik, hogy az antraciklinek a DNS kettős spiráljába is beekelődnének, így meggátolva a DNS-szintézist. Az antraciklinek a sejtekből az ABC-transzporterek segítségével szállítódnak ki, ezért a sejten belüli antraciklinszint fő meghatározója a transzporterek működése. Az ABC-transzporterek (ABC – *adenosine triphosphate binding cassette*, azaz ATP-kötő kazetta) olyan sejtmembránon átívelő szállítófehérjék, amelyek többek között sokféle káros anyag szállítására képesek, és ezért egyik fontos funkciójuk az emlős szövetek idegen anyagokkal szembeni védelme. Nevük onnan ered, hogy működésük során ATP-t kötnek, ezt bontják, és a felszabaduló energia felhasználásával szállítják át a szubsztrátjaikat a sejtmembránon. Hiányos működésük miatt a szervezet nagyobb mértékben kitett a xenobiotikumok károsító hatásának.

Az antraciklinek által létrehozott toxicitás valószínűleg minden sejtet érint, de a gyorsan

osztódó sejtek az ártalmas hatást valószínűleg könnyebben ki tudják védeni. A szívizomsejtek lassan vagy egyáltalán nem osztódnak, károsodás esetén a szív normális szerkezetét inkább a térfogatuk növelésével tartják fenn.

Az antraciklinek oxidatív károsító hatása ellen fontos védelmi rendszer a glutation redox ciklusa. A glutation a fő sejten belüli antioxidáns, az oxidatív stresszel szembeni védekezés egyik legfontosabb eleme. A szívizomsejtekben az oxidatív stresszel szembeni védelmi rendszer részeinek alacsony a szintje, azaz mind a glutation-peroxidáz-, mind a szuperoxid-dizmutáz-, mind a katalázszint alacsony. Az antraciklinek szívkárosító hatásához hozzájárul még az is, hogy a beadásuk után a glutation-peroxidáz-szint jelentősen lecsökken az enzim inaktiválódása miatt. A szívizomsejtek fogékonyabbak az antraciklinek károsító hatására a kardiolipin magas szintje és a fokozott metabolikus aktivitásuk



1. ábra • Az antraciklinek hatásmechanizmusa a doxorubicin példáján. ABCB1: ABCB-alcsalád első tagja (URL2); ABCC1: ABCC-alcsalád második tagja; ABCC2: ABCC-alcsalád második tagja; ABCG2: ABCG-alcsalád második tagja; DOX: doxorubicin, ROS: reaktív oxigénradikál.

miatt is. A szívizomszövetben a magas ATP-szükséglet miatt igen sok mitokondrium van, ezek funkcióvesztése szintén hozzájárulhat az antraciklinek szívspecifikus károsításához.

Az antraciklinkezelés utáni szívkárosodás korai és késői szakaszra osztható fel. A korai akut kardiotoxicitás a kezelés közben vagy a kezelés utáni egy évben alakul ki. Ebbe az átmeneti rendellenességek is beletartoznak, amiket általában gyógyulás követ. Késői vagy krónikus kardiotoxicitásról akkor beszélünk, ha a tünetek egy évvel a kezelés után jelentkeznek (Mordente et al., 2009).

A szívfunkció vizsgálatára többféle módszer létezik. Az egyik széles körben használt technika a szívultrahang. Ez egy gyors, gazdaságos, biztonságos módszer. A mérés eredményei alapján határozzák meg többek között a lineáris ejekciós frakció értékét. A lineáris ejekciós frakció a bal kamra működésére utal, ha romlik a szívfunkció, csökken az értéke. A szívfunkció jelentős károsodásáról akkor beszélünk, ha a lineáris ejekciós frakció értéke 10 percentilis értékkel csökken az előző vizsgálathoz képest, vagy 30% alatt van.

Az antraciklin okozta kardiotoxicitás lehet aszimptomatikus, amikor csak szívultrahangon követhető változásokat figyelhetünk meg, például a bal kamra tömegének csökkenését vagy lineáris ejekciós frakció csökkenést, de klinikai tünetek nincsenek. Feltételezhető, hogy az antraciklinkezeléshez kapcsolódó nagyon kicsi rendellenesség is maradandó szívizom-károsodáshoz vezet.

Az antraciklinek használata során a betegek között jelentős különbségek figyelhetők meg a szívproblémák kialakulásában, ami genetikai háttér jelenlétére utal. Kutatási eredmények bizonyítják, hogy a szabadgyökképzésben részt vevő gének, az antraciklin-transzportját végző ABC-transzporterek és az ant-

raciklin metabolizáló gének hozzájárulnak a kardiotoxicitás egyéni különbségeihez.

Farmakogenetikai háttér kutatása saját vizsgálatunk példáján

Az antraciklinek több ABC-transzporternek is szubsztrátjai, amelyek nagyon fontosak ezeknek a gyógyszereknek a sejtől történő kiszállításában. Ezek közül egyik az *ABCC1* (*ATP-binding cassette, sub-family C, member 1*), az ABC-transzporter géncsalád C1-es tagja. Minden szövetben jelen van, a legnagyobb mértékben a tüdőben, herében, vesében és a szívben. Fontos szerepe van a káros anyagok szervezetből való eltávolításában és a sejtek védelmében. A vér-szövet gátakban pedig hozzájárul a határfunkció kialakításához (Bakos – Homolya, 2007).

Az antraciklinek kardiotoxicitásának genetikai háttére jobb megértéséhez azt vizsgáltuk, hogy az ALL-es gyermekekben az antraciklinekkel történő kezelés után az *ABCC1* gén kilenc egyponos nukleotid polimorfizmusa befolyásolja-e a szív funkcióját. Célunk volt az ALL gyógyításában nagyon hatékonyan alkalmazott antraciklinek mellékhatásként fellépő kardiotoxicitás kialakulásának genetikai háttérét vizsgálni.

A szív működését a bal kamrai lineáris ejekciós frakcióval (linEF) jellemeztük, amit a kezelés során rendszeresen végzett szívultrahangos mérésekből számoltunk. A szívultrahangos mérést a Magyarországon kezelt ALL-s gyermekek esetében a kezelés megkezdése előtt és minden következő antraciklin dózis után elvégzik. Ezen kívül az ismert kardiotoxikus hatás miatt a gyógyulás után is visszahívják évenkénti kontrollra az egykori betegeket.

Munkánkban az antraciklinek kardiotoxikus hatását hat kórházból összegyűjtött 235

betegadatai alapján tudtuk vizsgálni. Három időpontban végzett szívultrahang adataival számoltunk. Ezek a diagnózis ideje, a kezelés befejezésének ideje, ami átlagosan 2,1 évvel a diagnózis után történt, és az utolsó követési időpont, átlagban 6,6 évvel a diagnózis után.

A vizsgált betegcsoporton kapott eredményeinket az alábbiakban foglaljuk össze. A teljes vizsgálat részletes leírását az eredeti cikkben ismertettük (Semsei et al., 2012). A diagnózis időpontjában mért szívultrahangos adatok alapján számolt linEF-értékek nem tértek el a három genotípuscsoportban egyik SNP esetén sem. Ezt az időpontot kontrollként használtuk. Azt ellenőriztük vele, hogy a szívfunkció nem eredendően alacsonyabb-e bizonyos genotípus esetén, azaz, hogy valóban a kemoterápia hatását mutatja-e a későbbi időpontban kapott összefüggés. A kemoterápia után az rs3743527 TT genotípusú betegek a kezelés befejezésekor meghatározott szívfunkciója szignifikánsan alacsonyabb volt (34,0%), mint a CC (39,5%) és CT (39,3%) genotípusú betegeké ($p=0,001$) (1. táblázat). Hasonló tendenciát figyeltünk meg az utolsó szívultrahangmérés alapján számolt linEF-értékeknél. Az rs3743527 TT genotípusú betegek utolsó linEF-értéke 35,3%, a heterozigótáké 38,9%, a CC homozigótáké 38,7% volt, ami szintén mutatja a TT genotípushoz tartozó alacsonyabb értékeket, bár itt a külön-

ség statisztikailag nem szignifikáns. A vizsgált betegpopulációban az *ABCC1* egyik egypon-
tos nukleotid polimorfizmusa összefüggött a csökkent szívfunkcióval. Eredményünk alapján az *ABCC1* genetikai variánsai közrejátszhatnak az antraciklinek kardiotoxikus mellékhatásának kialakulásában, befolyásolhatják a szervezet antraciklinek elleni védekezését és a szívfunkció csökkenését okozhatják.

Fontos megjegyezni, hogy a legalacsonyabb mért szívfunkció is a normális tartományban van. A National Cancer Institute (USA) Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v3.0 megállapítása szerint bal kamrai alulműködést jelent, ha a lineáris ejekciós frakció értéke 30% alatt van. Úgy véljük azonban, hogy a még normális tartományban levő, de alacsonyabbnak mérhető szív működés a betegben prognosztikus jelentőségű lehet, későbbi súlyosabb szívprobléma kialakulása szempontjából.

A szakirodalomban idáig két olyan közlemény jelent meg a saját vizsgálatunkon kívül, amely ABC-transzporterek szerepét vizsgálja az antraciklinek mellékhatásaként kialakuló szívpanaszokban. Leszek Wojnowski munkacsoportjában non-Hodgkin-limfómás felnőtt betegekben azt találták, hogy összefüggés van *ABCC1* rs45511401 egypon-
tos nukleotid polimorfizmusa és az akut antraciklin okozta kardiotoxicitás kialakulása között (Wojnowski

et al., 2005). A másik tanulmányban többféle, antraciklinekkel is kezelt gyermekkori tumoros beteget vizsgáltak. Eredményeik között szerepelt az *ABCC1* rs4148350 SNP és az antraciklin okozta kardiotoxicitás összefüggése (Vissher et al., 2011). Mindezen ismeretekkel egy irányba mutat a mi eredményünk is, miszerint az *ABCC1* fontos szerepet játszhat az antraciklinek szívkárosító hatásában.

Összefoglalva elmondható: a mellékhatások genetikai hátterének, pl. egy gyógyszer

szállításában, lebontásában résztvevő enzimek genetikai változatosságának megismerése hozzájárulhat a kezelés személyre szabásához és a társuló betegségek kialakulásának megelőzéséhez. Ily módon genetikai vizsgálatokkal prediktív módon lehet kialakítani az adott személy számára optimális, a mellékhatások minimalizálásával megvalósuló gyógykezelést.

Kulcsszavak: akut limfoid leukémia, mellékhatások genetikai hátterének, pl. egy gyógyszer

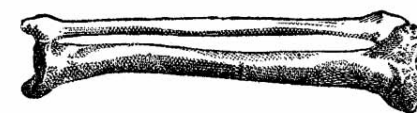
IRODALOM

- Bakos Éva – Homolya László (2007): Portrait of Multifaceted Transporter, the Multidrug Resistance-associated Protein 1 (MRP1/ABCC1). *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*. 453, 621–641.
- Fulbright, Joy M. – Raman S. – McClellan, W. S. et al. (2011): Late Effects of Childhood Leukemia Therapy. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 6, 3195–205.
- Lipshultz, Steven E. – Alvarez, J.A. – Scully, R.E. (2008) Anthracycline Associated Cardiotoxicity in Survivors of Childhood Cancer. *Heart*. 94, 525–533.
- Mordente, Alvaro – Meucci, E. – Silvestrini, A. et al. (2009): New Developments in Anthracycline-Induced Cardiotoxicity. *Current Medicinal Chemistry*. 16, 1656–1672.
- Pui, Ching-Hon – Relling, M. V. – Downing, J. R. (2004) Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*. 350, 1535–1548.

- Semsei Ágnes F. – Erdélyi D. J. – Ungvári I. et al. (2012): *ABCC1* Polymorphisms in Anthracycline-induced Cardiotoxicity in Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Cell Biology International*. 36, 1, 79–86.
- Sim, Sarah C. – Ingelman-Sundberg, Magnus (2010): Pharmacogenomic Biomarkers: New Tools in Current and Future Drug Therapy. *Trends in Pharmacological Sciences*. 32, 2, 72–81.
- Vissher, Henk – Ross, C. J. – Rassekh, S.R. et al. (2011): Pharmacogenomic Prediction of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity in Children. *Journal of Clinical Oncology*. 11 Oct. [Epub ahead of print]
- Wojnowski, Leszek – Kulle, B. – Schirmer, M. et al. (2005): NAD(P)H Oxidase and Multidrug Resistance Protein Genetic Polymorphisms Are Associated with Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *Circulation*. 112, 3754–3762.
- URL1: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>
URL2: http://www.genenames.org/data/hgnc_data.php?hgnc_id=40

genotípusok	rs3743527			p érték
	CC	CT	TT	
diagnóziskor mért linEF ± SD	39,7 ± 5,6	40,1 ± 7,1	38,5 ± 4,5	0,5
kezelés befejezésekor linEF ± SD	39,5 ± 5,8	39,3 ± 6,4	34,0 ± 4,4	0,001
utolsó követési időpont linEF ± SD	38,7 ± 4,9	38,9 ± 5,1	35,3 ± 3,6	0,2

1. táblázat • A szívfunkció három időpontban. Az ultrahangos méréssel meghatározott szívfunkció az *ABCC1* gén rs3743527 egypon-
tos nukleotid polimorfizmusa által meghatározott genotípuscsoportokban. A szívfunkciót a bal kamrai lineáris ejekciós frakcióval (linEF) jellemeztük.



