

DOKTOR (PH.D.) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

A HYPOPHYYSIS ADENILÁT-CIKLÁZ AKTIVÁLÓ POLIPEPTID VIZSGÁLATA

CARDIOVASCULARIS KÓRKÉPEKBEN

Dr. Szabó Dóra



Témavezetők: Dr. Sárszegi Zsolt egyetemi adjunktus

Pécsi Tudományegyetem, Klinikai Központ, Szívgyógyászati Klinika

Dr. Tamás Andrea, egyetemi docens

Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Anatómiai Intézet

Programvezető: Prof. Dr. Szokodi István, egyetemi tanár

Doktori iskola vezetője: Prof. Dr. Bogár Lajos, egyetemi tanár

2022

I. BEVEZETÉS

1.1. *Hypophysis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP)*

A hypophysis adenilát-cikláz aktiváló polipeptid (PACAP) egy multifunkcionális neuropeptid, mely PAC1 és VPAC1-2 receptorain keresztül gyulladáscsökkentő, anti-apoptotikus, antioxidáns, valamint neuroprotektív, neurotrofikus és általános citoprotektív hatásokat képes kifejteni. Korábbi vizsgálatok PAC1 receptor expressziót igazoltak pitvari és kamrai szívizomzatban egyaránt, továbbá munkacsoportunk a PAC1 receptor jelenlétét szívűtéten átesett betegek myocardiumában is kimutatta. Ezen receptorok közvetítésével a PACAP közvetlen antiischaemiás és kardioprotektív hatásokkal is rendelkezik. In vitro vizsgálatok a PACAP védő hatását igazolták az ischaemiás károsodásokkal szemben, mely az antiapoptotikus faktorok serkentése és a proapoptotikus utak gátlása révén valósult meg. Az egereken végzett arteria coronaria sinistra ramus interventricularis anterior (LAD) ligatúrát követően kimutatott fokozott PACAP-38 expresszió is a PACAP kardiális remodellingben betöltött, kiemelt szerepét támasztja alá.

Az ischaemiás szívbetegség mellett a PACAP a szívelégtelenség patomechanizmusában és progressiójában is fontos szerepet tölthet be. Ismert, hogy az exogén PACAP kezelés a proapoptotikus és antiapoptotikus útvonalak szabályzásán keresztül védő hatással bír a különböző cardiomyocytakárosító ágensekkel szemben. Így PACAP-deficiens egerekben doxorubicinnal indukált cardiomyopathiában sokkal súlyosabb szívelégtelenség (súlyosabb bal kamra dilatáció és szignifikánsan alacsonyabb systolés bal kamra funkció) alakult ki, valamint mortalitásuk is jelentősen magasabbnak bizonyult a kontroll csoporthoz képest.

1.2. *Az általuk vizsgált cardiovascularis kórképek*

Az akut myocardialis infarctus (AMI) a fejlődő intervencionális technikák ellenére még mindig az egyik vezető halálok. Az AMI diagnózisában fontos szerepet tölt be a magas szenzitivitású kardiális troponin (hs-cTn) szint meghatározása, azonban az Európai Kardiológiai Társaság legújabb ajánlása részletesen kitér az emelkedett hs-cTn értékek mögött álló patológiák komplexitására. Ezért az elmúlt években számos tanulmány foglalkozott olyan potenciális, új biomarkerek azonosításával, melyek a már meglévő rutin paramétereket kiegészítve, azok diagnosztikai és prognosztikai értékét erősítik.

Az utóbbi években számos transzlációs tanulmány indult az AMI részletes vizsgálatára különböző kísérletes állatmodellek alkalmazásával, melyek közül a zárt mellkasú sertés AMI modell képes a legmegbízhatóbban tükrözni az emberi coronaria rendszer anatómiáját és a valódi perkután coronaria intervenció körülményeit. Továbbá ezen modellekben a különböző pre- és postkondicionálási technikák vizsgálatára is lehetőség nyílik.

Az AMI mellett a szívelégtelenség az egyik legmagasabb incidenciával és mortalitással bíró cardiovascularis kórkép. A szívelégtelenség háttérben leggyakrabban cardiomyopathia áll, melyet etiológia alapján ischaemiás (ICM) és nem-ischaemiás cardiomyopathia (NICM) csoportra bonthatunk. ICM és NICM esetén is a külső károsító tényezők (ischaemiás vagy oxidatív stressz, cardiomyocytakárosodás) és az adaptációs mechanizmusok (neurohumoralis egyensúly felborulása, fokozott szimpatikus aktivitás, apoptózis, fokozott citokin expresszió,

I. BEVEZETÉS – II. CÉLKITŰZÉS

különböző immunológiai és inflammatorikus változások) együttes hatására végül kardiális remodelling alakul ki, mely különböző jelátviteli utakon keresztül (MAPK-ERK, PLC-PDK) a myociták hypertrophiájához, apoptózisához valamint fokozott intersticiális fibrosishoz vezet. A kardiális remodelling hátterében álló egyik legfontosabb folyamat az oxidatív stressz. A reaktív oxigén szabadgyökök (ROS), valamint a szuperoxid-dizmutáz (SOD) a myocyták károsodásához, apoptózishoz vezet, míg a szuperoxid anion (O_2^-) csökkenti a myocardium kontrakcióját. Mindemellett bizonyos proinflammatorikus citokinek (IL-1 β , IL-2, IL-6, TNF α), chemokinek (monocita kemoattraktáns protein – MCP-1) és a CXC-chemokinek szintje is megemelkedik, mely jól korrelál a szívelégtelenség súlyosságával és prognózisával.

A szívelégtelenség diagnosztikájában és a prognózis becslésében fontos szerepet töltenek be a tünetek, valamint a New York-i Kardiológiai Társaság (New York Heart Association) funkcionális beosztása, az echocardiographia és a ma már rutin szerint alkalmazott N-terminális pro B-típusú natriuretikus peptid (NT-proBNP) szint vizsgálata. Azonban az a klinikai megfigyelés, mely szerint a csökkent ejekciós frakcióval járó szívelégtelen (HFrEF) betegek hasonló paraméterek (NYHA stádium, EF és NT-proBNP szintek) ellenére a maximális gyógyszeres kezelésre eltérően reagálnak, felveti a potenciális, új biomarkerek alkalmazásának szükségességét a pontosabb prognosztikai becslés, és ezáltal a személyre szabott, optimális kezelés beállítása érdekében.

II. CÉLKITŰZÉS

Az alapkutatósi eredmények alapján két olyan epidemiológiai szempontból releváns kardiológiai kórképet vizsgáltunk, melyek patomechanizmusában a PACAP-38 jelentős szereppel bírhat.

2.1. Akut myocardialis infarctus (AMI) vizsgálata

Transzlációs vizsgálatunk keretein belül először arra kerestük a választ, hogy vajon kimutatható-e szignifikáns különbség az AMI-on átesett betegek és a kontroll csoportok szöveti és plazma PACAP-38 szintjei között? Ennek során zárt mellkasú, sertés AMI modellben vizsgáltuk az esetleges szöveti PACAP szint eltéréseket a különböző szívüregekből származó mintákban, valamint arra a kérdésre is választ kerestük, hogy van-e szignifikáns hatása a pre- és postkondicionálási technikáknak a szöveti PACAP szintekre?

2.2. Szívelégtelen betegek vizsgálata

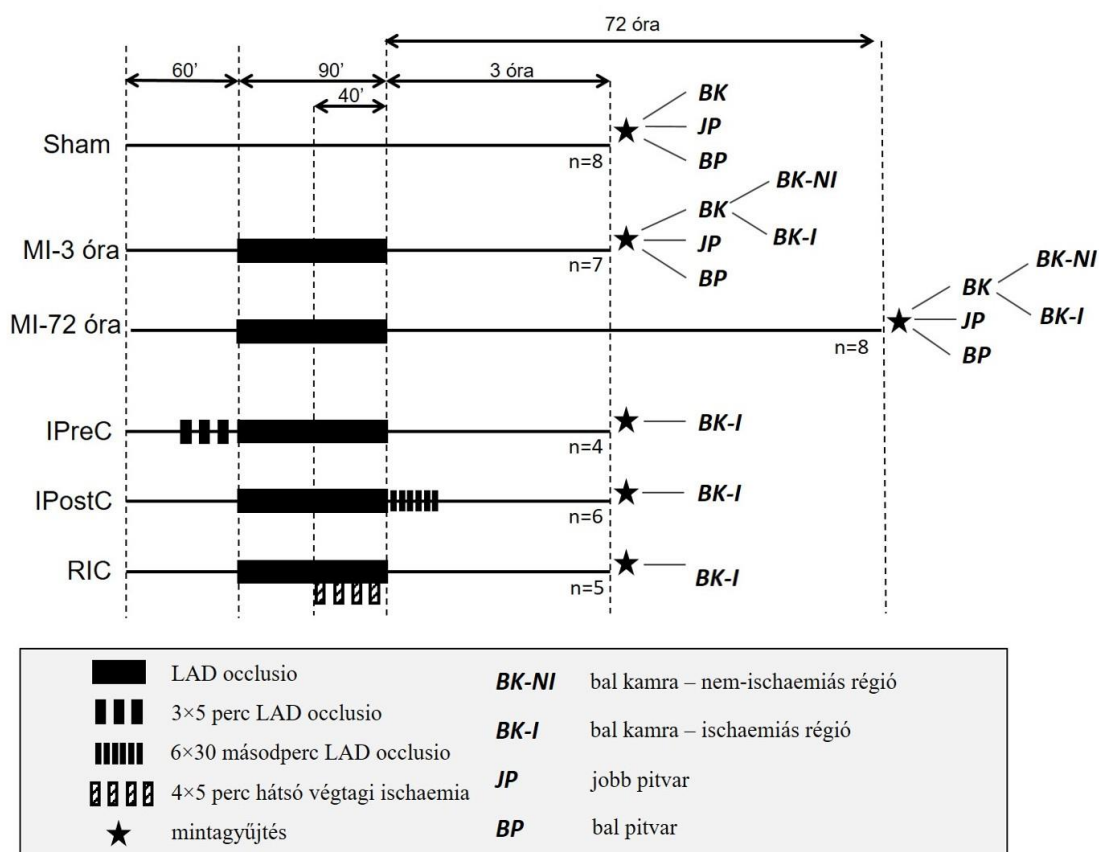
Vizsgálatunk második részében különböző súlyosságú szívelégtelen, valamint akut és krónikus szívelégtelen betegek plazma PACAP szintjei közötti különbségeket vizsgáltuk egészséges, kontroll csoporthoz viszonyítva. HFrEF betegeinknél célunk volt a különböző pro- és antiinflammatorikus citokin-szintek közötti különbségek feltárása és a plazma PACAP szintekkel történő korreláltatása. Mindezek mellett a szívtranszplantáción átesett betegek szívizommintáinak szöveti PACAP-38 szintjében és a PAC1 receptor expressziójában igazolható eltéréseket is jellemeztük. Mindkét betegcsoport esetében további célunk volt az esetleges összefüggések feltárása a PACAP-38 szintek és a jelenleg használt prognosztikai biomarkerek, rutin laborparaméterek és különböző echocardiographiás paraméterek között.

