

Szegedi Tudományegyetem
Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar
Multidiszciplináris Orvostudományok Doktori Iskola

**Új kardioprotektív stratégiák alkalmazása a szívinfarktus
kezelésében: A MAO-B génkiütés és a mikroRNS-125b*
terápia eredményei**

Doktori (Ph.D.) értekezés összegzése

Szabados Tamara

Témavezető: Dr. Bencsik Péter



Szeged

2025

PUBLIKÁCIÓK

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények

- I. Heger J*, **Szabados T***, Brosinsky P, Bencsik P, Ferdinandy P, Schulz R. Sex Difference in Cardioprotection against Acute Myocardial Infarction in MAO-B Knockout Mice In Vivo. International Journal of Molecular Sciences. **2023**, Mar 29; 24(7):6443. doi: 10.3390/ijms24076443

IF.: 4,9; Q1

- II. **Szabados T***, Makkos A*, Ágg B, Bencsik B, Brenner GG, Szabó M, Váradi B, Vörös I, Gömöri K, Varga VZ, Görbe A, Bencsik P*, Ferdinandy P*. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous miR-125b* mimic: cardioprotection in a mouse model of acute myocardial infarction. British Journal of Pharmacology. **2025**, Jan;182(2):432-450. doi: 10.1111/bph.17345.

IF.: 7,7; D1

* A szerzők egyenlő mértékben járultak hozzá a publikációhoz.

Az értekezés alapjául szolgáló közlemények impakt faktora: 12,6

Az értekezéshez közvetlenül nem kapcsolódó közlemények:

- I. Subantimicrobial Dose Doxycycline Worsens Chronic Arthritis-Induced Bone Microarchitectural Alterations in a Mouse Model: Role of Matrix Metalloproteinases? Horváth Á, Botz B, Kiss T, Csekő K, Kiss I, Felinger A, **Szabados T**, Kenyeres É, Bencsik P, Mócsai A, Ferdinandy P, Helyes Z., 2019 Mar 20;10:233. doi: 10.3389/fphar.2019.00233. eCollection 2019. PMID: 30949048, Frontiers in Pharmacology

IF.: 4,23; Q1

- II. The impact of age on cardiac function and extracellular matrix component expression in adverse post-infarction remodeling in mice.

Nagel F, Santer D, Stojkovic S, Kaun C, Schaefer AK, Krššák M, Abraham D, Bencsik P, Ferdinandy P, Kenyeres E, **Szabados T**, Wojta J, Trescher K, Kiss A, Podesser BK., 2019 May;119:193-202. doi: 10.1016/j.exger.2019.02.008. Epub 2019 Feb 11. PMID: 30763602, Experimental Gerontology

IF.: 3,37; Q1

- III. Myocardial ischaemia reperfusion injury and cardioprotection in the presence of sensory neuropathy: Therapeutic options.
Bencsik P, Gömöri K, **Szabados T**, Sántha P, Helyes Z, Jancsó G, Ferdinandy P, Görbe A., 2020 Dec;177(23):5336-5356. doi: 10.1111/bph.15021.; PMID: 32059259, British Journal of Pharmacology
IF.: 8,74; D1
- IV. Capsaicin-Sensitive Sensory Nerves and the TRPV1 Ion Channel in Cardiac Physiology and Pathologies.
Szabados T[†], Gömöri K[†], Pálvölgyi L, Görbe A, Baczkó I, Helyes Z, Jancsó G, Ferdinandy P, Bencsik P., 2020 Jun 23;21(12):4472. doi: 10.3390/ijms21124472. PMID: 32586044, International Journal of Molecular Sciences
IF.: 5,92; Q1
- V. Chronic treatment with rofecoxib but not ischemic preconditioning of the myocardium ameliorates early intestinal damage following cardiac ischemia/reperfusion injury in rats.
László SB, Lázár B, Brenner GB, Makkos A, Balogh M, Al-Khrasani M, Hutka B, Mohammadzadeh A, Kemény Á, László T, Scheich B, **Szabados T**, Kenyeres É, Giricz Z, Bencsik P, Varga ZV, Novák J, Helyes Z, Ferdinandy P, Gyires K, Zádori ZS., 2020 Aug;178:114099. doi: 10.1016/j.bcp.2020.114099. Epub 2020 Jun 12. PMID: 32540483, Biochemical Pharmacology
IF.: 5,86; Q1
- VI. Cardioprotective Effect of Novel Matrix Metalloproteinase Inhibitors.
Gömöri K, **Szabados T**, Kenyeres É, Pipis J, Földesi I, Siska A, Dormán G, Ferdinandy P, Görbe A, Bencsik P.; 2020 Sep 23;21(19):6990. doi: 10.3390/ijms21196990.; PMID: 32977437, International Journal of Molecular Sciences
IF.: 5,92; Q1
- VII. Matrix Metalloproteinases Repress Hypertrophic Growth in Cardiac Myocytes.
Euler G, Locquet F, Kociszewska J, Osygus Y, Heger J, Schreckenberger R, Schlüter KD, Kenyeres É, **Szabados T**, Bencsik P, Ferdinandy P, Schulz R., 2021 Apr;35(2):353-365. Epub 2021 Jan 5.; PMID: 33400052, Cardiovascular Drugs and Therapy
IF.: 3,95; Q2
- VIII. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase G oxidation contributes to impaired sarcomeric proteins in hypertrophy model.
Gömöri K, Herwig M, Budde H, Hassoun R, Mostafi N, Zhazykbayeva S, Sieme M, Modi S, **Szabados T**, Pipis J, Farkas-Morvay N, Leprán I, Ágoston G, Baczkó I, Kovács Á, Mügge A, Ferdinandy P, Görbe A, Bencsik P, Hamdani N. 2022 Aug;9 Epub 2022 May 18. PMID: 35584900 ; ESC Heart Failure,
IF.: 3,8; Q2