INTELLIGENS SEBÉSZETI ESZKÖZ SZÖVETEK MŰTÉT KÖZBENI AZONOSÍTÁSA TÖMEGSPEKTROMETRIÁS MÓDSZERREL

Szaniszló Tamás Dénes Júlia

PhD-hallgató PhD, tudományos munkatárs

Takáts Zoltán

PhD, igazgató
z.takats@imperial.ac.uk

Semmelweis Egyetem CellScreen Alkalmazott Kutatóközpont

Az orvostudomány fejlődésével egyre nagyobb eséllyel vehető fel a küzdelem a daganatos betegségek ellen. A kombinált sebészeti és onkológiai kezelés hatására egyre jobb eredmények érhetőek el a terápiában, ám ennek ellenére a daganatos betegségek a vezető halálzási okok között szerepelnek napjainkban is. Az orvosi gyakorlatban a sugár-, gyógyszeres és immunterápiák mellett még mindig a sebészeti kezelés tekinthető az egyetlen, a teljes gyógyulás eléréséhez szükséges megoldásnak. Így nem meglepő, hogy a sebészeti gyakorlatban is egyre újabb technikák és technológiák kerülnek bevezetésre, melyek segítségével a daganateltávolító műtétek hatásfoka mind jobban növelhető.

A daganatsebészet egyik legfontosabb alapelve a tumor ép szélben történő eltávolítására való törekvés. Ennek lényege, hogy az eltávolított szövetrészletet határoló metszeti szélek daganatmentesek legyenek, minimálisra csökkentve a tumor kiújulásának esélyét a hátramaradó sejtekből. Ennek a törekvés-

nek a tökéletes megvalósítása azonban gyakran akadályba ütközik, akár a daganat elhelyezkedéséből adódóan, akár a daganat széleinek pontos meghatározásának nehézsége miatt. Az utóbbi probléma megoldására számos, jelenleg is alkalmazott és kísérleti stádiumban lévő technika is a sebészek rendelkezésére áll. A legáltalánosabban használt módszer, ami természetesen nem kizárólag a metszeti szélek vizsgálatát szolgálja, az intraoperatív szövettani vizsgálat. Ez a módszer, amellyel, hogy viszonylag pontos szövettani információt ad egy kérdéses területről, több hátrányos tulajdonsággal is rendelkezik. A vizsgálat 20–40 percig is eltarthat, ami a műtét szempontjából hosszú időnek mondható. Az analízis viszonylag kis területről ad megfelelő felbontású szövettani képet, eredménye pedig szubjektív (Winther – Graem, 2011).

A műtéti területen lévő daganat pontosabb elkülöníthetőségét teszik lehetővé az úgynevezett vitális festési technikák. Ezekkel a módszerekkel olyan, tumorokban feldúsú-

ló anyagok bejuttatása a cél, melyek az operáció közben vizualizálhatóak, és ilyen módon megkönnyítik a sebész számára a tumor kiterjedésének megítélését. A vitális festések esetében szintén felmerülnek bizonyos gyakorlati problémák. A festékanyagok nem minden esetben mutatnak megfelelő szelektivitást, a festés hatékonysága nagymértékben függ a dózistól, valamint a beadástól eltelt időtartamtól. A vitális festésnél jobb eredményt ad a műtét közbeni mágneses magrezonanciás képalkotó vizsgálat. A módszert a preoperatív diagnosztikában igen elterjedten használják, viszont a műtét közbeni alkalmazása körülményes, és speciális eszközök használatát igényli. Nem utolsósorban pedig rendkívül drágák az erre a feladatra alkalmas készülékek (Sherman et al., 2011).

E tények tükrében felmerül az igény egy olyan eszköz kifejlesztésére, ami megfelelő mértékben szelektív, képes a teljes műtéti területről releváns és objektív információt szolgáltatni, illetve az általános műtéti protokollt nem befolyásolja nagymértékben.

Biológiai szövetek közvetlen tömegspektrometriás (MS) vizsgálata már az 1970-es években felmerült, azonban az akkor rendelkezésre álló technikai feltételek mellett a módszer nem szolgáltatott elegendő hasznos információt a minták kémiai összetételéről. A területen az első áttörést az úgynevezett deszorpciós ionizációs módszerek (másodlagos ionizációs tömegspektrometria, SIMS; mátrix-segített lézer deszorpciós ionizáció, MALDI) megjelenése hozta. Ezekkel a technikákkal, a megfelelő mintaelőkészítést követően, biológiai szövetminták kémiai képalkotó (imaging) elemzése valósítható meg (van Hove et al., 2010). Már az 1990-es évek végén nyilvánvalóvá vált, hogy a képalkotó vizsgálatok során nyert tömegspektrometriás ada-

tok nagymértékű szövettani specificitást mutatnak, azaz a szöveti hisztológia meghatározza a tömegspektrometriás információt és *vice versa* (Römpf et al., 2011). Ez a megfigyelés a detektált fehérje és peptid típusú komponensek esetében nem meglepő, a fehérjék szövetspecifikus expressziója ugyanis közvetlenül ezen a jelenségen alapulnak. A tömegspektrométerrel detektált, jórészt sejtmembránokból származó, összetett lipidek hasonló szöveti specificitása azonban meglepő eredménynek számított (Belsare – Roy Chowdhuri, 1968). Mivel a fehérjék eloszlása jó egyezést mutatott az immunhisztokémiai módszerekkel nyert eloszlási mintázatokkal, a lipid komponensek eloszlása korábban viszonylag kis figyelmet kapott a szakirodalomban.

A közvetlen ionizációs tömegspektrometriás módszerek megjelenésével egy új korszak kezdődött a biológiai minták vizsgálatában. A deszorpciós elektropray ionizáció (DESI) volt az első olyan MS-technika, amely lehetővé tette tetszőleges tárgyak (vagy akár élőlények) mintaelőkészítés nélküli, nem invazív vizsgálatát, függetlenül azok mechanikai tulajdonságaitól vagy alakjától (Takats et al., 2004). A technika egyik potenciális alkalmazásaként már igen korán felmerült a biológiai szövetek közvetlen vizsgálatának lehetősége. A DESI, a fentebb említett módszerekhez hasonlóan, alkalmas biológiai szövetek metszeteinek képalkotó elemzésére, a minta bármiféle módosítása nélkül, azonban a szövetek DESI-spektruma szinte kizárólag lipid komponensek ionjait mutatja. A DESI-módszert követően számos új, direkt ionizációs módszer került kifejlesztésre (Huang et al., 2011), viszont szövetminták esetében szinte mindig csak lipid komponensek detektálhatók, ami a figyelem középpontjába helyezte

ezeket a molekulákat. A metszeteket követően logikus lépésként következett az intakt, illetve élő szövetek vizsgálata, ezen a területen azonban az első generációs módszerek kudarcot vallottak.

Az első, élő szövetek közvetlen tömegspektrometriás vizsgálatára alkalmas módszert, a gyors elpárologtatásos ionizációs tömegspektrometriát (REIMS), 2009 nyarán írta le kutatócsoportunk (Schäfer et al., 2009). Ez a második generációs módszer is elsősorban a szövetek lipid jellegű komponenseiről ad információt, de különböző metabolit molekulák és bizonyos fehérjék kimutatását is lehetővé teszi. Legfontosabb előnye, hogy a tömegspektrometriás adatok hisztológiai szintű specificitásának köszönhetően, lehetőséget teremt a biológiai szövetek kémiai összetétel alapján történő azonosítására. A REIMS-módszer különlegessége abban rejlik, hogy míg az előzőekben ismertett tömegspektrometriás technikákhoz speciális, az adott módszerhez kifejlesztett ionforrásokat kell használni, addig ebben az esetben ionforrásként a sebészeti gyakorlatban használt eszközök szolgálnak. A módszer tehát alkalmas műtéti környezetben történő mérések kivitelezésére is, illetve egy komplex szövetazonosító rendszer részeként, daganateltávolító műtétek során, segítséget nyújthat az operáló sebésznek a műtéti terület pontosabb hisztológiai feltérképezésében.

A különböző szövetroncsoló és vágó eszközök, mint a diatermiás kés, a sebészeti lézer, illetve az ultrahangos szövetporlasztó működésekor olyan, a vágott szövetre jellemző összetételű aeroszol keletkezik, mely ionizált sejtalkotókat is tartalmaz. Ezek közül, a REIMS-módszer szempontjából, az intakt membránalkotó foszfolipidek fontosak, melyek egyrészt tömegspektrometrián jól de-

tektálhatók, másrészt az összetételük jellemző az adott szövet típusra. A tömegspektrometriás analízis megvalósításához mindössze egy hatékony elszívó rendszer kifejlesztésére volt szükség, amely a műtéti területről a vágás pillanatában keletkező aeroszolt a tömegspektrométerbe vezeti. Erre a célra egy úgynevezett Venturi-cső szolgál, valamint a fent említett sebészeti eszközök kézidarabjait úgy kellett módosítani, hogy az aeroszol elszívható legyen rajtuk keresztül.

A füstgázok elemzése a tömegspektrométerben pillanatszerűen, néhány tized másodperc alatt valósul meg, melynek eredményeként egy szövetspecifikus foszfolipid tömegspektrumot kapunk. Az összegyűjtött spektrumok elemzése egy speciális kiértékelő szoftverrel történik, mely erre a célra lett kifejlesztve. A szoftver a műtét során folyamatosan összehasonlítja a beérkező adatokat egy adatbázisban tárolt, validált spektrumtömeggel, besorolja a megfelelő osztályba, majd az eredményt vizuálisan megjeleníti a sebésznek. A spektrumok feldolgozása statisztikai módszerek segítségével történik (Balog et al., 2010). Mivel egy tömegspektrum önmagában is rengeteg információt tartalmaz, ezért mindenképpen szükséges az adattömeg dimenziószámának lecsökkentése. Erre alkalmas az úgynevezett főkomponens-analízis (PCA), melynek segítségével a kevésbé releváns változók kiszűrhetők az adattömegeből, majd a releváns változók segítségével a hasonló spektrumokat ugyanabba, míg a különbözőket különböző osztályokba sorolhatjuk. Ez a csoportosítás két, illetve háromdimenziós térben elhelyezkedő pontok és pontcsoportok segítségével szemléltethető. Mivel a tömegspektrumok variabilitása viszonylag minimális, ezért szükséges az osztályok egymástól való lehető legjobb elkülönítése. Ezt a célt

szolgálja az úgynevezett lineáris diszkriminanciaanalízis (LDA), mellyel a PCA-tér lineáris transzformációja valósul meg olyan módon, hogy a benne lévő pontcsoportok egymástól való távolsága maximalizálva legyen.

A szövetazonosításhoz nagyszámú validált spektrum szükséges, melyek mindegyike egy adatpontként jelenik meg a szövetazonosításhoz alkalmazott modellben. A műtét közben keletkező spektrumok is egy-egy új adatpontként jelennek meg a rendszerben. A különböző osztályokba történő besorolás alapja az úgynevezett Mahalanobis-távolság mérése, melynek során a modellben lévő pontcsoportok és az új adatpont közötti távolság határozza meg a vágott szövet típusát. Amennyiben az új adatpont helyzete az térben nem felel meg bizonyos peremfeltételeknek, úgy a szövet ismeretlenként (outlier) lesz jellemezve.

Sebészeti eszközök

Az előzőekben leírtak alapján a rendszer – tömegspektrometriás alkalmazásról lévén szó – legfontosabb eleme az ionforrás. A REIMS-módszer esetén ezt a szerepet több különböző, a sebészeti gyakorlatban alkalmazott eszköz is betöltheti. A legelterjedtebben alkalmazott ezek közül a nagyfrekvenciás árammal működő diatermiás kés, más néven elektrokauter. Ez az eszköz koagulációs funkcióban szövetek vágására, illetve vérzéscsillapításra használható, vágási funkcióban pedig finomabb preparálások is végezhetőek vele. Bármely funkcióban használva az eszközt, az gyakorlatilag a szövet gyors termikus elpárolgását okozza. A folyamat során keletkezett aeroszol negatív és pozitív töltésű cseppecskéket tartalmaz, melyek tömegspektrometriás detektálása egyaránt megvalósítható. A szövetazonosításhoz leginkább negatív ionmódot célszerű alkalmazni, mivel részletgazda-

gabb spektrumot biztosít, illetve a detektált jelek intenzívebbek.

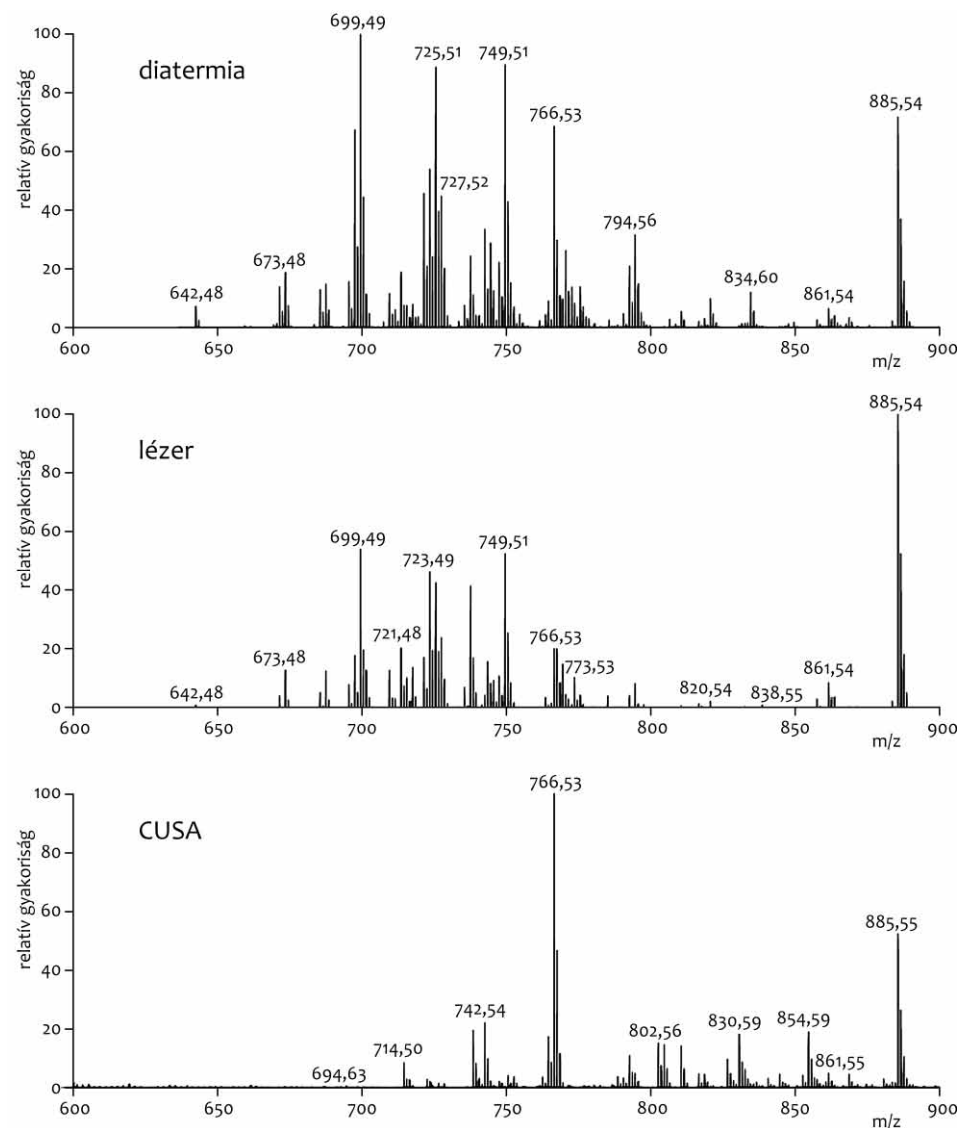
A diatermiás kés mellett a sebészeti lézerek használatával szintén jó eredményeket sikerült elérni (Schäfer et al., 2011b). A sebészeti széndioxid-lézerek, melyek 10 500 nm körüli hullámhossztartományban működnek, bizonyultak a legalkalmasabbnak a feladatra. A biológiai szövetek optikai karakterisztikája ugyanis ebben a tartományban teszi lehetővé a detektálható ionok keletkezését. Szerencsés egybeesés, hogy ezek a lézerek viszonylag elterjedtek az orvosi gyakorlatban, főként a bőrgyógyászat terén.