III. MÓDSZEREK

3.1. Akut myocardialis infarctus vizsgálatának menete

3.1.1. Szöveti PACAP-38 szintek vizsgálata akut myocardialis infarctus sertés modelljében

Zárt mellkasú reperfúziós akut myocardialis infarctus sertés modellben 38 nőtény sertést vizsgáltunk kollaborációban a Semmelweis Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézetének munkatársaival. Minden esetben 90 perces ischaemia után reperfúzió történt, majd 3 vagy 72 órával a reperfúziót követően túllattattuk az állatokat. Továbbá ugyanezen modellen vizsgáltuk a különböző pre- és postkondicionálási technikákat is. A vizsgált állatokat az 1. ábrán bemutatott csoportokba osztottuk.



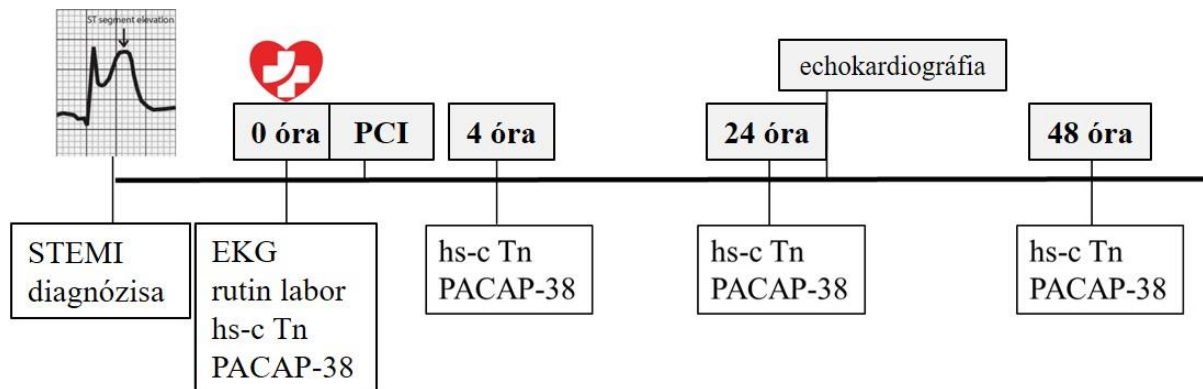
1. ábra: A zárt mellkasú reperfúziós akut myocardialis infarctus sertés modell kísérleti felosztása. Sham: Sham-operált állatok, MI-3 óra: myocardialis infarctus csoport 3 óras reperfúzióval, MI-72 óra: myocardialis infarctus csoport 72 óras reperfúzióval, IPreC: ischaemiás prekondicionált csoport, IPostC: ischaemiás postkondicionált csoport, RIC (remote ischemic conditioning): ismételt ischaemiás kondicionált csoport.

A szövetmintákat az eltávolítást követően folyékony nitrogénben azonnal lefagyasztottuk, porítottuk, majd ultrahangos feltáró (szonikátor) segítségével jégen homogenizáltuk.

III. MÓDSZEREK

3.1.2. Myocardialis infarctus klinikai vizsgálatának menete

Klinikai vizsgálatunkba 16 ST-elevációval járó myocardialis infarctus (STEMI) miatt hospitalizált beteget és 12 kontroll személyt vontunk be. A betegek a panaszok kezdetét követően átlagosan 4-6 órával kerültek klinikánkra STEMI diagnózisával. A vizsgálatok részletes protokollját a 2. ábra szemlélteti.



2. ábra: Myocardiális infarctus klinikai vizsgálatának protokollja. STEMI: ST-elevációval járó myocardialis infarctus, EKG: electrocardiographia, labor: laborvizsgálat, hs-cTn: magas szenzitivitású kardiális troponin.

3.1.3. PACAP-38-szerű immunoreaktivitás (PACAP-38-LI) mérése

A szövet- és plazmamintákban a PACAP-38-LI meghatározása szendvics ELISA módszerrel történt (MyBiosource, Cat.No: MBS109020) a cég által leírt protokoll szerint. A vizsgált plazmaminták PACAP-38 szintjét pg/mL mértékegységben adtuk meg.

3.2. Szívelégtelen betegek vizsgálata

3.2.1. Különböző stádiumú dilatatív cardiomyopathia (DCM) miatt kezelt betegek plazma PACAP-38 szintjének összehasonlító vizsgálata

Előzetes vizsgálatunkba 41 DCM miatt klinikánk ambulanciáján gondozott, 40% alatti ejekciós frakcióval bíró, krónikus szívelégtelen beteget válogattunk be. Etiológia alapján primer (n= 9) és ischaemiás (n= 33) DCM csoportra osztottuk őket. Rutin laborparaméterek, NT-proBNP szintek, valamint PACAP-38-LI meghatározása céljából történt vérvétel. Ezen vizsgálatban a PACAP-38-LI meghatározás radioimmunoassay (RIA) módszerrel történt. A PACAP-38 specifikus poliklonális antitestet Arimura és munkatársai állították elő nyulakban, karbodimiddel marha tireoglobulinhoz konjugált szintetikus peptid immunizálással („88111-3”-as számú antiszérum, munkahígítás: 1:10.000). A mérésekhez standardként a PTE Farmakológiai és Farmakoterápiái Intézet által előállított ¹²⁵I izotóppal jelölt birka PACAP-38 antigént használtunk, 0-1000 fmol/ml tartományban.

III. MÓDSZEREK

3.2.2. Akut, dekompenzált és krónikus, kompenzált szívelégtelen betegek, valamint nem-szívelégtelen kontroll csoport PACAP-38 szintjének összehasonlító vizsgálata

Kibővített csökkent ejekciós frakcióval járó szívelégtelenség (HFrEF) vizsgálatunkba 13 akut dekompenzált valamint 33 krónikus, kompenzált szívelégtelen beteg és 13 nemben és korban illesztett kontroll páciens került bevonásra. Az előző vizsgálathoz hasonlóan a rutin laborparaméterek, NT-proBNP szintek és a PACAP-38-LI meghatározása mellett citokin-vizsgálatok céljából is vettünk vért. PACAP-38-LI mérés az AMI betegcsoportnak megfelelően ELISA módszerrel történt. Hét különböző pro- és antiinflammatorikus citokin (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α) koncentrációját magas szenzitivitású Invitrogen™ ProcartaPlex™ Human 7-plex panel Luminex kittel (Thermo Fisher Scientific, Bécs, Ausztria) határoztuk meg. A citokoin koncentrációk meghatározása magas szenzitivitású Invitrogen™ ProcartaPlex™ Human 7-plex panel (Thermo Fisher Scientific, Bécs, Ausztria) Luminex kittel történt a cég által részletesen leírt protokollnak megfelelően.

3.2.3. Emberi szívizomminta vizsgálata

Az emberi szívizomminták gyűjtése a varsói Cardinal Stefan Wyszyński Institute of Cardiology, Department of Heart Failure and Transplantology osztályon történt a transzplantáció során eltávolításra került szívek ischaemiás (n= 12) vagy nem-ischaemiás (n= 11) cardiomyopathia (ICM vagy NICM) talaján kialakult végstádiumú szívelégtelen betegekből. Kontroll csoportként olyan szervdonorokból gyűjtöttek egészséges szívizommintákat (n= 12), akiknél a szíveket technikai okokból (pl. donor/recipiens inkompatibilitás) nem tudták felhasználni. A mintavétel az explantáció időpontjában történt a bal kamra szabad falából, kerülve a heges, fibrotikus területeket. A szövetmintákat nitrogénben azonnal lefagyasztották, majd porították. Homogenizálást követően a szöveti PACAP-38-LI mérése az AMI modell sertéseiből származó szívizommintákhoz hasonlóan ELISA módszerrel történt. A PAC1 receptorok mennyiségének vizsgálatára Western blot analízist végeztünk, a korábban leírtaknak megfelelően (Baranyai *et al.* 2015).