- IX. Proprotein Convertase Subtilisin Kexin Type 9 (PCSK9) Deletion but Not Inhibition of Extracellular PCSK9 Reduces Infarct Sizes Ex Vivo but Not In Vivo.
Schreckenber R, Wolf A, **Szabados T**, Gömöri K, Szabó IA, Ágoston G, Brenner G, Bencsik P, Ferdinandy P, Schulz R, Schlüter KD. 2022 Jun 10, PMID: 35742954; International Journal of Molecular Sciences
IF.: 5,6; Q1
- X. Altered Cellular Protein Quality Control System Modulates Cardiomyocyte Function in Volume Overload-Induced Hypertrophy.
Gömöri K, Herwig M, Hassoun R, Budde H, Mostafi N, Delalat S, Modi S, Begovic M, **Szabados T**, Pipis J, Farkas-Morvay N, Leprán I, Kovács Á, Mügge A, Ferdinandy P, Görbe A, Bencsik P, Hamdani N.; Antioxidants (Basel). 2022 Nov 8;11(11):2210; PMID: 36358581
IF.: 7,0; Q1
- XI. Facile preparation of nickel-poor layered double hydroxides from mechanochemically pretreated gibbsite with a variety of interlamellar anions and their use as catalyst precursors for CO₂ hydrogenation.
Márton Szabados, **Tamara Szabados**, Róbert Mucsi, András Sápi, Zoltán Kónya, Ákos Kukovecz, István Pálinkó, Pál Sipos; Volume 157, January 2023, 112010, Materials Research Bulletin
IF.: 5,3; Q2
- XII. Directed thermocatalytic CO₂ reduction over NiAl₄ layered double hydroxide precursors – activity and selectivity control using different interlayer anions
Márton Szabados, **Tamara Szabados**, Róbert Mucsi, Kornélia Baán, János Kiss, Ákos Szamosvölgyi, András Sápi, Zoltán Kónya, Ákos Kukovecz, Pál Sipos; Volume 75, September 2023, 102567, Journal of CO₂ Utilization
IF.: 7,2; D1
- XIII. Cardioprotective efficacy of limb remote ischemic preconditioning in rats: discrepancy between meta-analysis and a three-centre in vivo study.
Sayour NV, Brenner GB, Makkos A, Kiss B, Kovácsházi C, Gergely TG, Aukrust SG, Tian H, Zenkl V, Gömöri K, **Szabados T**, Bencsik P, Heinen A, Schulz R, Baxter GF, Zuurbier CJ, Vokó Z, Ferdinandy P, Giricz Z. 2023 Jan 31;cvad024. doi: 10.1093/cvr/cvad024. Online ahead of print. PMID: 36718529, Cardiovascular Research
IF.: 10,4; D1
- XIV. Identification of New, Translatable ProtectomiRs against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury and Oxidative Stress: The Role of MMP/Biglycan Signaling Pathways.
Szabados T, Molnár A, Kenyeres É, Gömöri K, Pipis J, Pósa B, Makkos A, Ágg B,

Giricz Z, Ferdinandy P, Görbe A, Bencsik P. 2024 May 30;13(6):674. doi: 10.3390/antiox13060674. PMID: 38929113, Antioxidants (Basel)

IF.: 6,6; Q1

- XV. Inhibition of MMP2 activity mitigates N-omega-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)-induced right heart failure.

Schreckenberger R, Schulz R, Itani N, Ferdinandy P, Bencsik P, **Szabados T**, Rohrbach S, Niemann B, Schlüter KD. 2024 Oct;76:103308. doi: 10.1016/j.redox.2024.103308. Epub 2024 Aug 15. PMID: 39167912, Redox Biology

IF.: 11,9; D1

- XVI. Effects of SZV-2649, a new multiple ion channel inhibitor mexiletine analogue.

Mohammed ASA, Naveed M, **Szabados T**, Szatmári I, Lőrinczi B, Mátyus P, Czompa A, Orvos P, Husti Z, Hornyik T, Topal L, Déri S, Jost N, Virág L, Bencsik P, Baczkó I, Varró A., 2024 Oct 5;14(1):23188. doi: 10.1038/s41598-024-73576-5. PMID: 39369049, Scientific Reports

IF.: 3,9; Q1

- XVII. IMproving Preclinical Assessment of Cardioprotective Therapies (IMPACT): a small animal acute myocardial infarction randomized-controlled multicenter study on the effect of ischemic preconditioning

Hernandez-Resendiz S, Vilskersts R, Aluja D, Andreadou I, Bencsik P, Dambrova M, Efentakis P, Gao F, Giricz Z, Inserte J, Kelly-Laubscher R, Kiss A, Krieg T, Kwak BR, Lecour S, Lopaschuk G, Mączewski M, Waszkiewicz M, Oknińska M, Pagliaro P, Podesser B, Prag HA, Ruiz-Meana M, **Szabados T**, Zuurbier CJ, Ferdinandy P, Hausenloy DJ. 2025 Apr;120(2):335-346. doi: 10.1007/s00395-025-01102-3. Epub 2025 Mar 12. PMID: 40072549, Basic Research in Cardiology

IF.: 8,0; D1 (2024)

Az összes közlemény kumulatív impakt faktora: 120,29

BEVEZETÉS

A szívinfarktus felismerésének és meghatározásának története

A szív- és érrendszeri betegségek a vezető halálokok világszerte. Az akut szívinfarktus (AMI), amely gyakran akut koronária szindróma részeként jelentkezik, már a 17. század óta kutatott terület. Pierre Chirac 1698-ban kutyakísérlettel mutatta ki először az infarktust. 1861-ben Malmsten leírta a trombózis és infarktus kapcsolatát, 1896-ban George Dock pedig egy előzetesen diagnosztizált, majd boncolással igazolt miokardiális infarktus esetet publikált. Willem Einthoven EKG-fejlesztése a 20. század elején új távlatokat nyitott az infarktus diagnosztizálásában. A WHO csak az 1950–70-es években alkotta meg az első egységes definíciót, főként EKG alapján. Később Maroko és munkatársai bevezették az oxigénellátás és -igény egyensúlyának fogalmát az iszkémia kapcsán, mely mai napig a legelfogadottabb meghatározás. Ma az „egyetemes definíció” szerint akkor beszélhetünk szívinfarktusról, ha troponin-szint emelkedése és/vagy csökkenése mellett fizikális tünetek (pl. tipikus mellkasi szorító fájdalom) vagy egyéb diagnosztikus jelek (pl. ST-eleváció az EKG-n) állnak fenn. Preklinikai kutatásokban a definíciók alkalmazása azonban gyakran ennél rugalmasabb.