Az idegsebészetben, valamint különböző parenchimás szervek sebészetében, elterjedten alkalmazzák az úgynevezett ultrahangos szövetaspirátort (*Cavitron Ultrasonic Surgical Aspirator* – CUSA). Ez az eszköz ultrahangos kavitáció segítségével porlasztja el a nagy víztartalmú szöveteket, miközben a kötőszövetet, illetve a vér- és nyirokereket viszonylag sértetlenül hagyja. Ennek köszönhetően különösen jól használható májsebészetben, ahol a májparenchima eltávolítása után a nagyobb erek lekötethetők, így meg lehet akadályozni a nem kívánt vérzést. Az eszköz alkalmazásakor az elporlasztott szövetből szintén tömegspektrometrián detektálható ionok képződnek (Schäfer et al., 2011a). A májsebészet mellett a CUSA-készülékek másik elterjedt alkalmazási területe az idegsebészet és az ehhez kapcsolódó onkológiai műtétek. A hasi sebészetel ellentétben itt egészen más a gyakorlati megközelítés. Nem minden esetben célszerű ép szélben eltávolítani a daganatot, mivel így fontos agyi funkciók sérülhetnek, ezért inkább a daganatos szöveti tartományban próbálják detektálni az ép idegszövet határát, és így meghatározni a vágás vonalát. Ezen a területen tehát még fontosabb szerepet kaphat egy

olyan módszer, amely objektív információt képes szolgáltatni a szövet összetételéről.

Amellett, hogy több különböző sebészeti eszköz bizonyult alkalmasnak arra, hogy

membránlipidekben gazdag ionizált aeroszolt hozzon létre a biológiai szövetekből, fontos megjegyezni, hogy a tömegspektrumok különböznek egymástól, a különböző ionizáci-



1. ábra • Különböző sebészeti eszközök használatakor gyűjtött tömegspektrumok. Az adatok a májszövet tipikus foszfolipid spektrumát mutatják a 600–900 m/z tartományban, negatív ion módban, diatermiás késsel (fent), sebészeti széndioxid-lézerrel (középen), valamint CUSA készülékkel (lent) történt vágás során rögzítve.

ós mechanizmusoknak köszönhetően. Ennek következtében a különböző eszközökhöz külön szöveti spektrumtárak létrehozása szükséges.

Szövet-specifikus spektrumok

A szövetazonosítás alapját a REIMS-technika esetében az egyes szövetekre jellemző foszfolipid spektrumok adják. Ilyen módon a módszer nem tekinthető egy kitüntetett tumor, illetve szöveti markereken alapuló szövetelemző technikának. A szövetazonosítás a teljes szöveti spektrum információtartalmán alapul, ami az egyes foszfolipid specicszek jelenlétének, illetve az egyes alkotók egymáshoz viszonyított mennyiségének figyelembevételén alapul. A membránalkotó foszfolipidek összetételének sejtspecificitása egy jól ismert jelenség. Emellett az a tény is ismert, hogy ez az összetétel kismértékben variabilis. Ez mindenképpen felveti a kérdést, hogy az egyes sejttípusoknak, illetve így az egyes szöveteknek ez a sajátossága milyen mértékben befolyásol egy olyan módszert, ahol lényeges a jól definiált foszfolipid-összetétel ismerete. Több kísérlet történt annak bizonyítására, hogy ez az időbeli, illetve különböző külső körülmények által okozott variabilitás nem teszi lehetetlenné a módszer használatát. Az egyik variabilitást okozó tényező a bevitt táplálék zsírsavösszetétele. A szakirodalomban számos kísérleti bizonyítékot találhatunk arra vonatkozóan, hogy valamely zsírsav megvonásával, illetve mások túlsúlyának hatására bizonyos sejtek membránösszetétele megváltozik. Ezeket a kísérleteket kutatócsoportunk is elvégezte, és az adatok valóban kismértékben megváltozott foszfolipid-profil mutattak. Statisztikai módszerek alkalmazása azonban megmutatta, hogy míg a szerveken belül a különböző táplálás eltérést

okoz, addig az egyes szerveket összehasonlítva ez az eltérés minimálisnak mondható, a két különböző szerv foszfolipid-profilja közötti eltéréshez képest. Bebizonyosodott tehát, hogy a táplálkozás nincs hatással a különböző szövetek azonosíthatóságára. Hasonló eredményeket születtek az életkorbeli különbségek hatásának vizsgálatában is. Mindenképpen figyelemre méltó azonban, hogy az egyes szervek fiziológiás hatásokra, például a máj krónikus betegségeinek esetében, olyan változás figyelhető meg a membránlipidösszetételben, ami statisztikailag detektálható, így ezek az elváltozások is vizsgálhatóak és felismerhetőek a tömegspektrometriás módszer segítségével.

A különböző membránalkotó foszfolipidek tömegspektrometriás vizsgálata során számos foszfolipid osztályt lehet detektálni. Ehhez a szövetazonosítási módszerhez megfelelő mennyiségű információt tartalmaz a 600–900 m/z régió, melyben megtalálhatók különböző hosszúságú zsírsavláncokat tartalmazó foszfatidil-etanolaminok, foszfatidilszterinek és foszfatidil-inozitok csúcsai, negatív ionmódban történő detektáláskor. Ugyanekkor a tömegtartományban pozitív ionmód esetén, az előzőekben említett ionok mellett foszfatidil-kolinok is detektálhatók, illetve mindkét polaritás esetében megjelennek a főleg izomszövetekre jellemző plazmalogének csúcsai. Nagyobb tömegtartományban gangliozidok, cerebrozidok, szulfatidok, kardioli-pinek is detektálhatók, illetve megfigyelhetőek a jelátvitelben részt vevő foszforilált lipid-komponensek is. Kisebb tömegtartományban, 150–400 m/z között szabad zsírsavak, főként palmitinsav, sztearinsav, olajsav, arachidonsav detektálható, illetve különböző a foszfolipidek termikus degradációjakor keletkező fragmens ionok. A vizsgálatokból ki-

derült az is, hogy egyes membránalkotók jellemzőek lehetnek bizonyos szövetekre, míg másokból hiányozhatnak. Ez természetesen megkönnyíti a szövetazonosítást, mivel ezek súlyozottabban vesznek részt a statisztikai számításokkor kalkulált főkomponensekben. Ilyenek például a vesére, illetve a tüdő felületére jellemző speciális foszfolipidek, illetve izomszövet esetében a plazmalogének.

Daganatok és ép szövetek

A kifejlesztett módszer legfontosabb feladata a daganatos szövetek felismerése, és nagy biztonsággal történő elkülönítése az őket magukba foglaló ép szövetektől. Mint ahogy az előzőekben kiderült, az egyes egészséges szervek jól elkülöníthetőek egymástól membránlipid-összetételük alapján. Ez természetesen igaz a különböző daganatos szövetekre is, mivel ezek a környezetükben különálló szövetpusként jelennek meg. Mint az egyes egészséges szövetek, ezek is hordoznak magukban bizonyos karakterisztikus jeleket, például szöveti képiükben elkülönülnek az őket befogadó szövethez képest, más a fehérje-expressziójuk, és eltérést mutatnak az anyagcserefolyamataikban is, így nem meglepő, hogy a biokémiai karakterisztikájuk is más.

A következő kísérletben bebizonyosodott, hogy a különböző tumoros szövetek tömegspektrometriás detektálása, felismerése és egymástól való megkülönböztetése megvalósítható a kifejlesztett módszerrel. A kísérletben humán vastagbél-tumort, és annak a májban adott áttétét analizáltuk. A tumoros és ép szövet elkülönülését, illetve a primer tumor és az áttét viszonyát is elemeztük. A mintavétel azt mutatta, hogy a tumor mind az ép, mind pedig az áttétet tartalmazó szövetből eltér, azonban a primer tumor és az áttét egymástól csak minimális eltérést mutatott.

Az áttét tehát hasonlít az eredeti daganatra, így műtéti körülmények között az áttétből nyert adatok felhasználhatók az eredeti tumor azonosítására, ami nagy segítséget nyújthat az úgynevezett ismeretlen eredetű tumorátétek kiindulási helyének meghatározásában.

Ezzel szemben bonyolítja az azonosítást, hogy míg a különböző egészséges szövetpuskok jellemzően reprodukálható és nagymértékben különböző spektrumot adnak, addig a rosszindulatú tumorok esetében akár egy tumortípuson belül is nagyfokú variabilitást mutat a spektrális információ. Ez a jelenség összefüggésbe hozható a daganatsejtek evolúciójával, azaz a betegség előrehaladása során történő folyamatos szövettani változásokkal. Ezen változások során a daganatsejtek fokozatosan elveszítik az eredeti szöveti környezetre jellemző tulajdonságaikat. Bár ez a jelenség megnehezíti a spektrális információ alapján történő azonosítást, megfelelő mennyiségű hiteles adat (ti. minden daganattípus esetén minden lehetséges evolúciós fokozatot megfelelően reprezentáló adattömeg) segítségével a probléma kézben tartható.

Szöveti adatbázis építése és tesztelése

A megfelelő szövetazonosításhoz elengedhetetlen egy nagyszámú spektrumot tartalmazó adatbázis kiépítése. Ez olyan módon valósítható meg, hogy adatgyűjtést végzünk onkológiai műtétek során, illetve friss műtéti preparátumokon. Ebből a célból készültek olyan prototípusok, melyek megfelelnek a műtét közbeni használhatósággal kapcsolatos nagyon szigorú követelményrendszernek. Ehhez a komplett tömegspektrometriás rendszert el kellett látni műtétkompatibilis csomagolással. A gázrendszer integrálása és a kiáramló gázok HEPA-szűrése is megvalósításra került a rendszer kiépítése során.

Az intelligens sebészeti eszköz tesztelése és az adatbázis építése jelenleg az országban két klinikai intézetben folyik: a Semmelweis Egyetem I. Számú Sebészeti Klinikáján, illetve a I. Számú Patológiai Intézetben, valamint a Debreceni Egyetem Sebészeti és Idegsebészeti Intézetében. A SE sebészeti klinikájára telepített készülékkel napi szinten történik adatgyűjtés, tumoreltávolító műtétek alkalmával. A kutatás fő irányvonalát a máj primer és szekunder rosszindulatú, illetve jóindulatú daganatainak vizsgálata adja. Szintén fontos szerepet töltenek be a kutatásban az itt végzett hasnyálmirigydaganat-eltávolító műtétek. Az intraoperatív méréseket a műtéti preparátumok vizsgálata egészíti ki, ami a Patológiai Intézetben történik. A műtéti körülmények-

hez képest itt kontrolláltabb környezetben folyik az adatgyűjtés, valamint folyamatos a konzultáció a patológusokkal. A tervek szerint az év végéig egy megfelelő méretű adatbázist lehet felépíteni az összegyűjtött adatokból, amely már alkalmas lesz szövetfelismerésre, műtéti körülmények között is.

A Debreceni Egyetemen folyó vizsgálatok célja szintén a készülék tesztelése, illetve emlő-, pajzsmirigy- és kolorektális daganatok eltávolítását célzó műtétek és különböző idegsebészeti beavatkozások közbeni adatgyűjtés. Az *in vivo* adatgyűjtés mellett itt is megoldott a műtét utáni preparátumok vizsgálata, további adatgyűjtés céljából.

A két egyetemmel való szoros együttműködés eredményeképpen mára a szöveti adat-



2. ábra • Az intelligens sebészeti eszköz használata műtét közben, a Debreceni Egyetem Sebészeti Intézetében. A tömegspektrométer (középen) – az összes szükséges kiegészítőjével együtt – a műtéti követelményeknek megfelelő zajszigetelő, kerekeken gurítható szekrénybe van zárva. Az adatgyűjtéshez és -feldolgozáshoz szükséges számítógépes rendszer is (balra) mozgatható asztalon nyert elhelyezést.

bázis több mint száz műtétről tartalmaz adatokat, az adatbázisba pedig, azonosított szöveti spektrumként, ennek sokszorosára került be. A posztoperatív mérések alkalmával gyűjtött spektrumok száma már az ezret is meghaladja.