3.3. Statisztikai elemzések

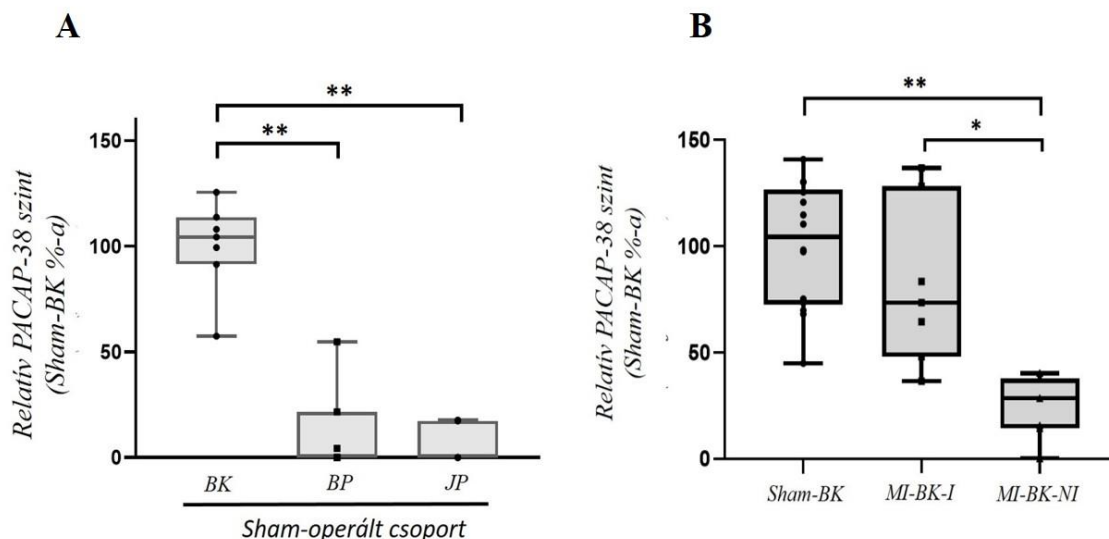
Statisztikai analíziseket az SPSS 22 programmal végeztük. Minden esetben először Kolmogorov-Smirnov és Shapiro-Wilk normalitás teszttel vizsgáltuk az adatok normál eloszlását. A csoportok közötti különbségek vizsgálatára vagy egyutas ANOVA tesztet végeztünk esetszámtól függően Tukey vagy Bonferroni post-hoc teszttel kiegészítve, vagy Friedman, majd Wilcoxon post-hoc tesztet illetve Mann-Whitney tesztet alkalmaztunk. A különböző paraméterek közötti interakciókat Spearman rang-korreláció segítségével vizsgáltuk. Minden esetben a $p < 0,05$ értéket tekintettük szignifikánsnak.

IV. EREDMÉNYEK

4.1. Akut myocardialis infarctus vizsgálata

4.1.1. Szöveti PACAP-38 szintek vizsgálata akut myocardialis infarctus sertés modelljében

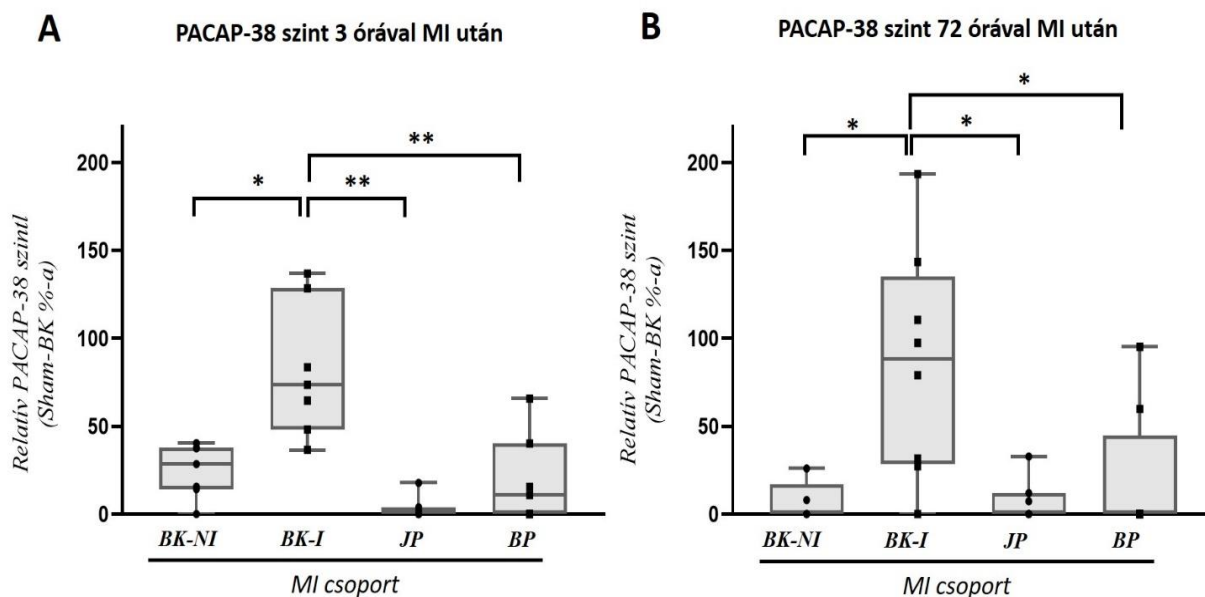
A szöveti PACAP-38 szintek vizsgálata során elsőként Sham-operált sertés szívekből bal kamrai (BK), jobb és bal pitvari (JP, BP) mintákat vettünk. Szignifikánsan magasabb PACAP-38 szinteket mértünk a bal kamrában mindkét pitvarhoz képest (3.A ábra). Ezt követően különböző BK mintákat vizsgáltuk: az MI csoport esetében az egyik minta a BK ischaemiás régiójából (MI-BK-I), a másik minta a BK nem-ischaemiás régiójából (MI-BK-NI) származott. A Sham-operált csoportban nem találtunk szignifikáns különbséget a két BK régióból vett minta között, így a továbbiakban ezen mintákat egy csoportként kezeltük, mint Sham-BK csoport. Ugyan az ischaemiás BK (MI-BK-I) és a Sham-BK minták relatív PACAP-38 szintje között nem találtunk szignifikáns különbséget, azonban a nem-ischaemiás BK (MI-BK-NI) minták PACAP-38 szintje szignifikánsan alacsonyabb volt az ischaemiás régióhoz (MI-BK-I) és a kontroll állatok BK (Sham-BK) mintájához képest (3.B ábra).



3. ábra: PACAP-38 szintek a különböző szívizommintákban. Egészséges, Sham-operált állatokban a bal kamrai (BK), bal (BP) és jobb pitvari minták (JP) PACAP-38 szintjének összehasonlítása (A). Sham-operált állatok bal kamrai (Sham-BK) valamint a myocardialis infarctuson átesett állatok bal kamrai ischaemiás régiójából (MI-BK-I) és nem-ischaemiás régiójából (MI-BK-NI) származó szövetminták PACAP-38 szintjének összehasonlítása. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ vs. Sham-operált csoport BK. $n=7-8$.

IV. EREDMÉNYEK

A myocardialis infarctuson átesett (MI) sertés csoportban a 90 perces ischaemiát követően 3 és 72 óras reperfúziót alkalmazó modellben is összehasonlítottuk a bal kamrai ischaemiás (BK-I) és nem-ischaemiás (BK-NI), valamint a bal (BP) és jobb pitvari (JP) minták PACAP-38 szintjeit. Mindkét modellben szignifikánsan alacsonyabb PACAP-38 szintet mértünk a nem ischaemiás BK-NI régióban az ischaemiához képest. Továbbá, a pitvarokban (BP, JP) mért szöveti PACAP-38 szintek szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak az ischaemiás BK mintákhoz (BK-I) képest (4. ábra).



4. ábra: Szöveti PACAP-38 szintek összehasonlítása a különböző szívüregekben és kamrai falrészletekben 3 órával (A) és 72 órával (B) a myocardialis infarctus (MI) után. BK-NI: bal kamrai nem-ischaemiás régió, BK-I: bal kamrai ischaemiás régió, JP: jobb pitvar, BP: bal pitvar. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ vs. BK-I csoport, $n=7-8$.

A különböző ischaemiás kondicionálási technikák (pre-, post- vagy ismételt ischaemiás kondicionálás) esetleges hatását vizsgálva a PACAP-38 szintekre nem találtunk szignifikáns különbséget a három technika között.