Kezelési lehetőségek és a kardioprotekció kihívásai

A kezelés célja az iszkémia gyors megszüntetése. Az elsődleges módszer a PCI (perkután koronária intervenció), amit a tünetek megjelenésétől számítva 120 percen belül kell elvégezni a megfelelő hatásossághoz. Ha ez nem lehetséges, fibrinolízis alkalmazandó. Az akut ellátás ellenére a kórházi halálozási arány továbbra is magas maradt, valamint, a túlélőknél megemelkedett a szívizom elhalása miatt bekövetkező súlyos krónikus következmény, a szívelégtelenség rizikója. A jelenlegi stratégiák korlátai rávilágítanak a kardioprotektív beavatkozások – azaz a szívizom károsodását csökkentő beavatkozások – szükségességére. Bár különböző farmakológiai és nem farmakológiai módszerek ígéretesnek bizonyultak állatkísérletekben, a legtöbbjük klinikai alkalmazásában kudarcot vallott, valószínűleg az iszkémiás szívbetegségek mechanizmusának összetettsége és a nem megfelelő preklinikai modellek (fiatal állatok, társbetegségek és egyéb gyógyszeres kezelések hiánya) miatt.

Az oxidatív stressz és a monoamino-oxidázok szerepe az iszkémia/reperfúziós károsodásban

A reperfúzió során keletkező oxidatív stressz önmagában is káros. A mitokondriumok, különösen az elektrontranszport lánc és az olyan enzimek, mint a monoamino-oxidázok (MAO-A és MAO-B) révén, a reaktív oxigénszármazékok (ROS) fő forrásai. A MAO-k a mitokondriumok külső membránjában található flavoproteinek, amelyek részt vesznek a neurotranszmitterek és más biogén aminok (pl. étrendi tiraminok) oxidatív dezaminációjában, miközben hidrogén-peroxidot (H_2O_2), aldehideket és ammóniát termelnek melléktermékként. Tanulmányok kimutatták, hogy a MAO aktivitás jelentősen emelheti a ROS szintjét iszkémia-reperfúzió (I/R) során. A MAO enzimek gátlása állatkísérletekben csökkentette az infarktus méretét és a gyulladást akut szívinfarktust követően. Egy német kutatócsoport kimutatta, hogy egy Langendorff-perfundált, globális iszkémiát alkalmazó egérszív modellben a MAO-B kardiomiocita-specifikus deléciója az infarktus méretének csökkenéséhez vezetett, ami a MAO-B aktivitás fontos szerepét jelzi az akut reperfúziós károsodásban. Azonban a kardiomiocita-specifikus MAO-B deléció infarktus méretre gyakorolt hatását *in vivo* akut miokardiális infarktus modellben még soha nem vizsgálták.

A mikroRNS-ek és a miR-125b* szerepe a kardioprotekcióban

A mikroRNS-ek (miRNS, miR) rövid, nem kódoló RNS-ek, melyek génexpressziót szabályoznak. Terápiásan alkalmazhatók gátló (antagomiR) vagy utánzó (mimik) formában. A mikroRNS-ek számos biológiai folyamat kulcsfontosságú szabályozói, ideértve az embrionális fejlődést, a sejtek szaporodását és differenciálódását, a programozott sejthalált (apoptózis) és a tumorok kialakulását. A szív- és érrendszerben a mikroRNS-ek szerepet játszanak a szívműködés növekedésének és működésének szabályozásában, a szívritmus fenntartásában, a plakkok kialakulásának modulálásában, a lipidanyagcserében és az angiogenezis elősegítésében. A mikroRNS-ek az oxidatív stressz szabályozásában is részt vesznek és hozzájárulhatnak a sejtvédő mechanizmusokhoz. A mikroRNS-ek megváltozott expressziója számos betegséggel és patofiziológiai állapottal hozható összefüggésbe. Az onkológia mellett a legszélesebb körben kutatott terület a kardiovaszkuláris terület, beleértve a hiperkoleszterinémiát, az ateroszklerózist, a szívműködés átalakulását (remodelling) és az I/R károsodást.

A miR-125 család kiemelt szerepet játszik számos betegségben, köztük a szívbetegségekben. Korábbi kutatásaink alapján I/R során csökken a miR-125b* miokardiális expressziója, míg a

kardioprotektív beavatkozások (pre- és poszt kondicionálás) megőrzik szintjét. Ezenfelül kutatócsoportunk korábban a miR-125b* citoprotektív hatását szimulált I/R-károsodásnak kitett újszülött patkány szívizomsejt-tenyészetben is igazolta, ami arra utal, hogy terápiás potenciállal rendelkezik az elhalt terület méretének és a szívizom károsodásának csökkentésében.

CÉLKITŰZÉSEK

Több évtizednyi intenzív kutatás ellenére sincs továbbra sem olyan törzskönyvezett gyógyszer, mely képes lenne az infarktus területét csökkenteni és ezzel védeni a szívet a iszkémia/reperfúziós károsodással szemben. Ezért a kardioprotektív mediátorok és célmolekulák azonosítása gyógyszerfejlesztési szempontból kiemelt fontosságú. Ennek megfelelően doktori munkám célja két különböző kardioprotektív megközelítés vizsgálata volt az infarktus méret csökkentésére *in vivo* egér modellekben. Két párhuzamos vizsgálatot végeztünk az alábbi hipotézisek tesztelésére:

- 1) A MAO-B enzim szívizom-specifikus génkiütése kardioprotektív hatást eredményezhet akut iszkémia/reperfúziós károsodással szemben az infarktus méret csökkentése által, *in vivo* egérmodellben. Ez a kutatás hozzájárulhat a szelegilin, egy szelektív MAO-B gátló gyógyszer indikációs területének esetleges bővítéséhez, azaz újrapozicionálásához.
- 2) A miR-125b* mimic exogén, szisztémás alkalmazása kardioprotektív hatást eredményezhet akut iszkémia/reperfúziós károsodással szemben az infarktus méret csökkentése által, *in vivo* egérmodellben. Ehhez kapcsolódóan a miR-125b* gyógyszerjelölt molekula farmakokinetikai és farmakodinámiás tulajdonságainak jellemzése is céljaink között szerepelt.

ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Valamennyi állatkísérletünket az Európai Unió által kiadott, a laboratóriumi állatok gondozásáról és felhasználásáról szóló irányelveknek (2010/63/EU) megfelelően végeztük, az

Állatkísérleti Tudományos Etikai Tanács engedélyével (engedélyszám: XXVIII./171/2018) valamint a Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal és a Csongrád-Csanád, valamint a Pest Vármegyei Kormányhivatal Állategészségügyi Igazgatóság engedélyével (engedélyszám: PE/EA/1784-7/2017).