Pre- és posztoperatív diagnosztikai lehetőségek

A gyors tömegspektrometriás szövetazonosítás lehetősége az intraoperatív alkalmazások mellett számos egyéb, érdekes lehetőséget vet fel. A nagy szöveti specificitással rendelkező membránlipid spektrumok elemzése a pre- és posztoperatív vizsgálatok terén is előrelépést jelenthet. Mind a preoperatív biopsziás vizsgálat, mind a posztoperatív szövettani vizsgálat előtt szükséges a minták fixálása és beágyazása, melyek időigényes folyamatok. A bonyo-

lult mintaelőkészítést kiválthatja egy egyszerű, közvetlen tömegspektrometriás mérés. A minták REIMS-módszerrel történő vizsgálata irányadó lehet a későbbi diagnosztikus vizsgálatokban. REIMS-módszerrel a biopsziás minta percek alatt elemezhető. Egyéb tömegspektrometriás képző technikákkal kombinálva (DESI, MALDI) pedig nagy térbeli felbontású, kémiai összetételen alapuló információ nyerhető a vágási szélek teljes felületéről. A tömegspektrometriás vizsgálatok, természetükénél fogva, objektív biokémiai információk alapján definiálják az egyes szöveteket, így elkerülhető a szubjektivitásból adódó esetleges hibázás (Takáts et al., 2012).

Kulcsszavak: *onkológia, sebészet, hisztológia, analitikai kémia*

IRODALOM

- Balog J. – Szaniszló T. – Schäfer, K. C. et al. (2010): Identification of Biological Tissues by Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 82, 17, 7343–7350.
- Belsare, D. – Roy Chowdhuri, D. (1968): Phospholipid Distribution in Blood and tissues of some submammalian species. *Lipids*. 3, 1, 21–23.
- Huang, M. Z. – Cheng, S. C. – Cho, Y. T. et al. (2011): Ambient Ionization Mass Spectrometry: A Tutorial. *Analytica Chimica Acta*. 702, 1, 1–15.
- Römpf, A. – Guenther, S. – Takáts Z. et al. (2011): Mass Spectrometry Imaging with High Resolution in Mass and Space (HR(2) MSI) for Reliable Investigation of Drug Compound Distributions on the Cellular Level. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 401, 1, 65–73.
- Schäfer, K. C. – Balog J. – Szaniszló T. et al. (2011a): Real Time Analysis of Brain Tissue by Direct Combination of Ultrasonic Surgical Aspiration and Sonic Spray Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 83, 20, 7729–7735.
- Schäfer, K. C. – Dénes J. – Albrecht, K. et al. (2009): In Vivo, in Situ Tissue Analysis Using Rapid Evaporative Ionization Mass Spectrometry. *Angewandte Chemie-International Edition*. 48, 44, 8240–8242.
- Schäfer, K. C. – Szaniszló, T. – Gunther, S. et al. (2011b): In Situ, Real-Time Identification of Biological Tissues by Ultraviolet and Infrared Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 83, 5, 1632–1640.
- Sherman, J. H. – Hoes, K. – Marcus, J. et al. (2011): Neurosurgery for Brain Tumors: Update on Recent Technical Advances. *Current Neurology and Neuroscience Reports*. 11, 3, 313–319.
- Takáts Z. – Dénes J. – Kinross, J. (2012): Identifying the Margin: A New Method to Distinguish between Cancerous and Noncancerous Tissue During Surgery. *Future Oncology*. 8, 2, 113–116.
- Takáts Z. – Wiseman, J. M. – Gologan, B. et al. (2004): Mass Spectrometry Sampling under Ambient Conditions with Desorption Electrospray Ionization. *Science*. 306, 5695, 471–473.
- van Hove, E. R. A. – Smith, D. F. – Heeren, R. M. A. (2010): A Concise Review of Mass Spectrometry Imaging. *Journal of Chromatography A*. 1217, 25, 3946–3954.
- Winther, C. – Graem, N. (2011): Accuracy of Frozen Section Diagnosis: A Retrospective Analysis of 4785 Cases. *Apmis*. 119, 4–5, 259–262.

Kutatóegyetemi hírcsokor

A KUTATÓEGYETEMI PROJEKT EREDMÉNYEI CIKKEKBEN

Válogatás a Semmelweis Egyetem honlapján
és újságjában megjelent,
a Kutatóegyetemi Projekthez kapcsolódó cikkekből

FOGEREDETŰ ÖSSEJTEKKEL A GERINCSEJTEK GYÓGYÍTÁSÁÉRT

A fogpulpában, vagyis a fogbélben található összejtek biztonságosabbak és hatékonyabban alkalmazhatók idegsejtek pótlására, mint a máshonnan nyert összejtek. A jelenleg folyó – *in vivo* – kísérletek pedig azt mutatják, alkalmasak lehetnek például gerincsejt-élesztés gyógyítására is – számolt be a kutatóegyetemi TÁMOP-pályázat keretében folyó vizsgálatok eddigi eredményeiről Dr. Varga Gábor, a Fogorvostudományi Kar Orálbiológiai Tanszékének vezetője.

A pulpában találhatóak olyan sejtek, amelyek különböző irányokba differenciálhatóak, vagyis kémcsőben különböző típusú szövetek hozhatóak létre belőlük: lehetnek fogat építő sejtek vagy idegsejtek. A Varga Gábor vezette Molekuláris Orális Biológiai Kutatócsoport először arra volt kíváncsi, hogy a fogbélből kinyert, idegi irányba elődifferenciáltatott sejtek képesek-e az élő szervezetben megmaradni. A kutatók sérült agykéreggel rendelkező patkányok esetében bizonyították, hogy ezek a sejtek – az agyba juttatva – ké-

pesek integrálódni, és megőrzik idegsejt-tulajdonságaikat.

Ezt követően kezdték azt vizsgálni, hogy miként alkalmazhatók ezek a sejtek a gerincvelő sérülése esetén. „A gyógyulás sokkal inkább kézzelfogható és követhető az ilyen sérüléseknél, s a későbbi emberi felhasználás is reálisabb ezen a területen” – hangsúlyozta Varga Gábor. Hozzátette: hasonló vizsgálatok az Egyesült Államokban már a humán kipróbálás fázisában vannak, ám ezekben embriónális jellegű összejteket alkalmaznak.

Ahhoz, hogy miért lehetnek hatékonyabban a fogeredetű összejtek, érdemes megvizsgálni, hogy mi történik a gerincvelő sérülése esetén. „Amikor elvágódnak az idegek, nemcsak arról van szó, hogy ezek nem tudnak úgy összenőni, mint például a csontunk. A szétszakadás helyén jelentős gyulladás is kialakul, amire a szervezet erős immunreakcióval válaszol, s ez végeredményben masszív szövetpusztuláshoz vezet. Ebben a helyzetben egyrészt a gyulladási folyamat lecsökkentésére, az immunválasz gátlására, másrészt az elvesztett idegelemek pótlására van szükség. A fogeredetű összejtek egyszerre rendelkeznek mindkét képességgel, vagyis immunszuppresszív (im-

munválaszt gátló) hatásuk is van, és nagy a kapacitásuk arra, hogy idegsejteket hozzanak létre.” Ez utóbbinak az áll a háttérben, hogy a fog pulpáját az ún. ideglemezből kivándorolt sejtek hozzák létre; ezek eredetileg idegsejt-előalakok voltak, így könnyebben is lehet belőlük idegsejtet létrehozni, mint más szövetekből.

A fogeredetű összejtek hatásait egyelőre még csak gerincsérült patkányok segítségével, állatkísérletekben vizsgálja a kutatócsoport, az Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetrel és az MTA Kísérleti Orvostudományi Intézetével közösen. Dr. Varga Gábor azonban úgy látja, akár már öt éven belül elkezdődhetnek a szűk körű humán vizsgálatok.

A fogeredetű összejtek másik felhasználási iránya a szájszűrés munkáját segítheti. A kutatók azt is vizsgálják, hogy miként lehet a csont és az implantátum közötti kapcsolatot javítani, hogyan lehet csontot építeni ezeknek az összejteknek a segítségével. (*Semmelweis Egyetem Újság*, 2012. április)

NANOKÉMIAI KUTATÓCSOPORT: FIZIKAI, KÉMIAI MEGOLDÁSOK ORVOSI-ÉLETTANI PROBLÉMÁKRA

A nanotudományok magas szintű művelésére és oktatására hozta létre a Semmelweis Egyetem a Nanotudományi Hálózatot, ennek keretében alakult meg 2010. július elsején a Nanokémiai Kutatócsoport, amely szervezetileg a Biofizikai és Sugárbiológiai Intézethez tartozik – emlékeztetett Dr. Zrínyi Miklós professzor, az MTA levelező tagja, a Nanokémiai Kutatócsoport vezetője. Kutatásaik a Biokolloid- és a Lágú anyagok Laboratóriu-

mában folynak. A kutatócsoport tevékenységében meghatározó szerepet játszik a nano- és mikroanyagok orvosi biológiai, gyógyszerészeti és környezetvédelmi alkalmazásainak kutatása.

A kutatóegyetemi TÁMOP-támogatás nagyon sokat segített a labor munkájában – mondta Zrínyi Miklós. „Az új csapat kicsi, négy fő- és két felállású kutatóból áll, valamint jár még ide egy-két TDK-s az ELTE-ről és a BME-ről. Klasszikus fizikai-kémiát művelünk, de a válaszra váró kérdéseket orvosi-élettani problémákként vetjük fel. A két területnek ez a vegyülete a mi védjegyük. Egyik fő kutatási területünk a mágneses folyadékok vizsgálata. A bennük dispergált részecskék külső mágneses térrel való kölcsönhatása számos orvos-biológiai alkalmazást tesz lehetővé. Ilyenek a hatóanyag-szállítás, a mágneses hipertermiás kezelés, az MRI-kontrasztanyag vagy a mágneses sejtszeparáció” – vázolta Zrínyi Miklós. Mint magyarázta, polimer gélekkel dolgoznak, s részben a mágneses hipertermiás kezelés miatt fogtak bele ebbe a munkába. „A hő, amely elpusztítja a daganatos sejteket, nem marad egy helyben, és a környező egészséges sejtekben is kárt okozhat. Azt is vizsgáljuk, hogy milyen kolloidkémiai paraméterekkel tehetjük biokompatibilisabbá a mágneses folyadékot. Nemrég kezdtünk egy másik munkát: mesterséges extracelluláris mátrixot készítünk poliaminsav alapú szintetikus polimerekből. Vonzó kutatási terület számunkra a régóta művelt, mesterséges izommal kapcsolatos kutatás” – számolt be.

A professzor kiemelte azt is, hogy a kutatói utánpótlás biztosítása érdekében *A bioanyag-tudomány alapjai* címmel hirdetett meg egy tantárgyat a doktori iskola, a hallgatók azonban érdekes módon nemigen éltek ezzel a lehetőséggel. A Nanokémiai Kutatócsoport

vezetője szerint ez a tantárgy azért fontos, hogy megismertessék a hallgatókkal a nanoméretű kolloidok, mátrixok, biokompatibilis implantátumok, a képkalkotást javító kontrasztanyagok, a szabályozott hatóanyagleadás, a mesterséges izmok, az életminőséget javító anyagok előállításának fizikai, kémiai, nanotechnológiai alapjait. (www.semmelweis-univ.hu, 2012. április 17.)

PHD TUDOMÁNYOS NAPOK: IDÉN ELŐSZÖR ANGOLUL IS

A 14. PhD Tudományos Napok újdonsága volt, hogy idén először angol nyelven jelent meg az előadás-kivonatokat tartalmazó kiadvány, és több doktorjelölt vállalta, hogy angolul tartja meg előadását.

Dr. Tulassay Tivadar, a Semmelweis Egyetem (SE) rektora a rendezvényen hangsúlyozta: a SE Doktori Iskolája Magyarország egyik legkiválóbb, és teljesítményét, hatékonyságát tekintve az egyik legeredményesebb doktori iskolája. Erre büszkék lehetnek azok, akik ide járnak, és azok is, akik ebben a szellemben működtetik a doktori iskolát – fogalmazott. Úttörő dolognak tartja, hogy az absztraktok angolul szerepelnek a rendezvényről szóló kiadványban. A SE az egyik legkiválóbb magyar egyetem, de a tudomány nyelve ma leginkább az angol – jegyezte meg.

Dr. Rácz Károly, a Doktori Tanács elnöke a megnyitón örömet fejezte ki amiatt, hogy évről-évre több az előadás. Kiemelte, hogy nemcsak az előadások kivonatai olvashatók angolul, hanem három előadás-szekcióban az előadások is angolul hangzanak el.

A kétnapos rendezvényen 148 előadást hallgathattak meg az érdeklődők. Ugyancsak a PhD Tudományos Napok keretében tartot-

tak előadást a 2011-es Hugonnai Vilma-díj kitüntetettjei: Dr. Zelkó Romána és Dr. Müller Veronika. (www.semmelweis-univ.hu, 2012. április 16.)

TÁLENTUM ÉS INSPIRÁCIÓ ELINDULT A SEMMELWEIS KUTATÓI SZALON

„Ahol a talentum és az inspiráció találkozik” – ezzel a szlogennel indult el a Semmelweis Egyetem új rendezvénysorozata, a Semmelweis Kutatói Szalon. Az első alkalom házigazdája Dr. Tulassay Tivadar rektor volt, aki megnyitójában arról a megállapításról is beszélt, miszerint kezdiunk eljutni a világ komplexitásának felismeréséig, ugyanakkor a komplexitásból adódó problémákra nem tudjuk a helyes választ, nincs rá recept. A rektor úgy fogalmazott, egyfajta recept lehet, ha alkotói közösségeket hozunk létre, erősítve a kohéziós erőt.