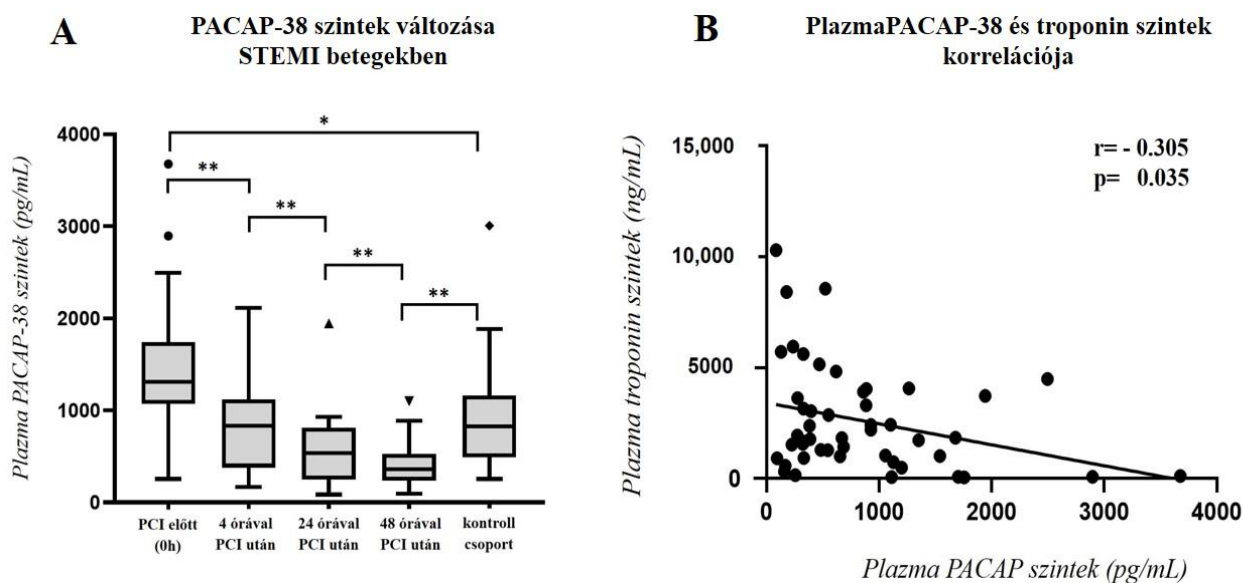
4.1.2. Plazma PACAP-38 szintek vizsgálata STEMI betegekben

Tizenhat STEMI diagnózissal klinikánkra felvett beteget (6 nő, 10 férfi, átlag életkor: $60,3 \pm 2,96$ év) és 12 kontrollt (7 nő, 5 férfi, átlag életkor: $48,2 \pm 5,34$ év) vontunk be a vizsgálatunkba. A kontroll csoportba olyan klinikánkon vizsgált betegeket válogattunk be, akik ugyan típusos vagy atípusos mellkasi panasszal érkeztek, azonban az elvégzett coronarographiás vizsgálat ép coronariákat igazolt szűkület/plakk nélkül.

A STEMI-n átesett betegek plazma PACAP-38 szintjének vizsgálatakor szignifikánsan magasabb értékeket mértünk az ischaemiás periódusban a PCI előtt, majd ezt követően szignifikáns csökkenést figyeltünk meg. A kontroll csoport plazma PACAP-38 szintjéhez viszonyítva szignifikánsan magasabb értékeket mértünk a STEMI-n átesett betegek 0 órás plazma mintáiban, ugyanakkor a 48 órás értékek szignifikánsan alacsonyabbnak bizonyultak a

IV. EREDMÉNYEK

kontrollokénál (5.A. ábra). A STEMI csoportban szignifikáns negatív korrelációt detektáltunk a plazma PACAP-38 koncentrációja és a troponin szintek között (5.B. ábra).



5. ábra: A) Plazma PACAP-38 szintek változása STEMI-n átesett betegekben ($n=16$) és kontroll csoportban ($n=12$). B) A plazma PACAP-38 és troponin szintek közötti korreláció STEMI-n átesett betegekben. $**p < 0,001$, $*p < 0,05$.

A STEMI fő rizikófaktorai (hypertonia, diabetes mellitus, hemoglobin A1c (HbA1c) szint és dohányzás) és a kiindulási PACAP-38 szintek közötti potenciális összefüggések vizsgálata során szignifikáns pozitív korrelációt ($r = 0,533$, $p = 0,034$) detektáltunk a hypertonia és PACAP-38 szintek között, azonban a többi vizsgált rizikófaktorral nem találtunk összefüggést. A multivariancia analízis során jelentős additív hatás igazolódott a hypertonia, a HbA1c szint és a mért plazma PACAP-38 érték tekintetében. Ezzel szemben a különböző echocardiographiás és rutin laborparaméterekkel és a korábbi antiischaemiás gyógyszeres kezeléssel nem találtunk szignifikáns összefüggést.

4.2. Szívelégtelenség, az ischaemiás cardiomyopathia (ICM) és a nem-ischaemiás cardiomyopathia (NICM) vizsgálata

4.2.1. Különböző stádiumú szívelégtelen betegek plazma PACAP-38 szintjének összehasonlító vizsgálata

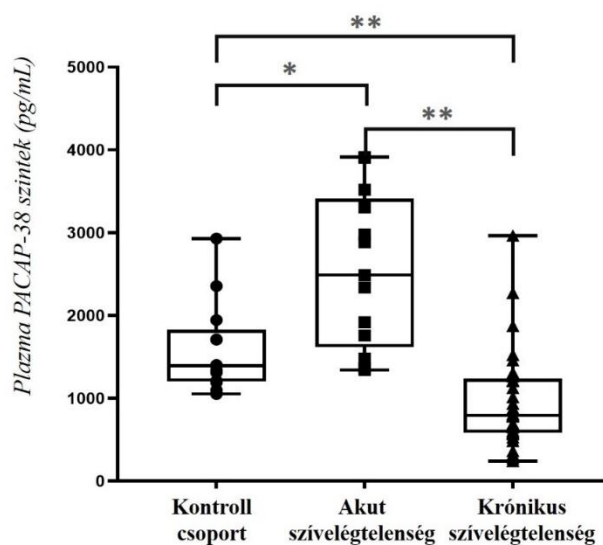
Kezdeti vizsgálatunkba 42 DCM miatt gondozott beteget (átlagéletkor: $64,4 \pm 5,7$ év, 83,3% férfi, 16,7% nő) vontunk be. Etiológia alapján két alcsoportra bontottuk a betegeinket: az ischaemiás DCM ($n=9$) és a primer DCM csoportra ($n=33$). PACAP-38 és NT-proBNP szintek közötti összefüggések vizsgálatakor a primer DCM betegcsoportban nem találtunk szignifikáns korrelációt a vizsgált paraméterek között. Ezzel szemben az ischaemiás DCM csoportban szignifikáns negatív korrelációt detektáltunk a két vizsgált marker között a különböző súlyossági csoportokban. Enyhe szívelégtelenség esetén (NT-proBNP <500 pg/ml)

IV. EREDMÉNYEK

szignifikáns erős negatív korreláció, közepes súlyosságú szívelégtelenség esetén (NT-proBNP= 500-3000 pg/ml) közepesen erős negatív korreláció ($r = - 0,573$, $p = 0,021$), míg súlyos szívelégtelenségben (NT-proBNP >3000 pg/ml) gyenge negatív korreláció ($r = - 0,271$, $p = 0,042$) igazolódott a PACAP-38 és NT-proBNP szintek között. Az ejekciós frakcióval történő vizsgálatok során EF és NT-proBNP szintek között szignifikáns negatív korrelációt ($r = - 0,395$, $p = 0,021$) detektáltunk, míg az EF és PACAP szintek között nem igazolódott összefüggés.

4.2.2. Akut, dekompenzált és krónikus, kompenzált szívelégtelen betegek, valamint nem-szívelégtelen kontroll csoport PACAP-38 szintjének összehasonlító vizsgálata

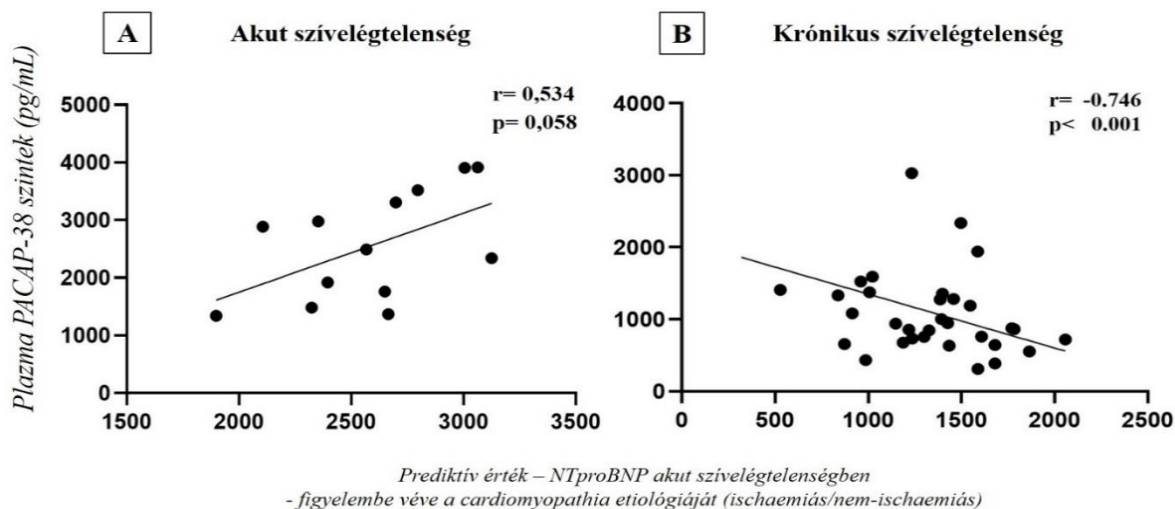
Tizenhárom akut szívelégtelenség miatt hospitalizált (átlagéletkor: $66,5 \pm 3,7$ év), 33 krónikus szívelégtelenség miatt gondozott (átlagéletkor: $65,9 \pm 3,8$ év) beteget és 13 nemből és korban illesztett kontrollt (átlagéletkor: $65,8 \pm 4,0$ év) vontunk be vizsgálatunkba. A különböző csoportok vizsgálatakor akut szívelégtelenség esetén szignifikánsan magasabb plazma PACAP-38 szinteket detektáltunk a krónikus szívelégtelen betegcsoporthoz és a kontroll csoporthoz képest. Továbbá a krónikus szívelégtelen betegcsoportban szignifikánsan alacsonyabb plazma PACAP-38 értékeket detektáltunk az akut betegcsoporthoz és a szívelégtelenség szempontjából egészséges kontroll csoporthoz képest is (6. ábra).



