

Dr. Deres Péter

**Doxorubicin kiváltotta akut kardiotoxicitás kivédése
kísérleti antioxidáns és PARP gátló vegyületekkel**

PhD értekezés tézisei

**Klinikai Orvostudomány
doktori iskola**

Programvezető: Prof. Dr. Tóth Kálmán



Pécsi Tudományegyetem
Orvostudományi és Egészségtudományi Koordinációs Központ
Klinikai Központ
I. sz. Belgyógyászati Klinika
Pécs

2008.

BEVEZETÉS

Doxorubicin

A doxorubicin, vagy más néven adriamicin, egy antraciklin antibiotikum, az interkaláló ágensek közé tartozó kemoterápiás készítmény. A doxorubicin molekulájában egy tetraciklusos gyűrű vörös-pigment naftacénkinin maghoz glikozidkötésen keresztül daunózamin aminocukor kapcsolódik. Hatásmechanizmusa teljes mértékben máig felderítetlen, azonban a szakirodalom nagy része úgy véli, hogy a daganatellenes hatás a doxorubicin molekula kromofór planáris rész DNS szálak közti beékelődésének köszönhető, míg az aminocukor rész a DNS kis árkában, a beékelődési hely közvetlen szomszédságában lévő bázisokkal lép kölcsönhatásba. Ezáltal a topoizomeráz II-t gátolja.

E rendkívül lipofil, a szervezetben hosszú féléletidővel rendelkező, a rosszindulatú daganatok számos változata ellen használatos kemoterápiás készítmény a klinikumban nagy népszerűsége miatt. Klinikai felhasználhatóságának azonban gátat szab kardiotoxikus mellékhatása. Irodalmi adatok szerint előrehaladott malignómáknál alkalmazott többszörös doxorubicin injekciók hatására a betegek 30%-nál alakult ki nekroenzimek (CK, GOT, LDH) emelkedése mellett R hullám redukcióval, hipotóniával, 150/perc feletti szívfrekvenciával járó szívelégtelenség, mely kórkép pozitív inotróp szerekre refrakternek bizonyult, továbbá keringéstámogató eszközök használata sem javított a prognózison. Ha a doxorubicin kumulatív adagja meghaladja az 550 mg/testfelszín m^2 -t, a dilatatív kardiomiopátia, és végül a szívelégtelenség előfordulása meredeken nő. A károsodás sokszor a kezelés befejeztét követő 20 év elteltével jelentkezik.

A doxorubicin kiváltotta szívizom károsodás ellen alkalmazandó szerről számos tanulmány született, melyek elsősorban a szabad gyök csapdázásán, valamint a vas komplexbe történő befogásán keresztül igyekeztek kísérleti szereikkel kardioprotektív hatást elérni.

Kísérleti szerek

Az antioxidáns molekulák és enzimek csökkenthetik ugyan a szabadgyökök kiváltotta oxidatív károsodást, de mivel legtöbbjük nem, vagy csak alig jut a sejt belsejében a gyökképződés tényleges helyére, protektív hatásukat nem tudják megfelelően kifejteni.

Mind a H-2545 nevű szer (3-karboxamido-2,2,5,5-tetrametil-2,5-dihidro-1*H*-pirrol), mind pedig metabolitja, a H-2954 szabadgyökfogó tulajdonsággal rendelkezik. A H-2545 és H-2954 molekula szerkezete lehetővé teszi, hogy a vegyületek a sejt membránjában halmozódjanak fel, és a szabadgyök keletkezés és károsítás elsődleges helyén fejtsék ki antioxidáns hatásukat, megelőzve számos sejtalkotó további károsodását.

A H-2641 esetében a már ismert, a Vaughan-Williams osztályozás szerinti I/B osztályba tartozó, a szívizom sejtek membránjában akkumulálódó antiaritmiás szert, a mexiletint a 3-karbonil-2,2,5,5-tetrametil-2,5-dihidro-1*H*-pirollal acilezték. A módosított mexiletin származékok esetében már korábban igazolást nyert, hogy antioxidáns hatással rendelkeznek, az iszkémia során depletálódott organikus foszfátok regenerálódnak, mérséklük a DNS lánctörést, a protein oxidáció-gátlásán keresztül mérséklük az oxidatív stresszt és a toxikus ROS molekulák okozta károsodásokat, sokkal jobban, mint a mexiletin alapmolekula.

Ezen megfontolások alapján választottuk ki a H-2641, valamint H-2693 vegyületeket és vizsgáltuk, hogy képesek-e gátolni a doxorubicin-okozta sejtkárosodást. Vizsgálatunk során a szívizom energetikai paraméterein kívül még intracelluláris pH értéket kalkuláltunk.

Kutatócsoportunk korábbi iszkémia-reperfúziós kísérleteiben igazolta, hogy PARP-inhibitorok mérséklük a szabadgyökök által kiváltott károsodást. A doxorubicin kardiotoxikus hatásának általunk is feltételezett mechanizmusa alapján, mely szerint az főként szabadgyökök útján fejti ki káros hatását, logikusnak tűnt, hogy a PARP gátló esetleges protektív hatását vizsgáljuk doxorubicin által okozott akut kardiotoxicitásra. A kinazolinok két aromás gyűrűből (egy benzén és egy pirimidin gyűrűből) álló vegyületek, melyek közismerten PARP gátló hatással rendelkeznek. Egy, a tudományos közéletben elterjedt kinazolin származék, a kinazolin gyűrű 4-es pozíciójában hidroxilcsoporttal rendelkező kinazolin, a 4-hidroxi-kinazolin (4OHQ) hatását vizsgáltuk a doxorubicin kiváltotta miokardiális károsodásra.