Tulassay Tivadar emlékeztetett arra: immár két éve rendszeresen számos olyan rendezvénynek ad helyet a Szalon, ahol elsősorban nem a tudomány, hanem a művészetek oltárán áldoznak. Ugyanakkor az izolációval szemben a kitárulkozást és a kapcsolatépítést fontosnak tartó professzorok részéről óhatatlan felmerült az igény, hogy legyen tudományos szalon is. „Az elképzelésünk az, hogy nagy, nemzetközi szinten már mérhető karriert befutott tudósokat hívunk meg a rendezvényre, illetve olyanokat, akik még csak pályájuk derekán vannak, de bebizonyították, hogy kiválóak, és remélhető, hogy a következő években még nagyobb karriert futnak be” – fogalmazott a rektor. Emellett az új tanszékvezetők itt mutathatják majd be a tudományterületükről szóló székfoglaló előadásukat.

A Semmelweis Kutatói Szalon nyitó előadását Dr. Freund Tamás (intézetigazgató, kutatóprofesszor, az MTA rendes tagja, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet Celluláris és Hálózat Neurobiológiai Osztály) tartotta, *Belső világunk és a memória – az információrobbanás hatásai* címmel. Mint emlékeztetett: szinte már szállóige, hogy az agy megismerése korunk legnagyobb kihívása, s feltehetjük a költői kérdést: *„maga a megismerést végző szerkezet vajon megismerheti-e önmagát?”* Az agyon belül is legkomplexebb szerkezet az agykéreg, amely valamennyi magasabb rendű idegműködésünkért felelős. Itt támadnak eredeti, új gondolataink, emellett agykérünk az, amely képes saját létezésünk tudatában lenni, s felteszi a legfontosabb kérdéseket, így azt is, mi létezésünk értelme. Freund Tamás előadásában kitért arra is, hogy korunk információrobbanása az agy számára drasztikus környezetváltozásként értékelhető. Az emberi agy keresi a megbirkózási stratégiákat, ezek közé tartozhat a televízió kidobása éppúgy, mint a nagyvárosokból való menekülés, vagy éppen az alkohol és más tudatmódosító szerek fogyasztása. Ám a többségnek nem sikerül megemészteni ezt az új környezetet, ami sikertelenséghez, krónikus stressz élményhez vezet. Mindez magyarázatot ad a pszichiatríai és neurológiai betegségek terjedésére is.

A március 6-i Kutatói Szalon másik előadója Dr. Kellermayer Richárd (Assistant Professor of Pediatrics, Section of Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, Baylor College of Medicine, Houston, Texas, USA) *A DNS-metiláció és a mikrobiom kapcsolata* címmel tartott előadást. A 2007 óta az Egyesült Államokban, Houstonban dolgozó kutató a gyulladással járó betegségek (IBD) szempontjából világította meg ezt a kapcsolatot. Ezeknek a betegségek két fő ága ismert: a

Chron-betegség és a *kolitisz ulcerosa*. Az IBD incidenciája világszerte – elsősorban a nyugati életstílus terjedésével – nő, jelenleg minden 250. ember érintett. Ennek ellenére még mindig nem tudható, hogy mi okozza ezeket a betegségeket, ugyanakkor a kutatók hatalmas energiákat fektetnek a kórokok jobb megismerésébe, hogy újabb terápiás lehetőségek nyíljanak meg a betegek előtt. A mai tudásunk szerint túlfokozott immunválasz hatására alakulnak ki ezek a betegségek – mondta Kellermayer Richárd, aki bemutatta az IBD-re való hajlammal és a betegség kialakulásával kapcsolatos vizsgálatokat.

A Semmelweis Kutatói Szalont ebben a szemeszterben még háromszor rendezik meg. (www.semmelweis-univ.hu, 2012. március 8., Kutatógyymetemi rendezvény)

HOFI-FEHÉRJE ÉS IMMUNOLÓGIA A SEMMELWEIS KUTATÓI SZALONBAN

Egy szenvedélyes horgász és a „zene egy kiváló művelője, aki hangszeren játszik és kórusban is énekel”, volt a második alkalommal megrendezett Semmelweis Kutatói Szalon vendége. Mint Dr. Sótónyi Péter, az est házigazdája a megnyitón fogalmazott: „a négy alkalomból álló tudományos szalonsorozat minden egyes eleme bizonyos szempontból következik egymásból, de mindegyiknek van önálló tartalma, mondanivalója is. Ez egy négy tételből álló mű, amely tudományos értéket közöl Önökkel, értékkeremtő felüldülést nyújt, s erősíti az alkotóközösség összetartozását.” A két előadót, Dr. Buday Lászlót és Dr. Prohászka Zoltánt bemutatva tért ki a házigazda a kutatók fentebb említett hobbijaira is.

Dr. Buday László (MTA Enzimológiai Intézet) több szálon is kapcsolódik az egyetemhez, részállásban ma is az egyetem oktatója, s kutatócsoportjának fele is itt dolgozik. *Sejtek, egerek és emberek* című előadásában munkacsoportjának több témáját is felvillantotta. Mint mondta, évek óta vizsgálják egy cascín nevű idegrendszeri fehérjét, amely kizárólag a neuronsejtekben expresszálódik, s az állványfehérjék közé tartozik. Vizsgálják a Sos kicserélő faktornak nevezett fehérje és az src homológ SH3 domének foszforilációját, reményeik szerint ez utóbbival kapcsolatban egy teljesen új fehérje-fehérje interakciós szabályozási mechanizmust sikerült találni.

Az előadás központjában a kutatócsoport tirozin-kináz szubsztrát (TKS) fehérjékkel összefüggő vizsgálata állt, amivel kapcsolatban Buday László úgy fogalmazott: ez egy teljesen új terület, amely néhány éve került a figyelem középpontjába. Ezen belül is azzal foglalkoznak, hogy a TKS4- (magyar kutatók által HOFI-nak keresztelt) fehérje hiánya milyen más gének, fehérjék átrendeződéséhez vezethet. Ezzel kapcsolatban fontos egy igen ritka genetikai kórképpel, a Frank-ter Haar-szindrómával kapcsolatos felismerés. A többszörös végtag-deformációval és rövidfejűséggel is járó kórképet 1973-ban írták le először, két éve pedig azonosították, hogy a szindróma hátterében az ún. HOFI-fehérje hiánya áll. Buday László munkacsoportja olyan génhányos egereket vizsgál, amelyekből eltávolították az említett, magyar tudósok által felfedezett HOFI-fehérjét; ennek hatására drámaian csökkent a sejtek mozgási képessége.

Dr. Prohászka Zoltán (Semmelweis Egyetem, III. sz. Belgyógyászati Klinika) az immunológiai felismerésről tartott előadást, evolúciós szempontból és folyamatában tekintette át az immunrendszert, illetve az arról való

vélekedést. Miután sorra vette az immunológia történetét, hangsúlyozta: az ún. Matzinger-féle veszélymodell a legelfogadottabb ma az immunológiában, vagyis az, hogy az immunválasz alapjellegzetessége a veszélyre való reagálás. Azt az elgondolást pedig, hogy az immunrendszer mintázatot, és azon belül is kitüntetetten a károsodott sajátot és a fertőző veszélyes idegent ismeri fel, 2011-ben megosztott Nobel-díjjal jutalmazták – emlékeztetett.

Prohászka Zoltán egy saját kutatási munkájára is kitért. Klinikai vizsgálatuk központjában az állt, érzékelhető-e, hogy a komplement rendszer és annak felismerő komponensei úgymond a veszélyes sajátot monitorozva végzik fő tevékenységüket. Vizsgálati modellnek a krónikus szívelégtelenséget választották, fő céljuk pedig az volt, hogy megtudják: vajon milyen mechanizmusok vannak a veszőletett immunitásból, elsősorban a gyulladásos válaszból jelen, és mi vezet ezek aktivitásához. Kimutatták: akiknél magasabb a komplement aktiváció, hamarabb hunynak el, mint akiknél alacsonyabb. És hogy mi okozza a komplement rendszer aktivációját? Dán kollaborációban az is megerősítést nyert, hogy az újabban felismert fibrinogén domén tartalmú lektinek erős összefüggést mutatnak a szívelégtelenség súlyosságával – ismertette az eredményeket Dr. Prohászka Zoltán. (www.semmelweis-univ.hu, 2112. április 12., Kutatóegyetemi rendezvény)

ÚJ ONLINE TECHNOLÓGIA SEGÍTHETI AZ EMLŐRÁKOS BETEGEK KEZELÉSÉT

Akár néhány perc alatt kiderülhet, hogy a lehetséges gyógyszeres terápiaik közül melyik a legmegfelelőbb egy adott emlőrákos beteg

kezeléséhez. A Semmelweis Egyetem és a Pázmány Péter Katolikus Egyetem fiatal kutatói a Harvard Egyetem, valamint a berlini Charité kutatóival kooperációban dolgozták ki az ezt lehetővé tévő online diagnosztikai technológiát. Fejlesztésüknek köszönhetően előre meg tudják mondani, hogy a műtéti megoldás mellett a hormon-, a kemo- és a célzott terápiaik közül melyik lesz hatásos az adott beteg esetében.

Jelenleg a műtét során eltávolított elsődleges tumorból három különböző teszttel végzik el a vizsgálatot ennek megállapításához. Bár microarray-ek (kisméretű üveglap, amelyre rácsszerűen helyezhetőek el a minták) segítségével mindhárom fenti paramétert egyszerre meg lehetne határozni, ám ezek kiértékelése rendkívül bonyolult, lényegében képzett bioinformatikusra van szükség hozzá.

A kutatók mostani fejlesztésének eredményeképpen a www.recurrenceonline.com cím alatt elérhető rendszer megoldja ezt a problémát, azáltal, hogy a kiértékelést teljesen automatizált módon képes elvégezni. Egyetlen fájl kap e-mailen a beteg kezelőorvosa, aki ezután ezt interneten feltölti a honlapra. Itt a bioinformatikai rendszer az egyes gének lemérése után meghatározza a hormonreceptor-státuszt (ez megmutatja, szükséges-e hormonterápia), az ERBB2-receptor-státuszt (ez jelzi, szükséges-e célzott terápia), valamint a recurrencecore-t és a recurrencerisket, amelyek megmutatják, szükséges-e kemoterápia. Az eredményeket a rendszer számszerű, valamint grafikus formában is elkészíti, és jelentés formájában visszaküldi az onkológusnak, aki ezután el tudja dönteni, mely gyógyszeres terápia lesz betegének a leghatásosabb.

Az elemzés csak pár percet vesz igénybe. Mint Dr. Györfly Balázs, a kutatócsoport vezetője mondja, a teljes diagnosztika ára töre-

déke annak, mintha az egyes teszteket különböző laborokban kellene elvégezni. A rendszer szabványosított, az amerikai FDA által jóváhagyott microarrayeket használ, ezért a diagnosztika teljesen objektív és reprodukálható.

A rendszert 2472 minta felhasználásával tesztelték, és a túlélés, valamint a hormonreceptor-státusz előrejelzése a jelenleg alkalmazott tesztek hatékonyságát jelentősen meghaladta. Az általuk létrehozott honlap a világ első ilyen rendszere, sőt semmilyen ehhez hasonló más platform nem érhető el sem az emlőtumor, sem más ráktípus esetén.

A rendszer idén bekerült a Magyar Innovációs Techshow kiválasztott fejlesztései közé, valamint bemutatta az Insight Publishers Ltd. által kiadott, az Európai Unió területén terjesztett *Projects Magazine*. A tudományos eredményeket egy cikkben foglalták össze a kutatók, amely jelenleg nyomdában van; a Springer által kiadott, az emlőrákkal foglalkozó szakirodalom egyik vezető lapjában, a *Breast Cancer Research and Treatment*-ben jelenik majd meg. Mint azt Györfly Balázstól megtudtuk, jelenleg folyik a rendszer benyújtása az FDA-hoz (Food and Drug Administration, Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerengedélyezési Hivatal), amelynek sikere esetén a fejlesztés kikerülhet a laborból, és a jövőben elkezdődhet maga a betegdiagnosztika.

A projektben részt vevő kutatók: Dr. Györfly Balázs, a Magyar Tudományos Akadémia és a Semmelweis Egyetem közös kutatócsoportjának tudományos főmunkatársa, Weltz Boglárka (Pázmány Péter Katolikus Egyetem, hallgató) a személyre szabott osztályozó algoritmus fejlesztője, Benke Zsombor (Pázmány Péter Katolikus Egyetem) a honlapot fejlesztette ki, Lánckzy András (Semmelweis Egyetem, II. sz. Patológiai Intézet) a recurrencerisk osztályozó algoritmust, és

Balázs Bálint (Pázmány Egyetem, hallgató) a minőségellenőrzési algoritmust fejlesztette ki. (www.semmelweis-univ.hu, 2012. február 29.)

ANYAGTUDOMÁNYI KUTATÓ KÖZPONT ALAKULT A FOGORVOSTUDOMÁNYI KARON

A Semmelweis Egyetem Fogorvostudományi Kar, Önálló Radiológiai Részleg keretében kutatóegyetemi TÁMOP-támogatással megalkult az Anyagtudományi Kutató Központ (AKK [Materials Science Research Institute – MSRI]). A központ célirányos képzettségű, interdiszciplináris együttműködésben járatos, nemzetközi elismertségnek örvendő kutatói gárdával végzi ennek a széles spektrumú tudást és jártasságot igénylő részszakmának magas szintű művelését.

Hazai környezetben úttörőként teljesíti a XXI. század technológiai- és ismeretanyagával szinkron, magas színvonalú tudományos kutatást. Szerkezetében egyesíti a kvantumkémiái kutatási tevékenységet, a számítógépes molekulatervezést és laboratóriumi polimer-szintézist, az előállított anyag mechanikai tulajdonságait célzó vizsgálatokat, valamint a szintetizált anyag *in vitro* és *in vivo* biokompatibilitás-vizsgálatait. A kutatómunka nemcsak alapkutatást jelent, hanem célirányos alap- és alkalmazott kutatás, valamint a kísérleti fejlesztés érdekében történik. Az AKK küldetésének tekinti az egyetemi kutatási eredmények ipari és üzleti hasznosítását. Ez az egyedülálló struktúra a biztosítéka annak, hogy bármely ponton újraindítható az új tömőanyag fejlesztésének folyamata, bármelyik szinten is bizonyul esetleg tévesnek egy korábbi koncepció.