6. ábra: Plazma PACAP-38 szintek akut, dekompenzált ($n=13$) és krónikus, kompenzált szívelégtelen ($n=33$) betegekben és a kontroll csoportban ($n=13$). * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$.

Akut szívelégtelen betegcsoportnál nem találtunk szignifikáns korrelációt a plazma PACAP és NT-proBNP szintek között, míg krónikus betegeinknél egy enyhe negatív korrelációt detektáltunk ($r = - 0,271$, $p = 0,042$). Multivariancia analízis elvégzésével azonban figyelembe véve a DCM etiológiáját (primer vagy ischaemiás) az akut szívelégtelenség miatt hospitalizált betegeknél pozitív összefüggés volt megfigyelhető a PACAP-38 és NT-proBNP szintek között (7/A ábra), bár szignifikáns korrelációról ebben az esetben sem beszélhetünk. Ezzel szemben a krónikus szívelégtelen betegcsoportban multivariancia analízissel szignifikáns jelentős negatív korreláció igazolódott (7/B ábra).

IV. EREDMÉNYEK



7. ábra: Összefüggés NT-proBNP és plazma PACAP-38 szintek között akut (A) és krónikus szívelgtelenségben (B). Multivariancia analízis, mely figyelembe veszi a szívelgtelenség etiológiáját (ischaemiás vagy nem-ischaemiás cardiomyopathia ICM – NICM).

A plazma PACAP-38 szintek és az esetleges befolyásoló tényezők – társbetegségek, különböző gyógyszeres és eszközös terápiás lehetőségek, echocardiographiás paraméterek és rutin laborparaméterek – között nem igazolódott szignifikáns individuális vagy additív hatás. Ezzel szemben a C-reaktív protein (CRP) és PACAP-38 szintek között az összes beteg vonatkozásában gyenge pozitív korrelációt, míg multivariancia vizsgálattal – figyelembe véve a szívelgtelenség típusát (akut vagy krónikus DCM) – jelentős pozitív korrelációt ($r = 0,742$, $p < 0,001$) detektáltunk.

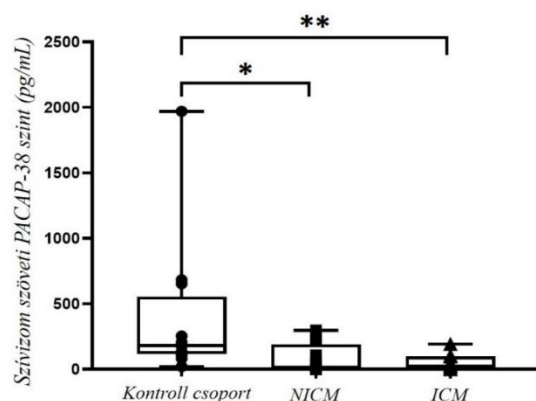
Az eddigi beteganyagból 31 szívelgtelen (12 akut, 19 krónikus) beteg és 9 fő kontroll esetében plazma citokin-szint méréseket (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α) is végeztünk. A krónikus szívelgtelen csoportban szignifikánsan ($p < 0,05$) alacsonyabb citokin szinteket detektáltunk mind az akut szívelgtelen, mind pedig a kontroll csoporthoz képest az IL-1 β , IL-2 és IL-4 mérések során. IL-10 citokin esetében az akut szívelgtelen betegeknél mértünk szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb értékeket a kontroll csoporthoz képest. Ezzel szemben IL-6, TNF- α és IFN- γ szintek között nem találtunk szignifikáns különbséget a különböző alcsoportokban. A plazma citokin és PACAP-38 szintek között végzett korrelációs vizsgálatok során szignifikáns pozitív korreláció igazolódott az IL-1 β ($r = 0,539$, $p = 0,002$), IL-2 ($r = 0,495$, $p = 0,005$), IL-4 ($r = 0,481$, $p = 0,006$) és IL-10 ($r = 0,367$, $p = 0,042$) citokinekkal. Multivariancia analízis, mely figyelembe vette a szívelgtelenség típusát (akut/krónikus) ezen korrelációs együtthatók még szorosabb pozitív összefüggést igazolt.

4.2.3. Emberi szívizom szöveti vizsgálata

Összesen 23 olyan súlyos, végstádiumú szívelgtelenség [11 NICM (47,8 %) és 12 ICM (52,2 %)] miatt transzplantációra kerülő beteg szívizomzatát vizsgáltuk, akik szívtranszplantáción estek át. Kontroll csoportként 12 egészséges, balesetben elhunyt személyt vontunk be a vizsgálatba. Szignifikánsan magasabb szöveti PACAP-38 szinteket mértünk az egészséges kontroll csoport szívizomzatában mind a NICM, mind pedig az ICM

IV. EREDMÉNYEK

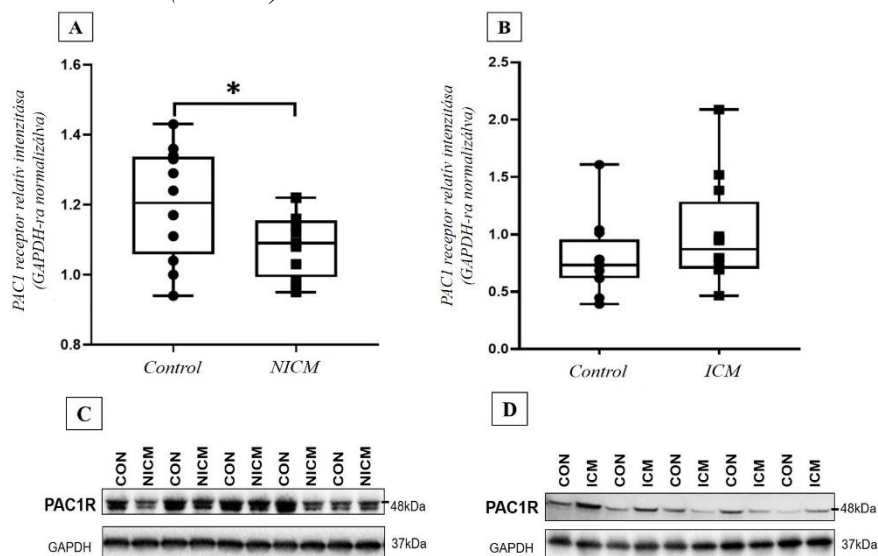
betegcsoporthoz képest. A különböző etiológiájú cardiomyopathiás betegcsoportok között (NICM és ICM) nem találtunk szignifikáns különbséget (8. ábra).



8. ábra: Szöveti PACAP-38 szintek nem-*ischaemiás cardiomyopathia* (NICM, $n=11$), *ischaemiás cardiomyopathia* (ICM, $n=12$) és egészséges kontroll egyének ($n=12$) szívműzathából. * $p < 0,050$, ** $p < 0,001$ vs. kontroll csoport.

Az elvégzett korrelációs vizsgálatok nem igazoltak szignifikáns összefüggést a mért PACAP-38 koncentrációk és NT-proBNP szintek, a különböző echocardiographiás paraméterek, továbbá a vizsgált rutin laborparaméterek között.

A szöveti PACAP-38 szintek mellett PAC1 receptorok relatív intenzitásának vizsgálatát is elvégeztük. Az NICM betegcsoportban szignifikánsan alacsonyabb PAC1 receptor intenzitást detektáltunk az egészséges kontrollokhoz képest. Ezzel szemben az ICM betegcsoportban nem találtunk szignifikáns különbséget a PAC1 receptor intenzitásában a kontroll csoporttal összevetve (9. ábra).



9. ábra: PAC1 receptor relatív intenzitás nem-*ischaemiás cardiomyopathia* (A) (NICM, $n=11$) és *ischaemiás cardiomyopathia* (B) (ICM, $n=12$) miatt kezelt betegek vs. kontroll csoport ($n=12$). (C) és (D) ábrák a szkennelt, reprezentatív Western blot képeket mutatják. A relatív PAC1 receptor szintek a GAPDH-ra normalizált PAC1 intenzitás értékeknek felelnek meg.

V. DISZKUSSZIÓ

A PACAP kardioprotektív szerepét az elmúlt évtizedekben elvégzett számos in vitro és állatkísérletes vizsgálat bizonyította, azonban ezidáig nagyon kevés klinikai adat áll rendelkezésünkre a PACAP humán kardioprotektív szerepét illetően. Vizsgálatainkban éppen ezért olyan kardiológiai kórképekre fókuszáltunk, melyek etiológiájában és progressziójában az eddigi kísérletes eredményeket figyelembe véve a PACAP-nak fontos szerepe lehet.