Állatok

Az egereket az Európai Unió előírásoknak megfelelően tartottuk egyedileg szellőztetett ketrecekben (Sealsafe IVC system, Tecniplast S.p.a., Varese, Olaszország). Az állatokat 12 óra fény / 12 óra sötétség ciklusban tartottuk, állandó hőmérsékletű szobában (22 ± 2 °C) és szabad hozzáférésük volt standard laboratóriumi táphoz vagy standard rágcsálóeledelhez, amelyet 2% szacharózzal és 0,4 g/kg tamoxifen-citráttal egészítettek ki a MAO-B KO egerek és vad típusú (VT) kontrolljaik esetében, valamint szabadon hozzáférhettek szűrt csapvízhez. Az állatokat a kísérletek megkezdése előtt legalább 5 napig akklimatizáltuk. Az egerek alá helyezett almot legalább hetente egyszer cseréltük.

***In vivo* protokoll a szívizom-specifikus MAO-B gén kiütés hatásának vizsgálatához**

MAO-B gén kiütését tamoxifennel kiegészített rágcsálótáp két héten át történő adagolásával indukáltuk, amelyet egy 10 hetes várakozási periódus követett, ez idő alatt az állatok normál rágcsálótápot kaptak. A 12 hetes előkezelési időszak után akut miokardiális infarktust indukáltunk 45 perces koszorúér-elzárással és azt követő 120 perces reperfúzióval modellezve, MAO-B génkiütött (MAO-B KO) és a megfelelő genetikai háttérű vad típusú kontroll egerek felhasználásával. A reperfúziós periódust követően meghatároztuk az infarktusméretet Evans-kék és trifenil-tetrazolium-klorid (TTC) kettős festéssel.

MiR-125b* vizsgálatainak *in vivo* protokolljai

Exogén miR-125b* mimik feltételezett kardioprotektív hatását két, ún. proof-of-concept típusú kísérletsorozatban vizsgáltuk (PoC-1 és -2), mely során akut miokardiális infarktust hoztunk létre 45 perces koszorúér-elzárás és azt követő 24 órás reperfúzió által C57Bl/6 vad típusú egereken. Az egereknek egységesen 10 µg miRNS-kezelőanyagot vagy vivőanyagot (neutrális lipid emulzió) adtunk 300 µL térfogatban az iszkémia 10. percében, intravénásan lassú bolus injekcióként. A miR-125b* mimik kezelés mellett 2 kontroll miRNS kezelést is megvizsgáltunk, scrambled (kevert sorrendű) miR-125b* (PoC-1) és cel-miR-239b (PoC-2) kontrollokat. A scrambled miRNS a miR-125b* szekvenciájának véletlenszerűen összekevert nukleotid sorrendje. A cel-miR-239b miRNS a *Caenorhabditis elegans* fonalféregfajból származó, az irodalomban és a kereskedelemben általánosan elterjedt negatív kontroll miRNS.

A kardioprotekció vizsgálatához a reperfúziós periódust követően meghatároztuk az infarktus méretét mint elsődleges végpontot.

A PoC vizsgálatokat megelőzően farmakokinetikai és farmakodinámiás vizsgálatokat végeztünk. Az egereket háromféleképpen kezeltük, vagy 10 µg scrambled miRNS-sel, vagy 10 µg miR-125b* mimikkel, vagy vivőanyaggal (neutrális lipid emulzió). A kezelést követően 1, 2, 4, 8 és 24 órával megmértük a miR-125b* expresszióját a vérplazmában és különböző szövetekben (szív, máj és vese). Valamint megmértük a miR-125b* 5 kiválasztott célgénjének (target) miokardiális expresszióját (Cyclin A2, eukarióta elongációs faktor 2 kináz, feszültségfüggő kalciumcsatorna, béta 2 alegység, lizin (K)-specifikus demetiláz 6A, Disabled 2, mitogén-reszponzív foszfoprotein) kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakcióval, a gyártó utasításai szerint.

***In vivo* akut miokardiális infarktus protokoll (MAO-B KO és miR-125b* kísérletek)**

Az állatokat intraperitoneálisan adott 90 mg/ttkg dózisú nátrium-pentobarbitál injekcióval altattuk. Az altatás mélységét a farok vagy a mancsok megcsípésével ellenőriztük, és szükség esetén fél adag pentobarbitállal tartottuk fenn a mély altatást. A műtétek alatt az egerek testhőmérsékletét és a testfelszíni EKG-jukat monitoroztuk és rögzítettük. Az egereket intubáltuk, majd a testtömegüknek megfelelő frekvenciájú és térfogatú szobalevegővel lélegeztettük. Ezt követően az egerek mellkasát a 4. és 5. borda között megnyitottuk, a perikardiumot eltávolítottuk és a szív bal leszálló koronáriáját (LAD) a szív hossz tengelyének középvonala magasságában egy 8-0-s Prolene fonallal aláöltöttük. A fonal alá egy rövid PE10 kanült helyeztünk, mely felett a fonalat megcsomóztunk, majd a fonal végeit egy speciális mellkasterpesztőhöz rögzítettük. A koronária elszorításához a mellkasterpesztőt kinyitottuk, mely a fonalat megfeszítve elzárta az aláöltött koronáriát. Mindkét kísérletsorozatban 45 perc iszkémiát indukáltunk, melyet a MAO-B KO kísérletsorozatban 120 perc reperfúzió, a miR-125b* kísérletsorozatban 24 óra reperfúzió követett. A reperfúzió indukálásához a mellkasterpesztőt összezártuk és a csomót kilazítottuk, így az artéria leszorítása megszűnt és az elzárt ér ellátási területe reperfundálódott. Az iszkémia jelenlétét az EKG felvételen megjelenő ST-eleváció és az iszkémiás kamrai terület elhalványulása által monitoroztuk.