Az AKK kiemelt feladatként kezeli a fogászati anyagtudomány új koncepció szerint működő, nemzetközi hálózatának létrehozását, illetve az abban való aktív részvételt, vezető szerepet. E célok elérésével a világ neves anyagtani kutatóműhelyeinek sorába kíván lépni. A fenntartható fejlődés koncepcióját nagyon szigorúan kívánja saját működésében is követni, már indulásakor is oly módon, hogy a számítógépes molekulatervezés módszere aktivitásának alapját képezi. (www.semmelweis-univ.hu, 2012. január 11.)

DIGITÁLIS SZÖVETTANI GYAKORLÓT ADTAK ÁT A II. PATOLÓGIAI INTÉZETBEN

Angol, magyar és német nyelven is lehet oktatni a Semmelweis Egyetem II. sz. Patológiai Intézetében október 18-án átadott Digitális Szövetani Gyakorlóban, melynek létrehozását önerőből finanszírozta az intézet. Dr. Tímár József igazgató elmondta: a teremben úgy is tanulhatnak a hallgatók, hogy az oktató más helyszínről irányítja őket, a diákok interneten is részt vehetnek az órákon úgy, hogy nincsenek a teremben. Az e-learning segítségével a patológus szakorvosképzésben, illetve -továbbképzésben is használhatják a metszetfelismerő rendszert. A későbbiekben vizsgáztatást is terveznek a digitális szövetani gyakorló rendszerén keresztül.

Dr. Molnár Béla, a digitális patológiai oktatás technikai hátterét adó digitális mikroszkópia kifejlesztője arról beszélt: a digitális mikroszkópia ma már versenytársa az optikai mikroszkópiának. Fontosnak tartja, hogy az egyetem támogatja a jó ötleteket, így az innováció további lépcsőit is végig lehet vinni. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. október 18.)

A SZEMÉLYRE SZABOTT MEDICINA KIHÍVÁSAI

A Magyar Személyre Szabott Medicina Társaság (MSZMT) és a Semmelweis Egyetem 2011. szeptember 23–24-én Egerben, a Szent János ház több évszázados falai között rendezett konferenciát *A személyre szabott medicina kihívásai* címmel.

Az individualizált orvoslás paradigmaváltást jelent a gyógyításban, az egészség-gazdaságtanban és transzlációs medicinában. A cél a betegek egyéni jellegzetességeinek megfelelő prevenció, predikció és terápiás stratégia kidolgozása, mely megvalósítását a molekuláris biológiai technológiák segítik. A fenti cél csakis multidiszciplináris megközelítéssel érhető el, amelyet a konferencia szekciókra bontott tematikus előadásai is visszatükröztek.

A konferencia díszvendége a nemzetközileg is elismert Dr. Michael Liebmann volt, a Strategic Medicine igazgatója, aki a *Biomarker Correlation Versus Causality in CNS Disorders* című előadásában új szemlélettel közelítette meg a személyre szabott orvoslás kérdését. Az MSZMT elnöke, Dr. Németh György komprehenzív összefoglalást nyújtott az individualizált kezelések jelenlegi helyzetéről és annak korlátairól. Az idei konferencia fő témái: személyre szabott orvoslás a neurológiai és a pszichiátriai betegségekben, az onkológiai kórképekben, modern technológiák a személyre szabott orvoslás szolgálatában, valamint a P4 medicina és a tradicionális orvoslás kapcsolata volt. Egy szekció az SZSZO társadalompolitikai és egészség-gazdaságtani hatásait elemezte, és kitért az új szemlélet következtében felvetődő új etikai problémákra is. A konferencián a Semmelweis Egyetem huszonkilenc kutatója tartott előadást. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. október 4.)

TÚL AZ ÖTSZÁZADIK BETEGEN A SPECT-CT

Év eleje óta több mint ötszáz beteget vizsgáltak meg az egyetem SPECT-CT gépével. Ilyen gépből négy van az országban, a legújabb detektortekológiával azonban csak ez az egy működik. Az egyetem közös kutatási programot indított a SPECT-CT-t szállító magyar céggel, és a gyakorlati tapasztalatok alapján fejlesztik tovább a készüléket.

Dr. Dabasi Gabriella, a Nukleáris Medicina Tanszék vezetője bevezetesként, a munkájuk bemutatására egyik kedvenc történetét mesélte el Hevesy Györgyről, a nukleáris medicina atyjáról, aki magyar állampolgárként vette át a Nobel-díjat a nyomjelzési technika létrehozásáért. A tudós Manchesterben tanult, és közösen bérelt lakást több diákkal. A hallgatók nagyon nem voltak megelégedve a kosztal, azt gyanították, hogy a házvezetőnőjük egész héten ugyanabból a húsból készít nekik különböző ételeket. Hevesy György ezért radioaktív jelöléssel látta el a húst a vasárnapi ebédnél, így ki tudta mutatni, hogy a következő héten ez mely ételekben bukkant fel újra.

Az egyetemen január eleje óta működő SPECT-CT hibrid gép: egyszerre végez röntgensugaras rétegvizsgálatot, s az izotópot is detektálja, így nemcsak a funkcionális változást tudják kimutatni, hanem annak pontos helyét is meg tudják állapítani a szervezetben.

A tanszékvezető elmondta: a műszer sokfajta vizsgálatra alkalmas. Jellemzően onkológiai vizsgálatokat végeznek, a csontáttéteket például akár a megjelenés előtt hónapokkal ki tudják mutatni. A SPECT-CT-vel terápiák nyomon követése is folyik, rendszeres vizsgálattal megállapítható, hogy az alkalmazott gyógymód hatásos-e. Sok gyerek is megfor-

dul náluk: egyebek mellett a születési veserendellenességet diagnosztizálják, majd követik nyomon. Dabasi Gabriella kiemelte, hogy a SPECT-CT endokrin daganatoknál lényegesen hatékonyabban működik, mint bármelyik másik diagnosztikai eszköz.

Az egyetemen 2011 januárjában létrejött a Nukleáris Medicina Tanszék, amely a napi rutinvizsgálatok mellett a Humán-SPECT CT Kutatóközpontnak is helyet ad. A magyar gyártóval közös kutatási program indult, amelynek lényege a SPECT-CT-diagnosztika és -képzés továbbfejlesztése. A tanszékvezető szerint ez azért fontos, mert a gyakorlati tapasztalataikat veszik figyelembe a fejlesztésnél. Mint mondta, a SPECT-CT-t a PET- és az MR-vizsgálatokkal is össze lehet kapcsolni, ennek tesztelése kisállatokon már folyik.

Dr. Dabasi Gabriella arról is beszélt: külön öröm, hogy egyre több fiatal érdeklődik a szakterület iránt; ez a munka képes itt tartani őket, így van utánpótlás. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. szeptember 26.)

ÚJ PERSPEKTÍVÁK A NEUROLÓGIAI BETEGSÉGEK KEZELÉSÉBEN

A Semmelweis Egyetem orvosai és kutatói huszonnégy előadással és poszterrel vettek részt a szeptember 10–13. között, csaknem ötezer neurológus részvételével tartott Európai Neurológus Konferencián, Budapesten (XV. European Federation of Neurological Societies – EFNS).

Vasárnap, 11-én délután a főcímbeli elnevezéssel rendezett *workshop* szervezője és moderátora, Dr. Molnár Mária Judit professzor a neurológiai alkalmazású génterápiás lehetőségekről adott áttekintést. A Focused

workshop előadói közül Dr. Stephan Züchner, a miami egyetem professzora a személyre szabott orvoslás neurológiai és pszichiátriai aspektusait foglalta össze, míg Dr. Michael Sinnreich, a Baseli Egyetem Biomedicina Intézetének professzora a genetikusan meghatározott neurológiai kórképek új típusú kezelési lehetőségeit összegezte.

A biotechnológiának egyre nagyobb a szerepe az új terápiás modalitások előállításában. A monoklonális ellenanyagok és az enzimpótló terápiák ma már a mindennapi klinikai gyakorlat részét képezik. A sejt- és a génterápia pedig valós remény, hiszen számtalan klinikai vizsgálat indul napjainkban e témakörben. A neurológiai betegségek közül a Duchenne-típusú izomdisztrófia, illetve a hagyományos kezelésre rosszul reagáló Parkinson-kórban vannak reményteljes, már III-as stádiumú klinikai vizsgálatok – mondta Molnár Mária Judit.

A molekuláris biológia és a genomika gyors fejlődése nemcsak a betegségek kezelésében, hanem a kórkép korai felismerésében is számos új genomiai alapú molekuláris marker azonosítását teszi lehetővé, melyekkel akár már tünetmentes állapotban is lehetséges a diagnosztizálás. Az új markerek a kezelés hatékonyságáról is információt adnak több kórképben is.

Az ilyen biomarkerek új genomikai diagnosztikai tesztek alapjául szolgálnak, amelyekkel a betegség kimutatható, segítségükkel az egyénben a betegség kockázatbecslése is végezhető. Mindemellert arról is informálják az orvost, hogy egy beteg számára az adott kezelés hatékony-e. Ezek a módszerek alkalmasak a gyógyszer dózisének az egyén metabolizmusától függő optimalizálására is. Az új diagnosztikus eljárások olyan új kezelések fejlesztéséhez is hozzájárulnak, melyek az

egyed genetikai rendellenességek következtében kialakuló tünetek gyógyítását célozzák.

A konferencia résztvevői a tudományos programok mellett továbbképző kurzusokra is jelentkezhetnek. Az egyetemről Dr. Bereczki Dániel professzor *How Do I Examine...* címmel indított rendkívül népszerű, kb. hatszáz résztvevővel zajló kurzust neurológusok számára. A téma a mononeuropátiák és a disztóniák felismerése volt, valamint az első epilepsziás roham ellátásához szükséges információkat sajátúthatták el a résztvevők. A konferencia alkalmából huszonhárom ország negyvenöt rezidense látogatást tett az egyetem Neurológiai Klinikáján, hogy betekintést kapjon a magyar betegellátás körülményeiről.

A kongresszuson szereplők munkáját a Semmelweis Kutató Egyetem *Modern Orvostudományi Technológiák a Semmelweis Egyetemen* c. TÁMOP-pályázat támogatta. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. szeptember 13.)

HA A MIKROSKÓP FÉNYKÉP, A MULTIFOTON VIDEÓ

Élő állatok szerveinek funkcióit tanulmányozhatják a kutatók jelentős térbeli és időbeli felbontással a Semmelweis Egyetem új multifoton lézer pásztázó fluoreszcens mikroszkópjával. A Biofizikai és Sugárbiológiai Intézetben található készülék segítségével élő szervezetben a kutatók láthatóvá tehetik a normális és kóros folyamatokat, a szervek alapvető funkcióit (keringés, kiválasztás, felszívás). Lehetőség van annak képi megjelenítésére is, hogy egyes anyagok (fehérjék) a vizsgált szövetekben, szervekben mikor és hol keletkeznek, vagy bomlanak el.

A szövetek, sejtek egyes alkotóelemei önmagukban, illetve festékekkel jelölve gerjesz-

tő fény hatására képesek fényt kibocsátani, a multifoton mikroszkóp alapelve pedig lehetővé teszi, hogy (szemben a konfokális képalkotással) nagy mélységekben, minimális szövetroncsoló hatással, nagy felbontású képet kapjunk az élőben zajló folyamatokról.

Az I. sz. Gyermekklinikán több mint egy évtizede tanulmányozzák kutatók a vese oxigénhiányos állapotát (az agy mellett a vese oxigénfelhasználása a legnagyobb). A transzplantáció során a vese elkerülhetetlenül akut oxigénhiányos állapotba kerül, aminek folyamatát, következményeit ezzel a technikával láthatóvá lehet tenni. A kutatócsoport jelenleg azon terápiás beavatkozási pontokat keresi, amelyek potenciálisan csökkenthetik a vesekárosodás mértékét. További érdeklődésük központjában álló kérdés az immunrendszert gyengítő gyógyszerek használata immunbetegségek, transzplantáció esetén, amelyek bár megakadályozzák a szerv kilökődési reakcióját, de hosszú távon a vesére káros hatással vannak. Cél e patomechanizmus feltárása.

A nefrológia szakterületén így most már nemcsak hagyományos mikroszkópos technikákkal tudnak előbbre jutni a kutatók, hanem élő állatban is vizsgálhatják működés közben a szerveget, szöveteket, folyamatokat. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. augusztus 23.)

ÚJ SZEREPBEN AZ INTELLIGENS SEBÉSZETI ESZKÖZ

Dr. Veres Gábor, az I. sz. Gyermekklinika gasztroenterológus docense elmondta, hogy nagy várakozással tekintenek az intelligens sebészeti eszköz endoszkópiás tesztelésére. Korszakos jelentőségű lenne, hogy akár a gyomortükrözésnél, akár a vastagbél endoszkópiás vizsgálatánál azonnal meg lehetne

ítélni, hogy az adott gyermeknél a kóros nyálkahártya csak egy közönséges, gyorsan múló fertőzés vagy egy krónikus gyulladás (Crohn-betegség, colitis ulcerosa) következménye. Bár a daganatos bélbetegségek gyermekkorban ritkák, az elmúlt héten egy tizenhat éves lánynál találtak daganatra utaló elváltozást. Ilyenkor fontos, hogy ne teljenek el hosszú napok a hagyományos szövettani eredmény megérkezéséig.

Az intelligens sebészeti eszköz segítségével a sebész már műtét közben tudja, milyen rákfajtaival áll szemben. Műtét közben, helyben és valós időben végezhető a szövetazonosítás a sebészeti szikéhez kapcsolt eszközzel.