Kutatásunk az első transzlációs tanulmány, melyben akut myocardialis infarctus és reperfüziós sertés modell. valamint STEMI betegek vizsgálata során tanulmányoztuk mind a szöveti mind a plazma PACAP-38 szinteket és ezek összefüggéseit a myocardialis infarctus lefolyását befolyásoló egyéb paraméterekkel. A korábbi irodalmi adatokkal ellentétben, mely a PAC1 receptor mRNS expressziója tekintetében nem mutatott különbséget egér szív különböző szívüregeiben, vizsgálatunk során a kontroll állatokban magasabb bal kamrai PACAP-38 értékek mértünk a pitvarból származó mintákhoz képest. Ezen eredmény felveti a PACAP bal kamrai specifikus akkumulációjának és/vagy lokális expressziójának lehetőségét. A Sham-operált (Sham-BK) és infarctuson átesett MI sertés szívek nem-ischaemiás (MI-NI-BK) és ischaemiás BK-i régiók (MI-I-BK) között detektált szöveti PACAP különbségek alapján azt feltételezzük, hogy a két különböző bal kamrai régió (MI-BK-NI és MI-BK-I) funkcionálisan nem független egymástól. A myocardialis infarctus által okozott extenzív szisztémás hatások (emelkedett bal kamrai töltőnyomás, emelkedett catecholamin kiáramlás, a nem-ischaemiás régiók kompenzáló hyperkinesise, gyulladós folyamatok aktiválódása) ugyanis az egész bal kamrát érintik. Továbbá feltételezzük, hogy AMI során az idegkárosodás által okozott PACAP szint csökkenést a sejtekből (myocytákból, makrofágokból), és az extracelluláris mátrixból származó PACAP immunoreaktivitás képes kompenzálni. Alston kimutatta, hogy a myocardialis infarctuson átesett bal kamra ischaemiás régiójában csökkent a szimpatikus beidegzés denzitása a peri-infarctusos, nem-ischaemiás régiókhoz és a kontroll szívszövethez képest. Szemben az idegrostokban leírt változásokkal emelkedett PACAP immunoreaktivitást igazoltak az egerek bal kamrájának infarctusos régiójában az extracelluláris mátrixban, myocytákban és a macrophagokban is. Figyelembe véve a PACAP immunomodulátor funkcióját az sem kizárható, hogy ezen folyamatokon keresztül az ischaemiás/reperfüziós (I/R) károsodás képes triggerelni egy lokális PACAP expressziót vagy az endogén PACAP re-distribúcióját. Állatkísérletünkben homogenizált szív mintákat vizsgálatunk, melyek feltehetőleg az összes PACAP-38 forrást tartalmazták (macrophagok, myocyták és idegelemek), így valószínű, hogy a fent említett kompenzáló mechanizmusok miatt nem találtunk szignifikáns különbséget az infarctusos bal kamra ischaemiás régiója és a Sham-operált állatok bal kamrai mintái között.

Akut STEMI miatt hospitalizált betegek vizsgálata során a revascularisatio előtt mért magasabb kezdeti plazma PACAP-38 szintek a PACAP legfőbb forrásaiból az idegrostokból, cardiomyocytákból és macrophagokból származhatnak, továbbá az is lehetséges, hogy az akut myocardialis infarctust az atherosclerotikus coronariák talaján számos korábbi ischaemiás epizód előzte meg, így a prekondicionálás részeként növelhette a plazma PACAP-38 szintet. A magas kezdeti PACAP szint feltételezhetően egy kardioprotektív válasz részjelensége, hiszen ismert a PACAP védő hatása a különböző ischaemiás károsodásokkal szemben. Munkacsoportunk korábbi kísérletében neonatalis patkány cardiomyocytá sejt kultúrán

V. DISZKUSSZIÓ

vizsgálta a PACAP kezelés hatásait I/R által indukált apoptózisban. Az infarctuson átesett betegek kezdeti, kontrollokhöz képest szignifikánsan magasabb PACAP-38 szintje felveti annak lehetőségét, hogy a PACAP-38 fontos szerepet tölthet be az ischaemiás myocardialis léziók patomechanizmusában és a lokális cardioprotekcióban. A 48 órával PCI-t követően detektált jelentősen, a kontroll csoport értékéhez képest is markánsan csökkent plazma PACAP-38 koncentráció a vizsgált neuropeptid basalis szintjét reprezentálhatja, hangsúlyozva az alacsony plazma PACAP-38 szint prediktív értékét akut myocardialis infarctusban. A PACAP-38 és troponin értékek között igazolt szignifikáns összefüggés is alátámasztja elméletünket. Továbbá a hypertoniával igazolt jelentős pozitív korreláció szintén felhívja a figyelmünket a PACAP-38 STEMI-ben betöltött biológiai szerepére. Multivariancia analízissel szignifikáns jelentős pozitív korrelációt igazoltunk a hypertoniás és hemoglobin A1c (HbA1c) értékek additív hatása és a PACAP-38 szintek között. Ezek alapján felmerül, hogy a hypertoniás és a kezeletlen diabetes mellitus együttesen – magas rizikót képviselve STEMI kialakulására és kiterjedésének mértékére – szoros kapcsolatban állnak a magas PACAP szintekkel. A rutin laborparaméterekkel és a korábban alkalmazott antiischaemiás gyógyszeres kezeléssel nem mutatott a PACAP összefüggést, így elmondható, hogy ezen faktorok nem befolyásolják a neuropeptid plazma szintjét.

Az ischaemiás etiológiájú szívbetegségek mellett a PACAP, mint antiapoptotikus, antioxidáns, gyulladáscsökkentő, immunmodulátor neuropeptid feltehetőleg a HFrEF patomechanizmusára, prognózisára is hatással lehet. Ezen kérdés tisztázására különböző etiológiájú (ischaemiás és nem-ischaemiás) cardiomyopathia miatt gondozott betegeket vizsgáltunk, szignifikáns különbségeket kimutatva a plazma PACAP-38 szintek között, továbbá szignifikáns negatív korreláció igazolva a különböző PACAP-38 és NT-proBNP értékek között. Eredményeink alapján elmondható, hogy a plazma PACAP-38 szintek érzékenyen jelzik a krónikus, kompenzált szívelégtelenség akut dekompenzációja során bekövetkező hemodinamikai és pathophysiologiai változásokat. Az akut szívelégtelenségben mért magasabb PACAP-38 szint része lehet az akut stressz-reakciónak, mely a hirtelen romló bal kamrai ejekciós frakció következtében alakul ki. Feltételezésünk szerint ez a reaktív jelenség egy szisztémás protektív válasz része lehet, melynek célja a cardiomyocita károsodás csökkentése. Ugyanis korábbi tanulmányok HFrEF miatt hospitalizált betegnél súlyos cardiomyocita károsodást igazoltak, melynek mértéke szoros korrelációt mutatott a szívelégtelenség progressziójával. Ezen myocita károsodás hátterében az oxidatív stressz, apoptózis és nekroptózis állhatnak. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy a PACAP effektív védőhatással bír cardiomyocita sejt kultúrában az oxidatív stressz indukált apoptózissal szemben. PACAP kezelés hatására szignifikánsan csökkent caspase-3 aktivitás és szignifikánsan magasabb antiapoptotikus Bcl-2 és phospho-Bad expresszió igazolódott. Továbbá a PACAP kezelés képes gátolni az oxidatív stressz indukálta proapoptotikus hatásokat endothel sejtekben.

Ezzel szemben a krónikus, kompenzált szívelégtelen betegcsoportban mért alacsonyabb plazma PACAP szintek arra utalhatnak, hogy az alacsony plazma PACAP szint gyengítheti a kardioprotektív mechanizmusokat, ezáltal a szívelégtelenség prognózisa szempontjából negatív prediktív marker lehet. Mori és munkatársai doxorubicin indukálta cardiomyopathia egérmodelljében a PACAP-38 deficiens egereknél alacsonyabb systolés bal kamra funkciót, tágabb bal kamra átmérőket, ezáltal sokkal rosszabb prognózist, magasabb mortalitást igazoltak

a vad típushoz képest. Eredményeik alapján az endogén PACAP fontos szerepet tölthet be a cardiomyocytá védelemben, hiánya pedig rosszabb prognózisú szívelégtelenséghez vezethet.

A krónikus szívelégtelen betegeknek detektált PACAP-38 és az NT-proBNP szintek közötti negatív korreláció alátámasztja azon feltételezésünket, mely szerint krónikus szívelégtelenségben mért alacsonyabb PACAP szint a rosszabb prognózis markere lehet a magas NT-proBNP szinthez hasonlóan. Akut, dekompenzált szívelégtelenségben mért pozitív tendencia háttérben a volumen- és nyomásterhelés következtében kialakult fokozott pitvari falfeszülés miatti jelentősen emelkedett plazma NT-proBNP szintek állnak, mely mellett mi szintén magasabb plazma PACAP értékeket mértünk. Azonban az NT-proBNP prognosztikai értéke alacsonyabb a terápiánív akut, dekompenzált periódusban a kompenzált, stabil szívelégtelenséghez képest. Egyre több klinikai tanulmány veti fel annak a lehetőségét, hogy a PACAP különböző kórképek diagnosztikai vagy akár prognosztikai markere lehet, bár az a kérdés, hogy az aktuálisan mért plazma PACAP szintek a betegség lefolyása következtében alakulnak ki, vagy épp hozzájárulnak a betegség lefolyásához egyelőre még tisztázatlan. A PACAP és CRP között igazolt pozitív korreláció tovább erősíti a PACAP fontosságát szívelégtelenségben. A keringő PACAP-38 szintjének meghatározása önmagában azonban nem biztos, hogy megfelelően szenzitív a szívelégtelenség progressziójának vagy a terápiára adott válasz megítélésére, így a jövőben egyéb kardiális biomarkerekkel (pl. NT-proBNP, CRP) együttes mérése és értékelése lenne szükséges.