A miokardiális infarktus méretének meghatározása

A reperfúzió végét követően a koronáriát újból elszorítottuk és 0,5 mL 2%-os Evans-kék oldatot injektáltunk a keringésbe, meghatározva ezzel az infarktus által érintett rizikó területet. A szívet a mellkasból kimetszettük, a bal kamrát izoláltuk, majd 1 mm vastagságú szeletekre vágtuk. A

szeleteket foszfátpufferben mostuk majd 1%-os trifenil-tetrazolium-klorid (TTC) festékben inkubáltuk 10 percig. A TTC egy redox indikátor, melyet az élő sejtek dehidrogenáz enzimei redukálnak, amely ezáltal vörös színű formazán csapadékot képez. Ezzel szemben az elhalt sejtek színtelenek vagy halványfehérek maradnak, ami az infarktus során elhalt szöveteket mutatja ki. Ezt követően a szív szeleteket digitalizáltuk és két független értékelő vak módon, planimetrikusan kiértékelte az InfarctSize® szoftver segítségével.

Statisztikai elemzések

Minden statisztikai elemzést a GraphPad Prism szoftver segítségével végeztük. Az adatokat átlag $\pm$ standard hiba (SEM) formában fejeztük ki. Az iszkémia által érintett terület és az infarktus során elhalt terület nagyságát egyutas varianciaanalízissel (one-way ANOVA) elemeztük, Fisher LSD vagy Dunnett-féle post hoc tesztekkel kiegészítve. A farmakokinetikai és farmakodinámiás adatokat nem elemeztük statisztikai módszerekkel az alacsony elemszám (egyes csoportokban $n < 5$) okozta fals interpretálás elkerülése végett, ehelyett csak a nyilvánvalóan számottevő változásokat emeltük ki. A halálozási adatokat khi-négyzet próbával elemeztük. A statisztikai szignifikanciát $p < 0,05$ értéknél fogadtuk el.

EREDMÉNYEK

Kardioprotektív hatás infarktusméret csökkenés révén kardiomiocita-specifikus MAO-B KO egerekben és miR-125b* kezelést követően

Akut miokardiális infarktust 45 perces koszorúér-elzárással és azt követő vagy 120 perces (MAO-B KO kísérletsorozat) vagy 24 órás reperfúzió (miR-125b* „proof of concept” vizsgálatok) kiváltásával modelleztük. Az iszkémia által érintett és az infarktus során elhalt szívizom területek nagyságát (infarktus méret) a reperfúziót követően Evans-kék és TTC kettős festési eljárással határoztuk meg. A bal kamra azon része, amelyet az iszkémia a koszorúér-elzárás következtében érintett (area at risk), mindkét vizsgálatban hasonló méretű volt a megfelelő kísérleti csoportok között.

A vad típusú (VT) hím egerek esetében szignifikánsan nagyobb infarktusméretet figyeltünk meg, mint a VT nőstény egereknél. A MAO-B enzim kardiomiocita-specifikus kiütése csökkentette az infarktus során elhalt szívizom méretét a hím egerek esetében, azonban a nőstény egerek esetében nem befolyásolta az infarktusméretet. Érdekes módon, a hím MAO-B KO egerek infarktusmérete hasonló volt a nőstény VT és KO egerekéhez.

A miR-125b* vizsgálat PoC-1 kísérletsorozatában egy statisztikailag nem szignifikáns, tendenciaszerű kardioprotektív hatást figyeltünk meg mind a scrambled miRNS, mind a miR-125b* mimik esetén. Feltételezésünk szerint egy megfelelő negatív kontroll használata mellett kimutatható lehetne a miR-125b* védő hatása. Így a kísérleteket megismételtük, a scrambled miRNS-t felváltva a cel-miR-239b, újonnan választott negatív kontroll miRNS kezeléssel. Minden egyéb kísérleti paraméter változatlan maradt. A PoC-2 eredményeként kimutattuk, hogy a miR-125b* kezelés szignifikánsan csökkenti az infarktusméretet, míg a cel-miR-239b nem befolyásolja azt (így megfelelő negatív kontroll) a vivőanyaggal kezelt csoporthoz viszonyítva.

MAO-B KO kísérletek összhálózása

A VT és a MAO-B KO egerek között nem volt szignifikáns különbség az összmortalitás tekintetében. Azonban, ha az összes hím egér mortalitását az összes nőstény egérrel hasonlítjuk össze, a hímeknél tendenciaszerűen magasabb mortalitás volt megfigyelhető a nőstényekhez képest ($p=0,103$, Fisher-féle egzakt teszt).

miR-125b* proof of concept típusú kísérletek összhálózása

A miRNS-kezelések, beleértve a kontroll miRNS-eket is, sem a PoC-1, sem a PoC-2 során nem befolyásolták a halálózást.

MiR-125b* exploratív farmakokinetikája

A miR-125b* mimic farmakológiáját és szöveti disztribúcióját egyszeri intravénás 10 μ g miRNS beadását követően vizsgáltuk. A kezelést követően 1, 2, 4, 8 és 24 órával vért és szövetmintákat (szív, máj és vese) vettünk. A miR-125b* plazmában mért relatív expressziós szintje jelentősen megemelkedett a beadást követő 1 és 2 órát követően, kardiális szintje pedig szintén jelentős emelkedést mutatott 1 órával a beadást követően a vivőanyaggal kezelt csoporthoz viszonyítva. Más időpontokban nem volt számottevő különbség. A scrambled miRNS egyik időpontban sem befolyásolta a miR-125b* expresszióját. A májban mért relatív miR-125b* expresszió a beadást követően 2 órával mutatott megemelkedett szintet. A vesében mért miR-125b* expresszió viszonylag nagy szórást mutatott minden időpillanatban: 1 óránál emelkedni látszott, míg 2 óránál csökkenés volt megfigyelhető a vivőanyaggal kezelt csoporthoz képest. A scrambled miRNS kezelés nem befolyásolta a hepatikus miR-125b* expressziót, míg a vesében szintén nagy szórást mutatott a kezelés.

A miR-125b* molekuláris farmakodinámiája

A miR-125b* mimik farmakodinámiáját a célgénjeinek (targetek) expressziós változásai által vizsgáltuk. Ehhez kiválasztottunk 5 lehetséges targetet (in silico target predikciós eljárással), melyek miokardiális expresszióját 10 µg miR-125b* egyszeri intravénás beadását követően 1, 2, 4, 8 és 24 órát követően mértük meg. A Ccna2, Eef2k és Cacnb2 gének expressziója jelentősen lecsökkent 8 órával a miRNS kezelést követően, az azonos időpontú vivőanyaghoz viszonyítva. Ezzel szemben a Kdm6a és Dab2 mRNS szintjeiben nem volt jelentős különbség a csoportok között egyik időpontban sem. A scrambled miRNS kisebb mértékben és nagyobb szórást mutatva befolyásolhatta a Ccna2, Eef2k és Cacnb2 gének expresszióját.