Takáts Zoltán, a Semmelweis Egyetem kutatója az onko-kés működését ismertette elmondta, hogy a sebészek ma még kénytelenek a műtét előtt elvégzett képalkotó vizsgálatok eredményeire hagyatkozni, amikor váganak. Ha közben kérdések merülnek fel, akkor mintát kell venniük, a műtét közbeni szövettani vizsgálat pedig akár fél óráig is tarthat. Ha többszöri mintavételre van szükség, akkor nagyon megnyúlik a műtét ideje. A szövetek kémiai összetétele is különbözik, ha tehát sikerül műtét közben elvégezni a kémiai vizsgálatot, akkor a sebész azonnal tudja, hogy mivel áll szemben. Takáts Zoltán hangsúlyozta: az eszköz hatékonysága megegyezik a hagyományos, műtét közbeni vizsgálati módszerek hatékonyságával, vagyis nem ad hamis negatív eredményt; minden beteg szövetet biztosan jelez – közölte.

Az intelligens eszköz használható egyrészt úgy, hogy a normális sebészeti beavatkozás során figyelmeztető jelzést tud adni a sebésznek, ha túlságosan megközelíti a rákos daganatot, másrészt olyan esetben is segít, amikor a sebész valami gyanús dolgot lát a műtét során, és azt azonnal azonosítani kellene.

Takáts Zoltán szerint az endoszkópiás műtéti eljárások során a test belsejében is képesek lennének azonnali diagnózishoz juttatni az orvost. Nemcsak daganatokat jelezhetünk, hanem gyulladásoz bélbetegségeket, fertőzéseket, szövetelhalást, mégpedig bárhol, akár a nyálkahártyán is. Mint mondta, az eszköznek hasznát vehetik a nőgyógyászatban, az érsebészetben, illetve a bőrgyógyászati és a plasztikai sebészetben is. Jelenleg a Semmelweis Egyetem I. sz. Sebészeti és I. sz. Gyermekgyógyászati Klinikáján, valamint Debrecenben tesztelik az eszközt. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. július 13.)

SÉTA A GÉNEK BIRODALMÁBAN – A SZEMÉLYRE SZABOTT ORVOSLÁSÉ A JÖVŐ

Kutatóegyetemi túrát tartottak újságírók számára a Dr. Molnár Mária Judit vezette Személyre szabott orvoslás – Prevenációs moduljának tagjai a Molekuláris Neurológiai Klinikai és Kutatási Központban. A programon a tavaly áprilisban elnyert Semmelweis Kutatóegyetemi címhez kapcsolódó 2,9 milliárd Ft-os TÁMOP-pályázat mutatkozott be. A személyre szabott orvoslás a jövő – hangzott el a rendezvényen.

Molnár Mária Judit kifejtette, a jelenlegi gyógyászat a már meglévő betegségekkel foglalkozik, de a hangsúly egyre jobban az örökletes, valamint epigenetikai (környezeti) rizikók felderítésére és a megelőzésre tevődik át. A másik irányvonal a farmakogenomikai kutatások, amelyek révén kideríthető, hogy melyik betegnél hatásos valamilyen gyógyszer. Megtalálni azokat, akiknél biztosan hatásos a gyógymód, azokat, akiknél várható mellék-

hatás, kideríteni, kik és miért hajlamosak egyes betegségekre – a Semmelweis Egyetem Molekuláris Neurológiai Klinikai és Kutatási Központban a kutatók ezekre a kérdésekre keresik a választ. A molekuláris biológiai vizsgálatok segítségével feltérképezhető az emberek génállománya. Az igazgató arról is beszélt az újságíróknak, hogy vannak olyan öröklődő neurológiai betegségek, amelyek háttérben egy azonosítható genetikai hiba áll (például a Huntington-kór vagy örökletes Parkinson-kór), de sok olyan betegség is létezik, amelyet a gének és az azokra ható környezeti tényezők együtt alakítanak ki.

A vendéglátó molekuláris diagnosztikai labor két munkatársa, Dr. Gaál Anikó és Dr. Nyíró Gábor ismertették a rutinszerűen végzett vizsgálatokat, bemutattva az ezekhez használt eszközöket is.

Az eseményen a projekt moduljainak témavezetői ismertették kutatási témáikat. Dr. Falus András, az Általános Orvostudományi Kar Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézetének igazgatója a gyermekkori asztma, az akut leukémia, valamint a kóros elhízás genetikai és epigenetikai vonatkozásaival foglalkozó vizsgálatokat ismertette. Nem az asztma öröklődik, hanem az arra való hajlam, amely epigenetikai, azaz környezeti tényezők (például dohányzás) révén manifesztálódik. Amennyiben időben felfedezik a hajlamot, akkor a kór megelőzhetővé válhat, késleltethető a kialakulása, vagy enyhíthetők a tünetei – hangsúlyozta a professzor.

A beszélgetésben a résztvevők kiemelten foglalkoztak a vizsgálatokkal nyert genetikai információk tartalmának és kezelésének etikai vonatkozásaival. Mint egészségügyi adat az egyén érzékeny adatai közé tartozik a genetikai információ, amelyet természetesen véd az orvosi titoktartás. Ugyanakkor a ge-

netikai információ önmagában még nem utal biztosan bekövetkező betegségre, egyéb egészségügyi eseményre. Valószínűsítést, az átlagosnál bizonyos százalékkal nagyobb vagy kisebb rizikót tudnak az eredmények ismeretében mondani.

Kb. hatezer betegség ismert csupán, amelyek bekövetkezését genetikai vizsgálat alapján biztosan tudják prognosztizálni. Mindinkább epigenetikus hatásról beszélnek a tudósok, amiben az egyén környezeti tényezői, beleértve a testi-lelki vonatkozásokat, befolyásolják a genetikai adottságokat. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. július 6.)

ARCCSONT-REKONSTRUKCIÓ 3D-BEN

Balesetben roncsolódott arc, születési rendellenesség – örök bélyeg. Meghatározza a betegek életminőségét, hogy milyen mértékben tudják visszaállítani az arc eredeti állapotát és főként a funkcionális részeket (fogazatot, állkapocs, látóidegek stb.) a szakorvosok. A beavatkozások sikerét segíti az a világszerte is egyedülálló háromdimenziós adatbázis, melyet a Kutatóegyetemi pályázatnak köszönhetően a Semmelweis Egyetem Arc- Állcsont- Szájsebészeti és Fogászati Klinikájának szakemberei készítettek.

Az ún. 3D kefalometriai adatbázis az átlag európai arcforma jellegzetességeit tartalmazza, melyhez mint etalonhoz hasonlíthatják a sebészek azokat a kóros eseteket, melyeknél nem tudják, hogy milyen volt pontosan az eredeti arcforma.

Évente ezer-kétezer arc-rekonstrukciós műtétet végeznek a szakemberek Magyarországon. Eddig csupán kétdimenziós adatokkal, „szemre” dolgoztak mindenütt a világon,

vagyis a beavatkozásokat különféle hagyományos röntgenfelvételek és CT segítségével végezték. A röntgen azonban csak 2D-analízist, a CT ugyan már 3D-ábrázolást is lehetővé tesz, azonban rendkívül nagy a sugárterhelés, ezért alkalmazása korlátozott.

Az áttörést az ún. CBCT megjelenése hozta, a CBCT-vizsgálat a CT-hez képest tizedakkora sugárterhelést jelent a betegeknek. A háromdimenziós megjelenésnek köszönhetően pedig sikeresebb lehet a rekonstrukciós műtét, illetve számos hasznos adattal egészíthető ki a klinika által készített adatbázis. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. június 30.)

INTELLIGENS ONKO-KÉS AZ I. SZ. SEBÉSZETI KLINIKÁN

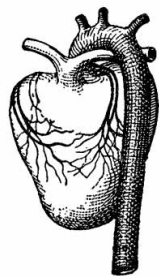
Az országban már három helyen is folynak humán tesztek azzal az intelligens onko-késsel, amelyet Dr. Takáts Zoltán, a Semmelweis Egyetem kutatója fejlesztett ki. A szükséges pénz egy részét a kutatóegyetemi pályázaton elnyert összegből fedezi az egyetem.

A találmány lényegesen felgyorsítja a biológiai szövetek analizését, csökkenti a ráksebézeti vizsgálat időtartamát, ugyanakkor megnöveli annak pontosságát, azaz képessé teszi az orvost arra, hogy gyorsabban és jobban döntsön a gyógyszer kiválasztásáról és adagolásáról. Az eszköz fő alkalmazási területe a ráksebézet, az érsebészet, illetve a bőrgyógyászati és a plasztikai sebészet. Az eszközre már a Harvard Medical School és a World's Best Technology (WBT) fóruma is felfigyelt.

Március 17-én a Semmelweis Szalonban tartott sajtótájékoztatón Dr. Takáts Zoltán mellett Dr. Tulassay Tivadar, egyetemünk rektora és Dr. Tóth Miklós, tudományos igazgató is beszélt a sajtó megjelent munkatársával. Tulassay Tivadar méltatta Takáts Zoltán eddigi munkáját, és reményét fejezte ki, hogy ennek a találmánynak sikerül elkerülnie, hogy a golyóstoll vagy a dinamó sorsára jusson.

Tóth Miklós röviden vázolta, hogy 2011. az innováció éve a Semmelweis Egyetemen, hiszen az intézmény tavaly nyerte el a Kutatóegyetem címet. (www.semmelweis-univ.hu, 2011. március 17.)

A teljes cikkgyűjtemény a *Magyar Tudomány* honlapján
(www.matud.iif.hu) olvasható.



6
Kiadványok

SEMMELWEIS KIADÓ ÉS MULTIMÉDIA STÚDIÓ

A „MINDEN EGYETEM A VILÁGON...” FELKIÁLTÁSÚ KEZDETTŐL AZ ELEKTRONIKUS KÖNYVKIADÁSIG

Több száz hagyományos szakkönyv, könyv, jegyzet, kiadvány, CD–DVD–könyvmelléletek, két könyvesbolt Budapesten, vidéki egyetemvárosi képviselői könyvesboltokkal, bizományosi értékesítő háttérrel – saját, folyamatosan fejlődő internetes kínálati és vásárlói felület, saját és más könyvkiadók könyvei rendelkezésével (www.semmelweiskiado.hu) – e-könyves fejlesztéssel, banki és mobiltelefonos vásárlási lehetőséggel, e-learning tudásanyag-fejlesztéssel – digitális nyomtatással, poszternyomtatással, fénymásolással – professzori életút-filmekkel...

Mint minden nagy hírnevű egyetem a világon, a Semmelweis Egyetem is működtet saját könyvkiadót. Így indult 1990-ben a Semmelweis Kiadó. Újabb mérföldkő 2004, amikor az Egyetem azzal a nem titkolt szándékkal újjította meg és alakította üzleti formává a már 14 éve működő kiadóját Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió néven, kiváló menedzsment-irányítással, dolgozói könyvkiadásban szerzett tapasztalatai és elkötelezettsége biztosításával, hogy az egyetem nemzeti és nemzetközi hírnevéhez méltóan, azt erősítve, a tudományok iránti alázattal, de modern és új szemlélettel, nagyobb piaci részesedéssel azt a magyar orvosi, gyógyszerészeti és természettudományok szolgálatába állítsa. Azóta a kitaposott, hagyományos és a gazda-

sági-szakmai-technikai kihívásokkal teletűzött új utakon egyaránt szakmai és minőségi meghatározó tényezői lettünk a magyarországi szakkönyvkiadásnak.

Folyóiratkiadás: Orvosképzés

A graduális és posztgraduális képzés folyóirata hagyományos és elektronikus megjelenéssel. A százéves jubileumi lapszámmal bíró folyóirat tematikus számához egyre több különszám kapcsolódik (a szemésztől a kardiológián át, klinikai pszichológia, gyermekgyógyászat, radiológia és a sort lehetne tovább folytatni). A néhol tankönyvnyi méretű tudásanyagot tartalmazó füzet orvostanhallgatók, szakképzésben, továbbképzésben résztvevők számára az egyik fontos tanulmányi segédeszközzé vált. A szerkesztőség sikerként éli meg, hogy a Semmelweis Egyetem PhD Tudományos Napok absztraktjai a kiadási programba beépült, és a graduális képzés felé nyitást jelzi az, hogy évente egy alkalommal az egyetemi Tudományos Diákköri Konferencia előadáskivonatai is közlésre kerülnek. A töretlen szakmai és nyomdatechnikai színvonal fenntartásának alappillére a folyóirat anyagi biztonságának megteremtése, amelyre a jelenlegi szerkesztőbizottság kiemelt figyelmet fordít. A folyóiratokhoz interneten is hozzájuthatnak az olvasók.

Egyetemi jegyzetek

Az elmúlt években felújítottuk egyetemi jegyzeteinket. Alig egy hónap alatt megjelentetjük, a legújabb *curriculum* igényei-követelményei szerint átdolgozzuk azokat, a szerzői igényeket a hallgatói igényekhez közelítjük.

Egyetemi tankönyvek, szakkönyvek

Csak a jól kiforrott, a szerzői gárda színvonalát által biztosított egyetemi tankönyveket bocsátjuk útjára, sikerünk a hosszú élettartamú, jól felépített könyvek megjelentetése. Különös gondot fordítunk a könyvek megszerkesztésére, igényesen megtervezett, a könyvszakma magasán képzett alkotói, szerkesztők, tördelők, grafikusok összehangolt munkái a Semmelweis Egyetem hírnevét is erősítik.

Idegen nyelvű szakkönyvek

A Semmelweis Kiadó a külföldi hallgatók oktatásához számos szakkönyvet/egyetemi jegyzetet is megjelentet, melynek színvonala nemzetközi mércével mérhető.

Orvostörténeti kiadványok

A kiadó rendszeresen törekszik arra, hogy nagy múltú orvostörténelmünkhöz méltó kiadványokat jelentessen meg. Ezekhez kapcsolódik a *Titoknyitogató* multimédiás sorozat is.