Citokinvizsgálatok során igazolt szignifikánsan alacsonyabb IL-1 β , IL-2 és IL-4 értékek háttérben a szívelégtelenség bázis terápiájának (ACE-gátló, β -blokkoló, MRA) valamint CRT-terápia citokin szintet csökkentő hatása állhat. Ugyanis az általunk vizsgált betegek több, mint 80%-a az optimális maximális tolerálható dózisú terápiban részesült. Ismert tény, hogy a súlyosabb, NYHA klasszifikáció szerint III-IV. stádiumú szívelégtelen betegek esetén magasabb citokin szintek mérhetőek. Az általunk vizsgált krónikus szívelégtelen betegek mind kompenzált kardiális státusszal bírtak, NYHA I-II stádiumba tartoztak, mely szintén magyarázhatja az általunk mért alacsonyabb citokin szinteket. Az antiinflammatorikus IL-10 esetében szignifikánsan magasabb citokin szinteket mértünk akut szívelégtelen betegeknek a kontroll csoporthoz képest, továbbá az IL-10 és plazma PACAP-38 szintek között szignifikáns pozitív korreláció igazolódott, mely tovább hangsúlyozza a PACAP fontosságát szívelégtelenségben. Ugyan az IL-6, IFN- γ és TNF- α szintek vonatkozásában nem találtunk szignifikáns eltérést, azonban a kapott eredményt számos tényező (különböző etiológia, stádium, bázis terápia) befolyásolhatta, melyet az irodalomban ezek citokinekkal kapcsolatban fellelhető ellentmondásos eredmények is alátámasztanak.

Korábbi vizsgálatunk során szívizommintáiban magasabb szöveti PACAP-38 szinteket mértünk az ischaemiás etiológiájú betegeknek a billentyű-betegekhez képest. Jelen vizsgálatunkban mind ICM és NICM miatt kezelt, végstádiumú szívelégtelen betegek esetén mért jelentősen alacsonyabb szöveti PACAP-38 szintek háttérben az állhat, hogy az intracelluláris PACAP-38 felhalmozódás leginkább az élő, érintetlen sejtekhez kapcsolható, mely sejtek száma a végstádiumú szívelégtelenségben jelentősen lecsökkent. Úgy gondoljuk, hogy a károsodott cardiomyocyták vagy a „kimerülő” kompenzáló

V. DISZKUSSZIÓ – VI. KONKLÚZIÓ

mechanizmusok következménye az alacsonyabb szöveti PACAP-38 szint ezekben a betegcsoportokban. Mindezt alátámasztják azon irodalmi adatok, melyek a fentiekhez hasonlóan végstádiumú szívelégtelenségben a „kimerülő” neurohormonalis rendszer következtében extrém alacsony nátriuretikus peptid szinteket detektáltak. A szöveti PACAP szinteket esetlegesen befolyásoló tényezők kiszűrésére különböző korrelációs vizsgálatokat végeztünk, melynek során nem igazoltunk szignifikáns összefüggést a PACAP és az általunk vizsgált klinikai, rutin laboratóriumi és myocardium funkcióját jellemző paraméterek között. Tehát az eddigi humán vizsgálataink eredményeivel összhangban elmondhatjuk, hogy ezen tényezők nem befolyásolják az általunk mért PACAP szinteket.

Korábban már immunhisztokémiai módszerekkel sikeresen kimutattuk a PAC1 receptor jelenlétét szívűtéten átesett betegek szívizommintájában. Jelen tanulmányunkban ICM és NICM miatt gondozott, végstádiumú, szívtranszplantációra szoruló betegek szívizommintáit vizsgáltuk. Az ICM betegcsoporttal szemben a NICM betegeknél alacsonyabb PAC1 receptor intenzitást detektáltunk az egészséges kontroll csoporthoz képest, melynek hátterében az eltérő etiológia és patofiziológia állhat. NICM esetén a szívelégtelenség patomechanizmusában az apoptózis, myocardialis fibrosis és a következményes kardiális remodelling áll. Azt feltételezzük, hogy ezen betegeknél a fokozott cardiomyocita apoptózis és a komplex gyógyszeres kezelés együttesen vezetnek az alacsonyabb PAC1 receptor intenzitáshoz. Ezzel szemben ICM-ben a fent említett mechanizmusok mellett az ismétlődő ischaemiás epizódok és a prekondicionálás jelentős szerepet tölt be a szívelégtelenség patomechanizmusában. Az ischaemiás prekondicionálás olyan előnyös, az ischaemiával szemben protektív folyamat aktivációját indíthatja el, mely számos bioaktív faktor termelésén keresztül (pl. adenozin, bradykinin, opiátok) akár a PAC1 receptor expresszióra is hatással lehet. A PAC1 receptorok myocardiumban igazolt jelenléte ugyanakkor a PACAP esetleges endogén/exogén terápiás alkalmazásának lehetőségét is felveti, kihasználva az általa kifejtett antiapoptotikus, antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásokat.

VI. KONKLÚZIÓ

A PACAP egy multifunkcionális neuropeptid, mely számos kedvező (antiapoptotikus, antioxidáns, gyulladáscsökkentő) hatásán keresztül fontos szerepet tölthet be a kardioprotekcióban. Transzlációs tanulmányunk során elsőként igazoltunk szignifikáns szöveti és plazma PACAP-38 szint változásokat akut myocardialis infarctusban. Szignifikáns eltéréseket mutattunk ki különböző stádiumú és etiológiájú szívelégtelen betegek plazma és szöveti PACAP-38 szintjeiben, valamint PAC1 receptor expressziójában az egészséges kontroll csoporthoz képest. Továbbá mindkét betegcsoportban jelentős korreláció igazolódott a PACAP-38 és a mindennapi gyakorlatban elterjedt biomarkerek (hs-cTn, NT-proBNO, CRP) között. Bár mindezen eredmények hangsúlyozzák a PACAP-38 szerepét a különböző cardiovascularis kórképekben, azonban további utánkövetéses, akár multicentrikus vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, hogy a PACAP-38 egy potenciális, új kardiális prognosztikai biomarkerré válhat-e a jövőben vagy új terápiás alternatívaként alkalmazható lesz-e az alacsony PACAP szinttel társuló kardiális kórképek kezelésében?

VII. ÚJ EREDMÉNYEK

7.1. Akut myocardialis infarctus vizsgálata során elért új eredményeink:

7.1.1. Szöveti PACAP-38 szintek vizsgálata akut myocardialis infarctus sertés modelljében

- Alacsonyabb szöveti PACAP-38 szinteket találtunk a nem-ischaemiás bal kamra területén az ischaemiás régióhoz és a Sham-operált állatok bal kamrájához képest.
- Az infarctuson átesett állatok különböző szívüregeinek és bal kamrai falrészleteinek összehasonlító vizsgálatakor magasabb PACAP-38 szinteket mértünk az ischaemiás bal kamra területén a jobb és bal pitvarhoz és a nem-ischaemiás bal kamrához képest.
- Különböző ischaemiás kondicionálási technikák alkalmazása során nem detektáltunk szignifikáns szöveti PACAP-38 szintbeli különbséget.

7.1.2. Plazma PACAP-38 szintek vizsgálata STEMI betegekben

- STEMI miatt hospitalizált betegek vizsgálata során a betegeknél a revascularisatiót megelőző (0 órás) mintavétel során magasabb plazma PACAP-38 szintet detektáltunk az egészséges coronariával rendelkező kontroll csoporthoz képest. Továbbá 4 órával a revascularisatiót követően szignifikánsan alacsonyabb plazma PACAP-38 szinteket mértünk a kiindulási értékekhez képest, mely csökkenés a 24, majd 48 órás mintáknál is megfigyelhető volt. A 48 órás plazma PACAP-38 szintek az egészséges kontroll csoporthoz képest is szignifikánsan alacsonyabb értékeket mutattak.
- Szignifikáns negatív korreláció igazolódott a plazma PACAP-38 és szérum troponin értékek között a vizsgált betegcsoportban. Multivariancia analízis szignifikáns, erős pozitív korrelációt igazolt a plazma PACAP-38 szintek és a STEMI két legfontosabb rizikófaktora (hypertonia és kezeletlen diabetes mellitus – magas HbA1c érték) additív hatása között. Rutin laborparaméterek, korábban alkalmazott antiischaemiás/antianginás gyógyszerek nem befolyásolták a plazma PACAP-38 szintet.