Célkitűzések

³¹P NMR spektroszkóppal monitorozott Langendorff perfúziós modellünkben vizsgálni kívántuk a membránban, azaz a károsodás helyén felhalmozódni képes antioxidáns

H-2545 hatását a doxorubicin indukálta akut kardiotoxicitásra a miokardium energia háztartásának, Akt jelátviteli fehérje aktivitásának vizsgálatával, továbbá a miokardiális károsodást jelző paraméterek (szív kontraktilis teljesítmény, lipidperoxidáció, fehérjeoxidáció) meghatározásával.

H-2641 és H-2693 alkalmazásával igazolni kívántuk azt a Hideg-féle paradigmát, mely szerint a gyorsan lejátszódó, oxidatív stressz okozta károsodásokat csak olyan molekulák képesek mérsékelni, melyek a bekövetkező károsodás helyéhez helyspecifikusan kapcsolódnak és az oxidatív károsodást okozó ROS molekulákat nem toxikus antioxidáns hatású molekulákká alakítják.

Tanulmányozni kívántuk, hogy az iszkémia-reperfúziós károsodásokat mérsékelni képes PARP inhibitor képes lesz-e a doxorubicin okozta károsodásokban is kifejteni kedvező hatását. Megvizsgáltuk, hogy a korábban megfigyelt, PARPI hatására bekövetkező protektív PI3-kináz-Akt-GSK jelátviteli út aktiváció szerepet játszik-e a PARPI feltételezeten kedvező hatásában doxorubicin kiváltotta károsodás esetén.

Módszerek

Vegyületek

A H-2545 és H-2954, valamint a H-2641 és H-2693 szintézisét korábban közöltük. A malondialdehid-bisz (diethylacetál) vegyületet a Merck-től (Darmstadt, Németország) vásároltuk. Minden egyéb kémiai anyagot a kereskedelemben elérhető legtisztább formájában szereztük be.

Állatok

Felnőtt, hím, 250-300 g-os CFY patkányok izolált szívét használtuk Langendorff-perfúziós kísérleteinkben. Minden állatkísérletet az 1998. évi, az állatok védelméről és kíméletéről szóló XXVIII. törvény és az ezzel összhangban lévő 86/609/EGK irányelvnek a betartásával végeztünk.

Szívperfúziós kísérlet

A patkányokat 200 mg/ttkg ketamin intraperitoneális adásával altattuk, Na-heparinnal (100 NE/patkány, i.p.) antikoaguláltuk. Az állatok szívét izoláltuk, és Langendorff szerint az aortán keresztül retrográd úton 70 Hgmm-es nyomással, 37°C-os állandó hőmérsékleten

perfundáltuk. A perfúzióhoz módosított, foszfátmentes Krebs-Henseleit oldatot használtunk, melynek összetétele: 118 mM NaCl, 5mM KCl, 1,25 mM CaCl₂, 12 mM MgSO₄, 25 mM NaHCO₃, 11 mM glükóz, 0,6 mM oktánsav, valamint 100 µM doxorubicin és/vagy H-2545, H-2954 (5, 10, 20 µM), H-2641, H-2693 (20 µM), valamint 4-hidroxi-kinazolin (100 µM). A perfúziós folyadék kémhatását pH 7,4 értékre állítottuk be, és a kísérlet alatt üveg oxigénátoron keresztül 5% CO₂-t tartalmazó oxigénnel áramoltattuk át. Az egy órás perfúzió végén a szíveket lefagyasztottuk.

NMR spektroszkópia

Az NMR spektrumok Varian ^{UNITY}INOVA 400 WB (Varian Inc, Palo Alto, CA) készüléken készültek. A perfundált patkányszívekről ³¹P spektrumot (194,9 MHz) 37 C-on Z•SPEC® 20 mm „broadband” mintavételi fejjel nyertünk (Nalorac Co., Martinez, CA, USA) WALTZ-16 proton lecsatolást alkalmazva az adatgyűjtés ideje alatt (γB₂=1,2 kHz). A mágneses mező homogenitását a ¹H jel segítségével állítottuk be (w_{1/2}=10-15 Hz). A ³¹P spektrumokat 3 perces időközönként vettük fel a következő paramétereket alkalmazva: 120 tranziens, 1,25 s várakozási idő, 45 fokos kitérítési szögű impulzus, 10 kHz spektrális ablak, 0,25 s adatgyűjtési idő. Ezen kísérleti körülmények között az impulzusok közötti késés nagyobb a vizsgált metabolitok T₁ értékének ötszörösénél, és a különféle molekulák relatív koncentrációi arányosak a jel alatti terület nagyságával. A foszfátot tartalmazó molekulák (kreatin foszfát, ATP, anorganikus foszfát) mennyiségét a szívperfúziók foszforspektrumaiban az adott molekulát reprezentáló görbe alatti terület nagyságából számítottuk ki. A perfúzió kezdetén az így kiszámított mennyiségeket 100%-nak vettük, és a perfúzió alatt a molekulák mennyiségét a perfúzió kezdetén mért értékekhez viszonyítva százalékosan adtuk meg (az anorganikus foszfátnál önkényes mértékegységet választottunk). A miokardiális pH érték az anorganikus foszfát kreatin foszfáthoz viszonyított kémiai eltolódásából (δ) számítható ki az alábbi képlet alapján: $pH = 6.77 + \log [(δ - 3.23) / (5.70 - δ)]$