Elektronikus könyvkiadás

A nehéz anyagi helyzetben lévő könyvszakma más utakat is keres. A fejlett technika kínál is új megoldásokat. Az e-könyv világa vagy az e-learning semmiképp a kidolgozatlanságot, a kevesebb emberi alkotói erőfeszítést, a színvonalatlanságot jelenti. A könyvhöz jutás, a tudásanyaghoz való hozzáférés új módszere ez, amelyben a könyvszakma nyomdai részt-

vevői, példányszám-kötöttségek, raktározási-fizikai gondok nélkül, de új feltételekkel, programozói háttérrel, tárhelyfejlesztőkkel, a hardver- és a szoftverpiac küzdelmes és robbanékony, néhol zsákcúba futó színterén számos, új szereplőkhöz kötött. A virtuális könyvvilágban a tartalmas és szép kivitelű könyv logisztikai-technikai-világháló háttérnek megteremtése az alapfeladat.

Tendencia a szélesebb világ – szélesebb piac (nyelvi és szakirányultsági korlátokkal), a könnyebb hozzáférhetőség, ez pedig minden szempontból – megtartva a tartalomforma-jog egységét – nagyobb felelősséggel jár. Adott maga a könyv alapja, a szellemi termék, a hosszú évek tapasztalatából desztillált tudásanyag, megírva, aztán megszerkesztve, megtervezve, formába öntve. Ezt eddig csak a kézzel fogható könyv formájában képeztük el – sokan ettől nem is akarnak eltérni –, a lapokat egységbe fűző tábla, nyomdatermék-illatával nyomot hagyó, kézzel fogható, gyűrhető-hajtogatható, jelölhető, nehéz, testes matéria a tudás megszerzésére. Utunk sok-sok évtizeden keresztül a könyvesbolt felé vezetett, ez jól bejárt ösvény.

Az elektronikus könyv (röviden e-könyv) vásárlása egy másik út felé terel minket. A meggyőzést nem beváróan, lassan kerül be tudatunkba, készségeinkbe, néhol a tulajdonlás vágya és kézzelfoghatóság élménye hiányából fakadóan szerzett öröm híján, tiltakozásainkkal szembe menve, de megfordíthatatlanul jut el hozzánk. S ha a rövid, húsz-harminc éves számítógépes őrrobbanást nézzük, már nem csak kopogtat!

A virtuális világ, a nem kézzel fogható könyv fogalma új feladat elé állít kiadót és az olvasót egyaránt, ami a folyvást változó világban állandó felkészülést és szinttartást kíván. Számítógépet, e-olvasó táblákat válasz-

tunk, vizsgáljuk használhatóságukat, könnyen mozgathatóságukat, okostelefonokkal vesszük körbe magunkat, szoftverekkel fejlesztjük, azaz „megágyazunk” könyveinknek. Az e-könyv olvasásához aztán megintcsak nyugalom és *eltökélttség, akarat az olvasáshoz, az olvasási élmény szeretete, tudásszomj* kell. Aki olvasni akar, az e-könyvet is olvasni fog. Aki nem – az szomorú ügy...

A vásárlói magatartás változása még kívár, hiába állunk készen erre a technikára. Itt is kell a generációváltás vagy inkább a szemléletváltás. Már nem biztos, hogy jó az a szlogen, hogy „*Pedig az az igazi, az új könyv illata, mikor megpördítjük lapjait kezünkben!*” Majd

mást fogunk mondani néhány tíz-száz év múlva, majd másképp nosztalgizunk, másképp kívánjuk a nyugalmat árasztó élmény-könyvet. S ha csak az illat hiányzik? A nyugalmas fotel? A könyökünkönél mélyülő ágy? – csak a technika fog ezért felelni, s ha erős a követelmény, lesz illatos-zenélő-mindenre azonnali választ adó csúcstechnika. Csak olvassunk, tanuljunk hiteles könyvekből!

Most még a két „piacon” osztozik a szakma. Nincs csak az egyik vagy csak a másik út, a kiadó feladata, hogy mindkét úton kínálja a lehetőségeket. A hagyományos szakkönyv még mindig a biztos forrásanyag, a mérleg még nem billent az e-könyv felé.

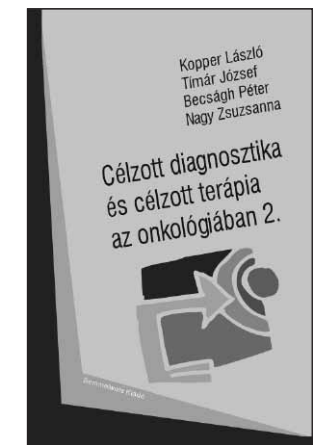
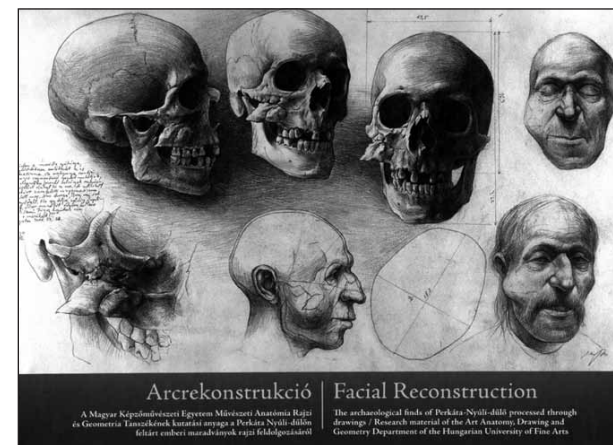
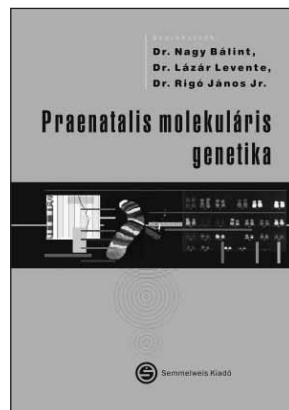
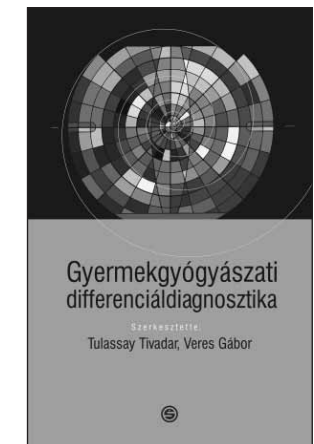
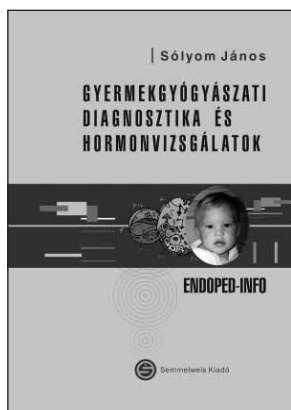
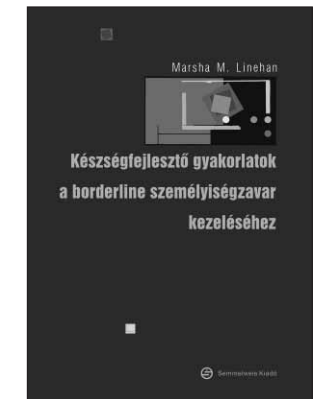
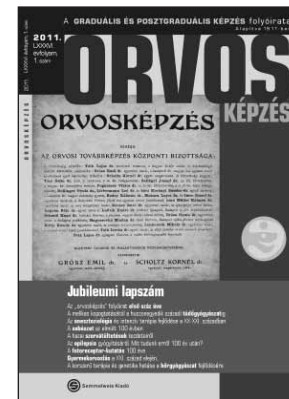
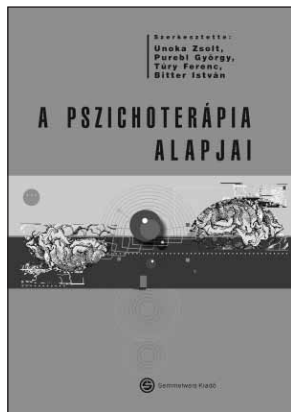
Semmelweis Kiadó és Multimédia Stúdió Kft.

H-1089 Budapest, Nagyvárad tér 4.

(36-1) 210-4404

www.semmelweiskiado.hu





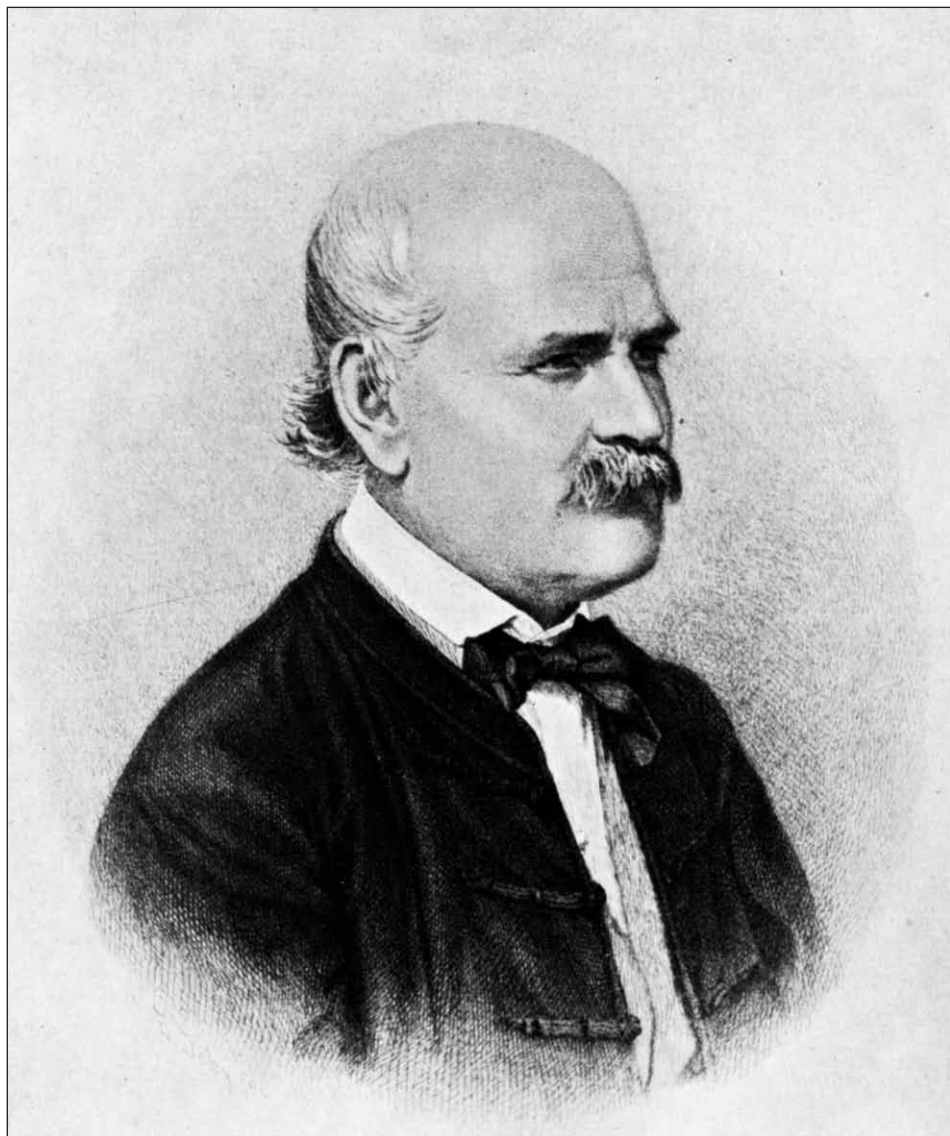
MODERN BIOMEDICAL TECHNOLOGIES AT SEMMELWEIS UNIVERSITY

Tivadar Tulassay: Words of Welcome	2
1. Diagnostics	
Ágoston Szél: Biological Imaging Serving Diagnosis: From Molecules to Man	5
Ágnes Prókai – Leonóra Himer – Nóra Berta – Anna Kosik – Ádám Vannay – Katalin Kis-Petik – Attila Szabó: Exploration of Renin Secretion with Multi-photon Microscopy in Acute and Chronic Renal Pathology	16
Szabolcs Osváth – Krisztián Szigeti: Novel Dynamic Imaging Method	25
2. Technology	
Miklós Kellermayer: Biomaterials: From Nanotechnology to Tissue Engineering	30
Angéla Jedlovszky-Hajdú – Zsófia Varga – Dávid Juriga – Kristóf Molnár – Miklós Zrínyi: Biocompatible Materials: Artificial Matrices and Nanoparticles	39
Anna Énzöly – Petra Dunkel – Andrea Czompa – Ruth Deme – Klára Gyires – Kálmán Magyar – János Németh – Péter Mátyus: Semicarbazide Sensitive Amine Oxidase Inhibitors as Novel Therapeutic Agents for the Treatment of Inflammatory Ophthalmological Diseases: From Selective Inhibitors toward a New Type of Multi-Target Anti-Inflammatory Drug Candidates	48
3. Therapy	
Veronika Ádám-Vizi – László Hunyady – Erzsébet Ligeti – József Mandl – András Matolcsy – József Tímár: Aimed at Malignant Diseases	54
András Balla – László Sándor Erdélyi – László Hunyady: Analysis of the Activation Models of G Protein-coupled Receptors	69
László Szilák – Anikó Keller-Pintér – József Tímár: Application of Angiostatin in Tumor Therapy	76
4. Prevention	
Mária Judit Molnár: Personalized Medicine: Changing Paradigm in Healthcare	81
Ágnes F. Semsei – Orsolya Lautner-Csorba – Nóra Kutszegi – Géza Schermann – Olivér Eipel – András Falus – Csaba Szalai – Gábor Kovács T. – Dániel Erdélyi: Pharmacogenetics of Pediatric Acute Lymphoid Leukemia through an Example of a Chemotherapeutic Agent's Side Effect	90
Tamás Szaniszló – Júlia Dénes – Zoltán Takáts: The iKnife: Rapid, in Vivo Identification of Biological Tissues during Surgical Interventions by Mass Spectrometry	98
5. University News	108
6. Publications of the Semmelweis University	122



Fent: a Semmelweis Egyetem Központi Épülete a legfőbb adminisztrációs hivatalokkal;
lent: a 2008-ban átadott Elméleti Orvostudományi Központ





Semmelweis Ignác • 1818-1865