A miR-125b*, a scrambled miRNS és a cel-miR-239b prediktált célgénjei és azok hasonlóságai

A miR-125b* PoC-1 során azt a meglepő eredményt kaptuk, hogy a negatív kontrollként alkalmazott scrambled miRNS rendelkezik enyhe kardioprotektív hatással, mely feltételezésünk szerint elfedte a miR-125b* valós védő hatását. Ezért a miRNS-ek vezető és kísérő szálainak (guide és passenger strand) szekvenciája alapján in silico target predikciós elemzést végeztünk, mind a miR-125b*, a scrambled miRNS és a PoC-2 kísérletsorozathoz újonnan választott, feltételezhetően megfelelőbb negatív kontrollként viselkedő cel-miR-239b-vel. Ezt követően megvizsgáltuk a prediktált target gének átfedéseit. A miR-125b* esetén 10.739 target gént, a scrambled miRNS esetén 11.086 target gént, a cel-miR-239b esetén pedig 7.778 target gént azonosítottunk. A scrambled miRNS és a miR-125b* 7.223 közös, átfedő génnel, míg a cel-miR-239b és a miR-125b* 5 320 átfedő génnel rendelkezik. Általánosságban elmondható, hogy minél kevesebb átfedő génje van a kontrollnak a vizsgált miRNS-sel, annál kisebb az esély a nem kívánt hatásokra, valamint a kisebb átfedés arra utalhat, hogy a két szekvencia szabályozó mechanizmusai között kisebb a hasonlóság. Ugyanakkor nem zárható ki, hogy a kontroll miRNS nem átfedő target génjei között megtalálható olyan gén, amely szabályozásán keresztül kifejtheti a kontroll miRNS a tőle nem várt sejtvédő hatást.

MEGBESZÉLÉS

Összefoglalás

A szívizom iszkémia-reperfúziós (I/R) károsodása, és a szívizom elhalása miatt bekövetkező súlyos akut (kamrai ritmuszavarok, kardiogén shock) és krónikus (szívelégtelenség) következmények világszerte a vezető halálokok közé tartoznak. Azonban jelenleg nem áll

rendelkezésre hatékony, a klinikai gyakorlatban is alkalmazott gyógyszer, amely képes lenne csökkenteni szívinfarktus következtében fellépő szívizomelhalást.

Doktori munkám két olyan kardioprotektív megközelítés vizsgálatára összpontosított, amelyek célja a szívinfarktus során elhaló szívizom méretének csökkentése *in vivo* akut szívinfarktus kisállat modelljében. Az első kardioprotektív megközelítés a szívizomspecifikus MAO-B génkiütés szívinfarktusra gyakorolt hatását vizsgálta. A MAO-B enzim ismerten hozzájárul az oxidatív stressz kialakulásához (I/R) során. A vizsgálat során elsőként mutattuk be az irodalomban, hogy a szívizomspecifikus MAO-B génkiütés, és ebből adódó MAO-B enzim hiánya (és feltehetően annak farmakológiai gátlása is) kardioprotektív hatással bír, képes csökkenteni az infarktus méretét. Azt is kimutattuk, hogy ez a védőhatás nemek szerint eltérő, hímnem specifikus; a nőstény egerekben a szív MAO-B enzimének hiánya nem befolyásolta az infarktus méretét. A második kardioprotektív célú vizsgálat egy többcélpontú megközelítés volt: intravénásan adagolt exogén miR-125b* mimik szívinfarktusra gyakorolt hatását vizsgáltuk akut szívinfarktus és azt követő reperfúziós modellben, két ún. proof-of-concept (PoC) típusú kísérletsorozatban. Elsőként mutattuk be, hogy a miR-125b* mimik kardioprotektív hatású, képes csökkenteni az infarktus méretét; valószínűleg több gén, köztük pl. a Cyclin A2 (Ccn2), Eukarióta elongációs faktor 2 kináz (Eef2k), és a feszültségfüggő kalciumcsatorna, béta 2 alegység (Cacn2) szabályozásán keresztül. Emellett leírtuk a miR-125b* mimik intravénás adagolásának néhány farmakokinetikai és farmakodinámiai jellemzőjét is.

MAO-B KO kísérletsorozat

Nem volt megfigyelhető jelentős különbség a fenotípusos jellemzőkben – beleértve a testtömeget, szívtömeget, műtét alatti halálozást és szívfrekvenciát – a MAO-B KO és a vad típusú (VT) hím és nőstény állatok között. Ezek az eredmények összhangban állnak Heger és munkatársai korábbi megfigyeléseivel, akik szintén nem találtak különbséget a bal kamra méreteiben ugyanezen genetikai törzs használatával. Heger és munkatársai voltak az elsők, akik kimutatták, hogy a szívspecifikus MAO-B delécio kardioprotektív hatással bír *ex vivo* Langendorff perfúziós modell alkalmazásával, melyben 45 perc globális iszkémiát és 120 perc reperfúzió követően jelentős infarktusméret-csökkenést figyeltek meg a MAO-B KO egereknél a vad típusú kontrollhoz képest.

Ezekre az eredményekre építve tovább vizsgáltuk a MAO-B delécio kardioprotektív hatását egy *in vivo* egér akut szívinfarktus modellben. Eredményeink azt mutatták, hogy a védőhatás

nemre specifikus: az infarktusméret-csökkenés kizárólag hím MAO-B KO egerekben volt megfigyelhető, nőstényekben nem. Az iszkémia által érintett terület (area at risk) arányai egyik csoportban sem különböztek statisztikailag, ami azt jelzi, hogy a bal kamrai I/R sérülés mértéke összehasonlítható volt. Továbbá azt is megfigyeltük, hogy a nőstény VT egerek infarktusmérete kisebb volt, mint hím társaiké. Feltételezésünk szerint ez a nőstény VT egerekben megfigyelt kisebb infarktusméret az ösztrogén kardioprotektív hatásának tulajdonítható, amelyet a MAO-B delécio nem fokozott tovább. Fontos megjegyezni, hogy kísérleteink fiatal felnőtt egereken történtek (~18–20 hetes korban), ami a nőstények esetében a reprodukív életkornak felel meg. Számos preklinikai és klinikai tanulmány, valamint összefoglaló cikk tárgyalja a nemi különbségeket a szívizom iszkémiás toleranciájában, és az ösztrogén kardioprotektív szerepét ebben a folyamatban.