Szívteljesítmény meghatározása

Az izolált patkányszívek bal kamrájába latex ballont helyeztünk, majd felfújtuk úgy, hogy a végdiasztolés nyomás 8-12 Hgmm között legyen. Minden mérést azonos ballon nagysággal végeztünk. A nagy energiájú foszfátok stabilitásának NMR spektroszkóppal történt megállapítása után, a 15 perces kontroll periódust követően a kísérleti szereket a

perfuzátumba adtuk. A szívfrekvencia, a szisztolés és diasztolés nyomások monitorizálásán túl származtatott paramétereket is meghatároztunk, úgymint: LVDP (left ventricular developed pressure; szisztolés és diasztolés nyomás különbsége) kettős szorzat és dp/dt ami a nyomásgörbe-függvény időre vetített első fokú deriváltja.

Lipidperoxidáció és fehérje oxidáció

A lipidperoxidáció mértékét a tiobarbitursav reaktív anyagok (TBARS) képződésével becsültük meg a Tzeng és munkatársai által leírt módszer módosításával. A szívizom szövetet 6,5% TCA-ban homogenizáltunk, majd 15% TCA-t, 0,375% TBA-t és 0,25% HCl-t tartalmazó reagenst adtunk hozzá, forrásban lévő vízfürdőbe helyeztük 15 percre, majd lehűtöttük. Centrifugálást követően a felülúszó abszorbanciáját 535 nm-en mértük. Malondialdehid (MDA) standardot használva a TBARS mennyiséget nmol/g nedves szövetben adtuk meg.

A fehérjeoxidáció kimutatására 50 mg fagyasztott szívizom mintát 1 ml 4%-os perklórsavban homogenizáltunk. Az oldat fehérje tartalmát centrifugálással gyűjtöttük össze. A fehérjék karbonil csoport tartalmát 2,4-dinitrofenil hidrazinnal határoztuk meg.

Western blot analízis

50 mg-os szívizomszövetet jéghideg Tris pufferban (50 mM, pH 8,0) homogenizáltuk, majd kétszeres SDS-poliakrilamid minta pufferben oldottuk. A fehérjéket 12%-os SDS-poliakrilamid gélben választottuk szét, nitrocellulóz membránra átblottoltuk. Blokkolás után (2 óra inkubáció 3%-os zsírtalanított tejes Tris oldatban) a nitrocellulóz membránokat egy éjszakán keresztül inkubáltuk jelöletlen antitestekkel (pAkt-1/Protein kináz B- α Ser⁴⁷³ (1:1000 hígításban), Akt/PKB (1:1000 hígításban, Cell Signaling Technology, Beverly, MA), foszfo-specifikus glikogén-szintáz-kináz (GSK)-3 β Ser⁹ (1:1000 hígításban)). A membránokat 6x5 percig 0,2% Tween-t tartalmazó Tris pufferben (pH 7,5) mostuk, majd 1:3000 arányban hígított, tormagyökér peroxidázzal konjugált kecske anti-nyúl második antitesttel (BioRad, Budapest) inkubáltuk. A membránokat 6x5 percig mostuk, majd kemilumineszcencia (ECL) segítségével röntgenfilmen előhívtuk. Az optikai sűrűséget az ImageJ 1.31v (National Institutes of Health, Bethesda, MD) szoftverrel határoztuk meg.

Sejt túlélési vizsgálat

Méhnyak epitheloid carcinoma (HeLa), humán hasnyálmirigy carcinoma (PANC-1), és humán hepatocelluláris carcinoma (HEPG-2) eredetű sejtvonalakból származó sejteket 96-lyukú plate-ekbe osztottunk szét úgy, hogy a sejt sűrűség $2,5 \times 10^4$ sejt/lyuk legyen, majd egy éjszakán keresztül tenyésztettük őket. A következő nap doxorubicint és/vagy H-2545-t vagy H-2954-t, vagy 4-hidroxi-kinazolint adtunk a médiumhoz megfelelő koncentrációban. 24 óra múlva a sejteket 0,5%-os vízdékony mitokondriális festéssel, MTT⁺-vel 3 órán keresztül inkubáltuk, majd a médium eltávolítása után az MTT⁺-ből savas izopropanol hatására sztöchiometrikusan formazánt állítottunk elő. Az optikai sűrűséget 550 nm-es hullámhosszúságon ELISA olvasóval (Antos Labtech 2010) regisztráltuk. Minden kísérleti körülménnyel, mely szerint adott sejtvonalat adott típusú és koncentrációjú szerrel kezeltünk, 4 azonos időben végzett párhuzamos kísérlettel végeztünk, melyet háromszor megismételtünk.

Statisztikai analízis

Az eredmények szignifikáns ($p < 0,05$) különbözőségének megállapítására F próbát követően kétmintás t próbát alkalmaztunk.

EREDMÉNYEK

H-2545, H-2954

A H-2545 és metabolitjának kardioprotektív hatása a doxorubicin kiváltotta károsodott miokardiális energia metabolizmusra

Az egy órás perfúzió végén a kreatin-foszfát (PCr) szintje a doxorubicin kezelt szívekben jelentősen csökkent. A nagy energiájú foszfátok szintjének csökkenését mind a H-2545, mind a H-2954 10 és 20 μM koncentrációban képes volt gátolni. A közismert antioxidáns dihidrolipoamid (DHLLA) 20 μM koncentrációban nem, csak 200 μM koncentrációban tudta megakadályozni a kreatin-foszfát lebomlását. Hasonló eredmények születtek az ATP szint vizsgálatakor is. A doxorubicin kezelt szívekben anorganikus foszfát akkumulálódott, amely kedvezőtlen energiaállapotot a H-2545 és H-2954 kezelés megelőzött.