7.2. Szívelégtelenség vizsgálata során elért új eredményeink:

7.2.1. Különböző stádiumú szívelégtelen betegek plazma PACAP-38 szintjének összehasonlító vizsgálata

- Szignifikáns negatív korrelációt detektáltunk a plazma PACAP-38 és NT-proBNP szintek között. NT-proBNP alapján történő súlyossági csoportbeosztás alapján az enyhébb prognózisú szívelégtelen betegeknél szorosabb korrelációt igazoltunk.
- PACAP-38 és ejekciós frakció között nem találtunk szignifikáns összefüggést. A szívelégtelenséget potenciálisan befolyásoló tényezők (nem, életkor, társbetegségek, rutin laborparaméterek) és a plazma PACAP-38 szintek között sem találtunk szignifikáns összefüggést.

VII. ÚJ EREDMÉNYEK

7.2.2. Akut, dekompenzált és krónikus, kompenzált szívelégtelen betegek, valamint nem-szívelégtelen kontroll csoport PACAP-38 szintjének összehasonlító vizsgálata

- Szignifikánsan magasabb plazma PACAP-38 szinteket mértünk akut, dekompenzált szívelégtelenségben, továbbá szignifikánsan alacsonyabb PACAP értékeket detektáltunk krónikus, kompenzált szívelégtelenségben a kontroll csoporthoz képest.
- PACAP-38 és az NT-proBNP szintek közötti korrelációs vizsgálatok során akut szívelégtelenségben pozitív tendencia volt megfigyelhető, míg a krónikus betegeknel szignifikáns negatív korrelációt igazoltunk. Multivariancia analízissel figyelembe véve a szívelégtelenség etiológiáját (ischaemiás vagy nem-ischaemiás) ezen korreláció még erősebb összefüggést mutatott.
- A társbetegségekkel, gyógyszeres és eszközös terápiával, echocardiographiás és rutin labor paraméterekkel nem találtunk szignifikáns összefüggést a plazma PACAP-38 szintek vonatkozásában, így ezen tényezők nem befolyásolták az általunk mért PACAP értékeket.
- PACAP-38 és CRP szintek között szignifikáns pozitív korreláció igazolódott. Multivariancia analízissel a szívelégtelenség típusát (akut/krónikus) is figyelembe véve ezen korreláció még erősebb összefüggést mutatott.
- A különböző pro- és antiinflammatorikus citokinek vizsgálatokor krónikus szívelégtelenségben szignifikánsan alacsonyabb citokin szinteket mértünk mind az akut esetekhez, mind pedig a kontroll csoporthoz képest IL-1 β , IL-2 és IL-4 citokinek esetén. IL-10 szintek vizsgálatokor akut szívelégtelenségben mértünk szignifikánsan magasabb citokin szinteket a másik két vizsgált csoporthoz képest. IL-6, IFN- γ és TNF- α esetében nem találtunk szignifikáns különbséget a vizsgált csoportok között.
- A plazma PACAP-38 és citokinek közötti összefüggések vizsgálatokor szignifikáns pozitív korrelációt detektáltunk IL-1 β , IL-2, IL-4 és IL-10 citokinek esetén.

7.2.3. ICM vagy NICM miatt kezelt, végstádiumú szívelégtelen betegek szívizommintáinak vizsgálata

- Szignifikánsan magasabb szöveti PACAP-38 szintet mértünk az egészséges, kontroll egyének szívizommintáiban mind az ischaemiás, mind pedig a nem-ischaemiás cardiomyopathia miatt szívtranszplantációra került szívelégtelen betegekhez képest.
- Nem találtunk szignifikáns összefüggést a szöveti PACAP-38 szintek és az NT-proBNP szintek, a különböző echocardiographiás és rutin laborparaméterek között.
- Míg a PAC1 receptor intenzitás vizsgálatokor a nem-ischaemiás cardiomyopathia miatt kezelt betegeknel szignifikánsan alacsonyabb PAC1 receptor intenzitást detektáltunk az egészséges kontroll csoporthoz képest, az ischaemiás etiológiájú csoportban nem találtunk szignifikáns különbséget.

VIII. A SZERZŐ PUBLIKÁCIÓI

A dolgozat témájához kapcsolódó közlemények:

1. **Szabó D**, Sárszegi Zs, Polgár B, Sággy É, Németh Á, Reglődi D, Makkos A, Görbe A, Helyes Zs, Ferdinandy P, Herczeg R, Gyenesei A, Cziráki A, Tamás A. PACAP-38 in acute ST-segment elevation myocardial infarction in humans and pigs: a translational study. *Int J Molec Sci.* **2021**, 22(6), 2883. doi: 10.3390/ijms22062883. IF: 5,924, Q1
2. **Szabó D***, Sárszegi Zs*, Polgár B, Sággy É, Reglődi D, Tóth T, Onódi Z, Leszek P, Varga V Z, Helyes Zs, Kemény Á, Ferdinandy P, Tamás A. PACAP-38 and PAC1 receptor alterations in plasma and cardiac tissue samples of heart failure patients. *Int J Molec Sci.* **2022**, 23(7), 3715. doi: 10.3390/ijms23073715. IF: 5,924, Q1 (megosztott első szerzős közlemény)
3. Sárszegi Zs, **Szabó D**, Gaszner B, Kónyi A, Reglődi D, Németh J, Lelesz B, Polgár B, Jüngling A, Tamás A. Examination of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) as a potential biomarker in heart failure patients. *J Mol Neurosci.* **2019**, 68(3), 368-376. doi:10.1007/s12031-017-1025-7. IF: 2,678, Q1.
4. **Szabó D**, Szántó Z, Jüngling A, Polgár B, Reglődi D, Cziráki A, Tamás A, Sárszegi Zs. Effects of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) on the cardiovascular system. *Card Hung.* **2018**, 48; 129-135. doi:10.26430/CHUNGARICA.2018.48.2.129. - Review

Ezen közlemények összesített impakt faktora: 14,526

A szerző további közleményei:

1. Tóth D, Szabó E, Tamás A, Juhász T, Horváth G, Fábrián E, Opper B, **Szabó D**, Maugeri G, D'Amico A. G, D'Agata V, Vicena V, Reglődi D. Protective effects of PACAP in peripheral organs. *Front Endocrinol (Lausanne).* **2020**; 11:377. doi:10.3389/fendo.2020.00377. IF: 5,55, Q1.
2. Pham D, Polgár B, Tóth T, Jüngling A, Kovács N, Balas I, Pál E, **Szabó D**, Fülöp D B, Reglődi D, Szántó Z, Herczeg R, Gyenesei A, Tamás A. Examination of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in Parkinson's disease focusing on correlations with motor symptoms. *GeroScience.* **2021**; Published: 26 February 2022. doi:10.1007/s11357-022-00530-6. IF:7,71, Q1.
3. **Szabó D**, Nagy D, Melczer Cs, Ács P, Rátgéber L, Szokodi I, Tóth M, Cziráki A, Eklics K, Sárszegi Zs. Influencing factors of cardiac adaptation in adolescent athletes. *Int J Sports Medicine.* **2021**; 42(13):1029-1221. doi:10.1055/a-1386-4805. IF: 3,12, Q1.

A szerző kumulatív impakt faktora: 30,906

IX. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Először szeretném megköszönni klinikai Témavezetőmnek Dr. Sárszegi Zsoltnak szakmai irányítást és támogatását klinikai munkásságom legelső pillanatától, mindent megadva ahhoz és arra ösztönözve, hogy a lehető legjobb kardiológus lehessen egyszer majd. Legalább ugyanakkora köszönet jár alapkutató Témavezetőmnek, Dr. Tamás Andreának, aki bevezetett az alap kutatás rejtelmeibe és rengeteg segítséget és támogatást nyújtott az egész PhD képzésem során. Két Témavezetőm nélkül nem jöhetett volna létre ez a munka.

Továbbá köszönettel tartozom Dr. Polgár Beátának, Prof. Dr. Helyes Zsuzsannának, akik szakmai profizmusukkal és maximalizmusukkal mindig hozzá tudtak tenni és javítani tudtak a munkáimon. Köszönet illeti Prof. Dr. Reglödi Dórát és Prof. Dr. Cziráki Attilát, akik lehetővé tették, hogy Intézeteikben folytathassam kutatásaim. Továbbá szeretném megköszönni az Anatómiai Intézet és a Szívgyógyászati Klinika minden kedves munkatársának a rengeteg segítséget és szeretetet, amit az évek alatt tőlük kaptam. Köszönettel tartozom még Prof. Dr. Ferdinandy Péternek, a Semmelweis Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézetének Kardiometabolikus Kutatócsoport tagjainak, valamint Przemyslaw Leszek Professzor Úrnak és a lengyel Cardinal Stefan Wyszyński National Institute of Cardiology munkatársaink a kollaborációs munkáért.

Óriási köszönet kolléganőimnek és barátaimnak, Dr. Meiszterics Zsófiának és Dr. Porpáczy Adélnak, akik a legelső pillanattól kezdve mind szakmailag, mind lelkileg támogattak. Végül nagyon köszönöm kis családomnak és szerelmemnek azt a feltétel nélküli szeretetet, támogatás és olykor az akut krízis menedzsmentet, nélkületek nem ment volna.

A dolgozat a következő támogatásokkal készült:

NKFIH K119759, K129190 és K135457, GINOP-2.3.2-15-2016-00050 “PEPSYS”, Magyar Tudományos Akadémia MTA-TKI-14016, Tématerületi Kiválósági Program 2021 Egészség alprogram „Az agy működésének és betegségeinek vizsgálata multidiszciplináris egközelítéssel” TKP2021-EGA-16, EFOP 3.6.1-16.2016.00004.