A MAO-B KO egerekben megfigyelt infarktusméret-csökkenés feltételezésünk szerint a mitokondriális ROS termelés csökkenésének köszönhető. Ezt támasztja alá Inagaki és munkatársainak vizsgálata is, akik kimutatták, hogy a pargilin (egy szelektív MAO-B gátló) jelentősen csökkentette a hidroxilgyök-termelést patkányszívekben iszkémia és reperfúzió során, valamint szignifikánsan mérsékelte a szívizomsejtek sérülését, amit a csökkent intersticiális mioglobin szint is igazolt. Egy másik szelektív MAO-B gátló, a szelegilin, szintén bizonyítottan kardioprotektív hatással bír, melyet az oxidatív stressz és a kardiomiocita-apoptózis csökkentése révén egy krónikus szívelégtelenséget modellező nyúlmodellben írtak le. A klinikai alkalmazhatóság szempontjából tanulmányunk egyik jelentős limitációja a génkiütéses technológia alkalmazása. Bár ez a megközelítés hatékonyan modellezi a MAO-B hiányát, humán terápiában nem alkalmazható. Mindazonáltal, figyelembe véve a pargilin és szelegilin kardioprotektív hatásait, eredményeink alátámasztják a MAO-B gátlók indikáció bővítésének lehetőségét kardioprotektív terápiás célokra.

miR-125b* kísérletsorozat

A miR-125 család egy erősen konzervált klaszter, amely három homológból áll: miR-125a, miR-125b-1 és miR-125b-2. Ennek a családnak a tagjai számos fiziológiai és patológiás folyamatban vesznek részt, például az embrionális fejlődésben, a karcinogenezisben (tumorgátló és tumort elősegítő hatásokkal egyaránt), valamint szív- és érrendszeri betegségekben, beleértve a szívizom I/R sérülését, a szívelégtelenséget és a szívizom fibrózist (vagy remodellációt). A miR-125b* (másnéven miR-125b-2-3p) a miR-125b hajtű-szerű hurok struktúrájú prekursorból származik. Annak ellenére, hogy a miR-125 család tagjai eltérő

genomi régiókból származnak, közös, konzervált „seed” régióval (1–9. nukleotid) rendelkeznek, ami arra utal, hogy átfedő célgéneket szabályozhatnak.

A miR-125b* kardioprotektív potenciálját először az vetette fel, hogy expressziója lecsökkent akut szívizom I/R sérülést követően, ugyanakkor a kardioprotektív iszkémiás pre- és poszt kondicionálások ellentétes irányú szabályozást váltottak ki. *In vitro* szimulált iszkémia/reperfúziós kísérletek újszülött patkány kardiomiocita sejteken megerősítették a miR-125b* citoprotektív hatását a sejtek életképességének növelése által. Jelen tanulmányunkban ezekre az eredményekre építve mutattuk ki, hogy a miR-125b* mimik intravenás beadása *in vivo* I/R károsodásban szignifikánsan csökkentette az infarktus méretet. Az akut I/R károsodást 45 perces koszorúér-elzárással és azt követő 24 órás reperfúzióval modelleztük. Az infarktus méretet Evans kék és TTC kettős festéssel határoztuk meg. Az iszkémiás terület (area at risk) mérete csoportonként hasonló volt, nem volt a csoportok között szignifikáns különbség. Két független proof-of-concept típusú (PoC) vizsgálatot végeztünk. A PoC-1 vizsgálatban a scrambled miRNS és a miR-125b* mimik is az infarktus méret csökkenésének irányába mutató tendenciát mutatott, de a különbségek nem érték el statisztikai szignifikanciát. A PoC-2 vizsgálatban – amelyben negatív kontrollként a cel-miR-239b-t használtuk a scrambled helyett – a miR-125b* kezeléssel szignifikáns infarktus méret-csökkenést értünk el a vivőanyag csoporthoz képest, ami megerősítette annak közvetlen kardioprotektív hatását, míg a cel-miR-239b nem befolyásolta az infarktus méretét.

Wang és munkatársai hasonló kardioprotektív hatásokat mutattak ki a miR-125b esetében. Kísérleteik során a 76 nukleotid hosszú prekursor formát (pre-miR-125b-1) lentivirális vektorral juttatták be, illetve transzgénus túltermeltetéssel (overexpresszion); mely prekursor timint tartalmaz uracil helyett, és mind a miR-125b-5p-t (az ő vizsgált miRNS-ük), mind a miR-125b-2-3p szekvenciát kódolja. 45 perces iszkémiát követő 4 órás reperfúziót alkalmazva szignifikáns infarktus méret-csökkenést írtak le, valamint az ejekciós frakció és a frakcionált rövidülés javulását 3 és 7 nap reperfúziót követően. Tanulmányunk több lényeges ponton eltér a fenti kísérletsorozattól: mi a 22 nukleotid hosszú, érett miR-125b-2-3p (miR-125b*) szekvenciát alkalmaztuk, és intravénásan adtuk be klinikailag releváns időpontban, az iszkémia alatt. Mivel az alkalmazott módszer és a pontos miRNS-szekvencia eltér, Wang eredményei nem rontják a kísérleteink újdonság tartalmát; inkább alátámasztják és bővítik a miR-125b család kardioprotektív potenciálját igazoló bizonyítékokat. A szakirodalomban számos tanulmány foglalkozik a miR-125b védő szerepével, egyes esetekben egymással összhangban

álló, máskor ellentmondó eredményekkel. A miRNS-ek nevezéktana azonban az idők során többször módosult, így a vizsgált miRNS szekvenciák következetes és pontos azonosítása, és interpretálása kihívással jár, különösen, mert sok publikációban nem közlik a vizsgált miRNS pontos szekvenciáját.