Antioxidáns kezelés utáni szívteljesítmény

Az adaptációs periódust követően az LVDP $78,9 \pm 5,1$ Hgmm, a kettős szorzat $22,3 \pm 1,44 \times 10^3$ Hgmm/perc, dP/dt_{\max} 2479 ± 207 Hgmm/s, dP/dt_{\min} 1756 ± 71 Hgmm/s volt átlagosan 197 ± 19 ütés/perc szívfrekvenciával. Az egyórás doxorubicin perfúzió alatt az LVDP a kezdeti értékhez képest csökkent, a H-2545 és metabolitja 20 μM -os koncentrációban azonban a teljesítményromlást kivédte. A doxorubicin a kettős szorzat mérésekor a kontroll csoporthoz képest jelentős teljesítménybeli romlást okozott, melyet azonban kísérleti szereink (H-2545, H-2954) kivédtek ($p < 0,05$). Kísérleti körülményeink között a doxorubicin a másik két kontraktilis teljesítményre jellemző paramétert is csökkentette. A dP/dt_{\max} és a dP/dt_{\min} perfúzió végén mért értékei jelentősen csökkentek doxorubicin adásakor, melyet mind a H-2545, mind a H-2954 mérsékelte.

Doxorubicin kiváltotta lipidperoxidáció és fehérje oxidáció kivédése H-2545 és H-2954 kezeléssel

A doxorubicin különféle sejtalkotókra kifejtett káros hatását már ismerjük. Jelen kísérletünkben a miokardiális károsodás olyan paraméterei, mint a lipidperoxidáció és fehérje oxidáció doxorubicin hatására jelentősen emelkedtek. A lipidperoxidáció mértékét jellemző tiobarbitursav reaktív anyagok (TBARS) mennyisége háromszorosára nőtt a kontroll csoporthoz képest, amikor a doxorubicint önmagában alkalmaztuk, melyet a H-2545 vagy

H-2954 együttes adásával kivédtünk. A DHLA-t hasonló nagyságrendű koncentrációban (20 μM) alkalmazva az emelkedett lipidperoxidáció szintjét nem tudtuk csökkenteni.

A szabadgyökök, melyek a doxorubicin adását követően keletkeznek, fehérje oxidációt is indukálnak, melyet a fehérje karbonil tartalmának meghatározásával tudunk jellemezni. A doxorubicin szignifikáns mértékben ($p < 0,05$) megemelte a fehérjék karbonil csoportjának mennyiségét, míg H-2545 illetve H-2954 hozzáadásával a fehérje oxidáció csökkent.

Akt foszforiláció

Doxorubicin kezelés hatására, a kezeletlen csoporttal összehasonlítva, jelentős Akt foszforiláció figyelhető meg, mely azt sugallja, hogy a szabadgyökök hatást gyakoroltak a tirozin-kináz/Akt jelátviteli útra. Ez az aktivitás csökkenthető volt, ha a doxorubicinnel kezelt szívekhez H-2545/H-2954-t adtunk, feltételezhetően azért, mert az antioxidáns anyagok a szabadgyökök befogása révén csökkentik az Akt kináz kaskád aktivációját. A DHLA 20 μM -os koncentrációban nem, csak jóval nagyobb, 200 μM -os koncentrációban csökkentette az Akt aktivációt.

Változatlan antineoplasztikus doxorubicin hatás H-2545 jelenlétében

Mivel a doxorubicin a rosszindulatú daganatok kezelésére alkalmazott gyógyszer, a szer mellékhatásaira adott hatóanyagoktól elvárható, hogy a doxorubicin daganatellenes hatásait ne csökkentsék. Ennek vizsgálatára változó koncentrációban alkalmazott doxorubicinnel együtt H-2545-t és H-2954-t adtunk daganatos sejtkultúrákhoz (HeLa, PANC-1, HEPG-2). Az antioxidáns szerek alkalmazása nem befolyásolta a doxorubicin daganatölő tulajdonságait.

H-2641, H-2693

A H-2641 és H-2693 kardioprotektív hatása a doxorubicin kiváltotta károsodott miokardiális energia metabolizmusra

Az egy órás perfúzió alatt a kreatin-foszfát (PCr) szintje a doxorubicin kezelt szívekben jelentősen csökkent. A nagy energiájú foszfátok szintjének csökkenését mind a H-2641, mind a H-2693 képes volt gátolni. Hasonló eredmények születtek az ATP szint vizsgálatokor is. A doxorubicin kezelt szívekben anorganikus foszfát akkumulálódott, amely kedvezőtlen energiaállapotot a H-2641 és H-2693 kezelés képes volt megelőzni.

A H-2641 és H-2693 kardioprotektív hatása a doxorubicin kiváltotta miokardiális pH csökkenésre

Az egy órás perfúzió alatt a miokardiális pH doxorubicin hatására szignifikáns mértékben csökkent. A kémhatás nem változott doxorubicinnel egyidejűleg alkalmazott H-2641, valamint H- 2693 kezelés hatására.

4-hidroxi-kinazolin

A 4-hidroxi-kinazolin kardioprotektív hatása a doxorubicin kiváltotta károsodott miokardiális energia metabolizmusra

Az egy órás perfúzió végén a nagy energiájú foszfátok szintje a doxorubicin kezelt szívekben jelentősen csökkent. A kreatin foszfát, valamint ATP szintjében bekövetkező csökkenést a 4-hidroxi-kinazolin, a doxorubicinnal kezelt csoporthoz képest, szignifikáns mértékben mérsékelte. A protektív PI3-kináz gátlásával, wortmannin hozzáadásával a 4 OHQ nagy energiájú foszfátokra gyakorolt kedvező hatása csökkent. Önmagában adott 4OHQ, wortmannin, valamint ezek együttes adásakor a kontroll értékhez képest nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést. Az izolált patkányszívekben anorganikus foszfát halmozódott fel doxorubicinnel kezelt szívek esetén, mely 4-hidroxi-kinazolinnal mérsékelhető.

A 4-hidroxi-kinazolin kardioprotektív hatása a doxorubicin kiváltotta miokardiális pH csökkenésre

Az egy órás perfúzió alatt a miokardiális pH doxorubicin hatására szignifikáns mértékben csökkent. A kémhatás nem változott doxorubicinnel egyidejűleg alkalmazott 4OHQ hatására, azonban a protektív jelátviteli útvonal gátlásával, a 4OHQ, doxorubicin által kiváltott, pH csökkenést kivédő hatása elmaradt.

Akt foszforiláció

Doxorubicin kezelés hatására, a kezeletlen csoporttal összehasonlítva, korábbi kísérletünkkel összhangban Akt, valamint GSK foszforiláció figyelhető meg. Az aktivitás nem volt csökkenthető wortmanninnal, mely arra enged következtetni, hogy a doxorubicin kiváltotta Akt foszforiláció egy, a PI3-kináztól független úton valósul meg. PARP gátló erőteljesen növelte az Akt és GSK foszforiláltságát, melyet a PI3-kináz gátló mérsékelte.

Változatlan antineoplasztikus doxorubicin hatás PARP inhibitor jelenlétében

A PARP inhibitor 4-hidroxi-kinazolin és doxorubicin együttadásakor nem észleltünk - a 4OHQ 100 μ M-os koncentrációval történő alkalmazásakor sem - a doxorubicin HeLa, PANC-1, HEPG-2 daganatos sejtvonalakra kifejtett antineoplasztikus tulajdonságában károsodást.

Új eredmények, megfigyelések

1. Az antioxidáns H-2545 párhuzamos adásával a doxorubicin indukálta akut kardiotoxicitás mérséklődött anélkül, hogy a doxorubicin daganatellenes hatása károsodott volna.
2. A H-2545 és metabolitja, a H-2954 a kardiovaszkuláris védelem általunk vizsgált minden szempontjából jobbnak bizonyult, mint a közismert antioxidáns dihidrolipoamid.
3. Megerősítettük azt a Hideg-féle paradigmát mind az antioxidáns hatású kísérletes kardioprotektív H-2545 molekulával és metabolitjával, mind pedig a H-2641 és H-2693 molekulával végzett vizsgálatainkkal, hogy a gyorsan lejátszódó, oxidatív stressz okozta károsodásokat csak olyan molekulák képesek mérsékelni, szerencsés esetben kivédeni/megelőzni, melyek a bekövetkező károsodás helyéhez helyspecifikusan kapcsolódnak és az oxidatív károsodást okozó ROS molekulákat nem toxikus antioxidáns hatású molekulákká alakítják.
4. Igazoltuk, hogy a PARP gátló 4-hidroxi-kinazolin az iszkémia-reperfúziós kísérletekhez hasonlóan csökkenti a doxorubicin kiváltotta miokardiális károsodást, és aktiválta, részben a PI3-kináz útvonalon keresztül, a protektív Akt-GSK útvonalat anélkül, hogy a doxorubicin daganatellenes hatása károsodott volna.
5. Megerősítettük azt az álláspontot, mely szerint a doxorubicin akut kardiotoxikus mellékhatásában szabad gyökös mechanizmusok kulcsszerepet játszanak.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

Könyvfejezet:

KOVACS, K., TOTH, A., DERES, P., HANTO, K., HIDEG, K., SUMEGI, B. Effect of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors on the activation of ischemia-reperfusion induced inflammatory processes in Langendorff perfused hearts. In: Proceedings of the 37th Congress of the European Society for Surgical Research (Szeged, Hungary, May 23-25, 2002). Ed.: Boros, M. Monduzzi Editore, 63-68, 2002.

T. ALEXY, ZS. MARTON, P. DERES, A. TOTH, K. TOTH Biological rhythms of the circulatory system, blood pressure and heart rate variability. In: Rhythmic biological processes. Ed.:V. Csernus, B. Mess Dialóg Campus Kiadó, 27-42, 2003.

Teljes közlemények:

TÓTH A., HALMOSI R., HABON T., SZABADOS E., DERES P., SÜMEGI B., HIDEG K., TÓTH K. Az antioxidáns kezeléstől a poli(ADP-ribóz) polimeráz gátlókig – a kardioprotekció új lehetőségei ischaemia-reperfúzió során. Magyar Belorv. Arch. 2001;54:107-11.

HALMOSI, R., DERES, P., TOTH, A., BERENTE, Z., KALAI, T., SUMEGI, B., HIDEG, K., TOTH, K. 2,2,5,5-Tetramethylpyrroline-based compounds in prevention of oxyradical-induced myocardial damage. J. Cardiovasc. Pharmacol. 2002;40:854-67.

Impact factor: 1,553

TOTH, A., HALMOSI, R., KOVACS, K., DERES, P., KALAI, T., HIDEG, K., TOTH, K., SUMEGI, B. Akt activation induced by an antioxidant compound during ischemia-reperfusion. Free Radic. Biol. Med., 2003;35:1051-63.

Impact factor: 5,063

TOTH, A., KOVACS, K., DERES, P., HALMOSI, R., HANTO, K., KALAI, T., HIDEG, K., SUMEGI, B., TOTH, K. Impact of a novel cardioprotective agent on the ischaemia-reperfusion-induced Akt kinase activation. Biochem. Pharmacol., 2003;66:2263-72.

Impact factor: 2,993

KOVACS, K., TOTH, A., DERES, P., KALAI, T., HIDEG, K., SUMEGI, B. Myocardial protection by selective poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors. Exp. and Clin. Cardiol., 2004;9:17-20.

DERES, P., HALMOSI, R., TOTH, A., KOVACS, K., PALFI, A., HABON, T., CZOPF, L., KALAI, T., HIDEG, K., SUMEGI, B., TOTH, K. Prevention of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity by an experimental antioxidant compound. J. Cardiovasc. Pharmacol. 2005;45:36-43.

Impact factor: 1,31

PALFI, A., TOTH, A., KULCSAR, G., HANTO, K., DERES, P., BARTHA, E., HALMOSI, R., SZABADOS, E., CZOPF, L., KALAI, T., HIDEG, K., SUMEGI, B., TOTH, K. The role of Akt and mitogen-activated protein kinase systems in the protective effect of poly(ADP-ribose) polymerase inhibition in Langendorff perfused and in isoproterenol-damaged rat hearts. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2005;315:273-82.

Impact factor: 4,1

KOVACS, K., TOTH, A., DERES, P., KALAI, T., HIDEG, K., GALLYAS, F. JR, SUMEGI, B. Critical role of PI3-kinase/Akt activation in the PARP inhibitor induced heart function recovery during ischemia-reperfusion. Biochem. Pharmacol. 2006;71:441-52.

Impact factor: 3,581

PALFI, A., TOTH, A., HANTO, K., DERES, P., SZABADOS, E., SZEREDAY, Z., KULCSAR, G., KALAI, T., HIDEG, K., GALLYAS, F. Jr, SUMEGI, B., TOTH, K., HALMOSI, R. PARP inhibition prevents postinfarction myocardial remodeling and heart failure via the protein kinase C/glycogen synthase kinase-3beta pathway. J. Mol. Cell. Cardiol. 2006; 41:149-59.

Impact factor: 4,859

DERES P., TÓTH A., HALMOSI R., KOVÁCS K., PÁLFI A., KÁLAI T., HABON T., CZOPF L., HIDEG K., SÜMEGI B., TÓTH K. Doxorubicin kiváltotta akut kardiotoxicitás kivédése egy kísérleti antioxidáns vegyülettel. Card. Hung. 2006; 36:104-111.

Citálható absztraktok:

EGYED, R., LUKATS B., DERES P., FRIEDSZAM E., PAST T., KARADI Z.: Diabetes (type-II)-Like Metabolic Deficits Elicited by Microelectrophoretic Kainate Lesions of the Globus Pallidus in the Rat. ICPFFI XII - SSIB '98, 1998. July 5-8, Pecs, Hungary. Appetite 1998;31:267.

KARADI, Z., EGYED R., LUKATS B., DERES P., LÉNÁRD L.: Differential Anorexigenic and Hyperthermic Consequences of Bilateral IL-1 Microinjection into the Ventral-Lateral Prefrontal Cortex (OBF) in the Rat. ICPFFI XII - SSIB '98, 1998. July 5-8, Pecs, Hungary. Appetite 1998;31:233.

HALMOSI, R., MARTON, ZS., DERES, P., HABON, T., SUMEGI, B., HIDEG, K., TOTH, K. Cardioprotective effect of a novel antiarrhythmic drug with antioxidant property. 3rd International Symposium on Myocardial Cytoprotection, 2000. September 28-30, Pecs, Hungary, Perfusion 2000;8:360.

HALMOSI R., DERES P., HABON T., TOTH K., HIDEG K., SUMEGI B. Scavenger hatással rendelkező antiarrhythmias szer, a H-2545 protektív hatása szabad gyökök által mediált szivizom-károsodásban. Magyar Kardiológusok Társasága 2000. évi Tudományos Kongresszusa, 2000. május 11-13, Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2000;3:45.

HALMOSI, R., DERES, P., BERENTE, Z., KALAI, T., TOTH, K., SUMEGI, B., HIDEG, K. 2,2,5,5-Tetramethylpyrroline-based cardioprotective compounds in the prevention of oxyradical-induced myocardial damage. Hungarian-German-Italian-Polish Joint Meeting on Medicinal Chemistry, 2001. September 2-6, Budapest, Hungary. Abstract book: 66.

HALMOSI R., DERES P., TÓTH A., LITERÁTI-NAGY B., TÓTH K., SÜMEGI B. Poli(ADP-ribóz) polimeráz gátlók hatása postischaemiás myocardiumban az oxidatív sejtkárosodásra és a mitokondrium metabolizmusára. Magyar Kardiológusok Társasága 2001. évi Tudományos Kongresszusa, 2001. május 9-12. Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2001;2:61.

TÓTH A., HALMOSI R., KOVÁCS K., DERES P., HANTÓ K., SZABADOS E., HABON T., SÜMEGI B., HIDEG K., TÓTH K. Antioxidánsok és a poli(ADP-ribóz) polimerázt gátlók aktiválják a protektív jelátviteli utakat myocardialis ischaemia-reperfúzió során - lehetséges klinikai vonatkozások. A Magyar Belgyógyász Társaság XXXIX. Nagygyűlése, 2002. november 21-23, Budapest Magyar Belorv. Arch., 2002;Suppl 3:55,132.

DERES, P., HALMOSI, R., TOTH, A., KOVACS, K., BERENTE, Z., HIDEG, K., TOTH, K., SUMEGI, B. Protective effect of H-2545 on doxorubicin-induced acute cardiotoxicity. 22nd Meeting of the International Society for Heart Research – European Section, 2002. July 3-6, Szeged, Hungary, J. Mol. Cell Cardiol., 2002;34:A35.

KOVACS, K., TOTH, A., DERES, P., HIDEG, K., SUMEGI, B. Effect of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors on the intracellular signal transduction during ischaemia-reperfusion (IR). 22nd Meeting of the International Society for Heart Research – European Section, 2002. July 3-6, Szeged, Hungary, J. Mol. Cell Cardiol., 2002;34:A19.

TÓTH A., HALMOSI R., DERES P., KOVÁCS K., HIDEG K., SÜMEGI B., TÓTH K. Kardioprotektív heterociklikus vegyületek hatása az intracelluláris jelátviteli folyamatokra ischaemia-reperfúzió során Langendorff perfundált szíveken. Magyar Kardiológusok Társasága 2002. évi Tudományos Kongresszusa, 2002. április 30-május 3, Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2002;1:72.

SÜMEGI, B., KOVÁCS, K., TAPODI, A., DERES, P., TOTH, A., BERENTE, Z., OSZ, E., KALAI, T., HIDEG, K. Effect of PARP inhibitors on the activation of MAP kinases in Langendorff perfused hearts. Eur. J. Biochem., 2002;269Suppl 1:PS5-152.

TÓTH K., TÓTH A., HALMOSI R., SZABADOS E., HABON T., DERES P., PÁLFI A., SÜMEGI B., HIDEG K. Az oxidatív stressz szerepe a kardiovaszkuláris betegségekben - az antioxidánsok és poli(ADP-ribóz)-polimerázt gátlók lehetséges terápiás alkalmazása In: A Magyar Belgyógyász Társaság Dunántúli Szekciójának 50. jubileumi vándorgyűlése. Pécs, 2003. június 26-28. Magyar Belorv. Arch. Suppl.. 2003;2:p110-111.

KOVÁCS K., TÓTH A., DERES P., ŐSZ E., JAKUS P., HIDEG K., SÜMEGI B. PARP inhibitorok hatása az Akt-1 protektív jelátviteli útvonal aktivitására szívizom ischaemia-reperfúzió során XXXIII. Membrán Transzport konferencia, Sümeg, 2003;P-33:A-100.

KOVÁCS, K., TOTH, A., DERES, P., OSZ, E., VERES, B., RADNAI, B., SÜMEGI, B. Impact of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors on the activation of PI3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase pathways in postischemic myocardium. Free Radic. Res., 2003;37 Suppl.1:99.

TÓTH A., KOVÁCS K., DERES P., PÁLFI A., HANTÓ K., HALMOSI R., HIDEG K., SÜMEGI B., TÓTH K. Antioxidáns vegyületek hatása az Akt protektív jelátviteli út aktivitására myocardiális ischaemia-reperfúzió során. Magyar Kardiológusok Társasága 2003. évi Tudományos Kongresszusa, 2003. május 14-17, Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2003;2:33:A29.

DERES P., TÓTH A., HALMOSI R., KOVÁCS K., PÁLFI A., HABON T., SÜMEGI B., TÓTH K. Doxorubicin okozta akut kardiotoxicitás kivédése poli(ADP-ribóz) polimeráz gátló vegyülettel. Magyar Kardiológusok Társasága 2003. évi Tudományos Kongresszusa, 2003. május 14-17., Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2003;2:33:A63.

SÜMEGI, B., KOVÁCS, K., TAPODI, A., DERES, P., BERENTE, Z., ŐSZ, E., TÓTH, A. Role of poly(ADP-ribose) polymerase in the pathomechanism of oxidative cell damage IV. International Symposium on Myocardial Cytoprotection, 2003. Sept 25-27, Pécs, Hungary Exp. Clin. Cardiol., 2003;8:p:49,A53.

KOVÁCS, K., TÓTH, K., DERES, P., SÜMEGI, B. Differential effect of metoprolol, verapamil and 4-hydroxyquinazoline on the ischaemia-reperfusion-induced myocardial processes. IV. International Symposium on Myocardial Cytoprotection, 2003. Sept 25-27, Pécs, Hungary Exp. Clin. Cardiol., 2003;8:p:43,A33.

SÜMEGI, B., KOVÁCS, K., TOTH, A., DERES, P., PÁLFI, A. Impact of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors on the activation of PI3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase pathways in postischemic myocardium. Special FEBS 2003 Meeting on Signal Transduction, 2003. July 3-8, Brussels, Belgium. Eur. J. Biochem., 2003;270Suppl.1:PS01-0867.

KOVACS, K., TOTH, A., DERES, P., OSZ, E., VERES, B., RADNAI, B., SUMEGI, B. Impact of poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors on the activation of PI3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase pathways in postischemic myocardium. SFRR-Europe Meeting 2003. June 26-29, Ioannina, Greece. Free Radic. Res. Suppl., 2003;37:101.

TÓTH, A., KOVÁCS, K., DERES, P., PÁLFI, A., HANTÓ, K., HALMOSI, R., HIDEG, K., SÜMEGI, B., TÓTH, K. Impact of an antioxidant compound on the activity of the protective Akt pathway during myocardial ischemia-reperfusion. Heart Failure/International Society for Heart Research – European Section Meeting, 2003. June 22-24, Strasbourg, France, Eur. J. Heart Fail. 2003;2/1:58-9.

KOVACS K., TOTH, A., DERES, P., SUMEGI, B. Activation of the Akt kinase pathway by poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors during myocardial ischemia-reperfusion. European Society of Cardiology Congress 2003. August 31-September 3, Vienna, Austria, Eur. Heart J. Suppl. 2003;24:590.

PÁLFI A., TÓTH A., DERES P., HANTÓ K., RESKÓ Á., HALMOSI R., SZABADOS E., SZEREDAY Z., HIDEG K., SÜMEGI B., TÓTH K. Krónikus szívelégtelenség progressziójának lassítása poly(ADP-ribóz) polimeráz gátló vegyülettel patkányban Magyar Kardiológusok Társasága 2004. évi Tudományos Kongresszusa, 2004. május 12-15., Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2004;34:C33.

DERES P., HANTÓ K., KOVÁCS K., HALMOSI R., PÁLFI A., KISS GY., RESKÓ A., POZSGAY E., SÜMEGI B., TÓTH K. Akut kardiotoxicitás kivédése poli(ADP-ribóz) polimeráz gátló vegyülettel XXXIV. Membrán Transzport Konferencia, 2004. június 1-4, Sümeg, P-09, A43.

DERES P., KISS GY., POZSGAY E., TÓTH A., HALMOSI R., KOVÁCS K., PÁLFI A., HIDEG K., SÜMEGI B., TÓTH K. Prevention of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity by a novel antioxidant compound. Magyar Kardiológusok Társasága 2004. évi Tudományos Kongresszusa, 2004. május 12-15, Balatonfüred. Card. Hung. Suppl. 2004;34:C66.

Egyéb közlemények:

DERES P., KOLTAI K., KESZTHELYI ZS., TÓTH K. Speciális szempontok a metabolikusan érintett iszkémiás szívbetegek kezelésében. Háziorvos Továbbképző Szemle, 2003;8:503-7.

DERES P., TÓTH K. Az ischaemiás szívbetegség és a diabetes – speciális szempontok a gyógyszeres kezelésben. Diab. Hung. 2003;11:79-85.

ALEXY, T., MARTON, ZS., DERES, P., TOTH, A., TOTH, K. Biological rhythms of the circulatory system, blood pressure and heart rate variability. Acta Biol. Hung.

Impact factor: 0.416

BORONKAI, A., THAN, NG., MAGENHEIM, R., BELLYI, S., SZIGETI, A., DERES, P., HARGITAI, B., SUMEGI, B., PAPP, Z., RIHO, J. JR. Extremely high maternal alkaline phosphatase serum concentration with syncytiotrophoblastic origin. J. Clin. Pathol. 2005;58:72-6.

Impact factor: 2,966

DERES P., TÓTH K. „Az ISZB metabolikus megközelítése a bal kamra diszfunkciós és iszkémiás dilatált kardiomiopátiás koronáriabetegyek körében” Webdoki 2005. október 16.

<<http://www.webdoki.hu/cikk.php?cid=26407>>

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsőként szeretném köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Prof. Dr. Tóth Kálmánnak, a téma iránti elkötelezettségem megteremtéséért, támogatásáért, türelméért. Köszönöm Prof. Dr. Hideg Kálmánnak, hogy kutatócsoportjával együttműködhettünk, és a kísérleti szereket számunkra biztosította. Tanácsaiért, kutatási eszközök és anyagok biztosításáért, valamint intézetének nagyszerű kollektívájáért Prof. Dr. Sümei Balázsnak szeretnék köszönetet mondani.

Hálás vagyok továbbá közvetlen munkatársaimnak, Dr. Halmosi Róbertnek, Dr. Tóth Ambrusnak, Dr. Kovács Krisztinának, Dr. Pálfi Anitának, Dr. Hantó Katalinnak, Dr. Kiss Gyöngyinek, akik kutatásaimban közvetlen és nélkülözhetetlen segítséget nyújtottak.

A munkám kapcsán is hálával és szeretettel gondolok Dr. Ósz Erzsébet NMR operátorra. Meg kívánom köszönni mind gyakorlati, mind elméleti munkáját Dr. Berente Zoltán NMR operátornak.

A sok-sok segítségért itt is köszönetet szeretnék mondani a Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet dolgozóinak, Gyöngyinek, Heninek, Irmának, Girán Lacinak, Berci bátyónak.

Külön köszönetemet szeretném e sorokban jelezni családomnak, akik fáradtságot, anyagi áldozatot nem kímélve támogatták tanulmányaimat, valamint a rengeteg türelmet és kitartást, mely e dolgozat megszületéséhez szükségeltett.