Bár a mikroRNS-alapú terápiák alkalmazásáról szóló publikációk száma gyorsan növekszik, a mikroRNS-ek farmakokinetikájára és farmakodinamikájára vonatkozó adatok elérhetősége továbbra is erősen korlátozott az irodalomban. Eredményeink a miR-125b* farmakokinetikájáról bizonyos hasonlóságot mutatnak Li és munkatársainak megfigyeléseivel, akik a kardioprotektív mikroRNS-jelölt, a miR-144 farmakokinetikáját vizsgálták. Kísérleteikben egyszeri, 8 mg/kg dózisú miR-144-et adtak be intravénásan egerek farokvénáján keresztül. A miR-144 eloszlására hasonló időbeli függőséget találtak: a miR-144 plazmaszintje és kardiális szintje 1 órával a kezelést követően érte el a csúcst, és ez a szint 7 napig megmaradt a plazmában, illetve 3 napig a szívszövetben.

A miR-125b* mimik lehetséges molekuláris hatásmechanizmusának feltárása érdekében öt prediktált target gént választottunk ki, melyek expresszióját megmértük. Ezek közül a Cyclin A2, az Eukarióta elongációs faktor 2 kináz és a feszültségfüggő kalciumcsatorna béta 2 alegység mRNS-szintje jelentősen lecsökkent 8 órával egyetlen intravénás miR-125b* mimik beadását követően. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a miR-125b* kardioprotektív hatását legalább részben, olyan gének expressziójának csökkentésén keresztül fejt ki, amelyek a sejtciklus szabályozásában, a fehérjeszintézis szabályozásában és a kalciumjelátvitelben játszanak szerepet, melyek mind kulcsfontosságú folyamatok a szívizom iszkémia/reperfúziós károsodásának patofiziológiájában.

KONKLÚZIÓ

Kutatásunk során két különböző kardioprotektív megközelítést vizsgáltunk, melyek célja a szívinfarktus méretének csökkentése egér akut miokardialis infarktus modelljében. Eredményeink új betekintést nyújtanak a szívizom iszkémia/reperfúziós károsodásának enzimszintű és a poszt-transzkripciós szabályozásába.

Elsőként kimutattuk, hogy a monoamino-oxidáz B (MAO-B) szívizomsejt-specifikus delécioja jelentős infarktusméret-csökkenést eredményez hím egerekben. Ez a hatás feltehetően a mitokondriális reaktív oxigénszármazékok (ROS) csökkent termelődésének köszönhető, mivel

a MAO-B ismert forrása az oxidatív stressznek iszkémiás károsodás során. A kardioprotektív hatás nemek szerinti eltérést mutatott, nőstény egerekben nem volt megfigyelhető, valószínűleg a fokozott iszkémiás tolerancia miatt, melyet feltehetően az ösztrogén mediál. Bár a génkiütés nem közvetlenül alkalmazható humán terápiában, eredményeink alátámaszthatják MAO-B gátlók, mint például a szelegilin, kardioprotektív célú indikációbővítésének lehetőségét.

Megállapítottuk, hogy a miR-125b* (miR-125b-2-3p) mimik szisztémás beadása kardioprotektív hatással bír *in vivo* akut szívinfarktus modellben. Kimutattuk, hogy egyetlen intravénás injekció iszkémia alatti beadása szignifikánsan csökkentette az infarktus méretét, valószínűleg kulcsfontosságú célgének expressziójának csökkentése révén, beleértve a sejtciklus szabályozásában részt vevő Ccna2, a transzlációs kontrollért felelős Eef2k, és a kalcium-homeosztázisban szerepet játszó Cacnb2 géneket. A farmakokinetikai adatok megerősítették a miR-125b* gyors bejutását a szívbe, míg a farmakodinamikai eredmények alátámasztják a többcélpontú génszabályozási mechanizmusát. Kutatásunk elsőként írja le a miR-125b* mimik farmakokinetikai jellemzőit, szöveti eloszlását és infarktusméret-csökkentő hatását *in vivo* egér AMI modellben.

A két megközelítés együttesen rávilágít arra, hogy mind az enzimgátlás, mind a nem-kódoló RNS-alapú terápia ígéretes lehetőség lehet akut szívinfarktus kezelésében. Bár mindkét modellnek megvannak a maga korlátai, kiegészítik egymást: a MAO-B knockout a hím-specifikus hatásokra és a ROS-termelés csökkenésére világított rá, míg a miR-125b* egy farmakológiailag kivitelezhető, többcélpontú RNS-alapú stratégiát kínál az iszkémiás szívizom szövet túlélésének fokozására, ezáltal a szívizomkárosodás csökkentésére.

Ezek az eredmények hozzájárulnak a kardioprotektív terápiák egyre növekvő területéhez, és hangsúlyozzák a célzott és többcélpontú megközelítések jelentőségét. Azonban további kutatásokra van szükség ahhoz, hogy ezen megközelítések validálása klinikailag releváns állatmodelleken -beleértve idős vagy társbetegségekben szenvedő állatokat – is megtörténjen, valamint hogy a mikroRNS-terápiák és a MAO-B enzimgátlók humán szív- és érrendszeri betegségekben való transzlációs potenciálját tovább vizsgálja.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ez a doktori munka a Szegedi Tudományegyetem Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Kar Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetében készült 2019 és 2025 között.

Elsősorban szeretném kifejezni hálámat témavezetőmnek, Dr. Bencsik Péternek, a folyamatos bátorításért, tudományos iránymutatásáért, amelyet a doktori tanulmányaim során tanúsított.

Köszönettel tartozom a Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet minden munkatársának, valamint a Pharmahungary Csoport és a Kardiovaszkuláris Kutatócsoport minden tagjának. Különösen hálás vagyok Ferdinandy Péternek, aki szakmai útmutatásával és anyagi támogatásával lehetővé tette az értekezésben bemutatott két projekt megvalósulását. Köszönöm a kutatásokban szereplő társ-elsőszerző munkatárasknak és minden társszerzőnek az együttműködést. Hálásan köszönöm továbbá együttműködő partnereinknek, különösen Rainer Schulz csapatának a közös munkát.

Mély hálával tartozom családomnak és barátaimnak az állandó támogatásukért, valamint azért, hogy folyamatosan „motiváltak” olyan kérdésekkel, mint például: „Hogy áll a disszertációd?” vagy „Mikor fejezed be a PhD-t?”

Végül szívből szeretnék köszönetet mondani vőlegényemnek (hamarosan férjemnek), Dömsödi Gábornak, a megértéséért, a PhD tanulmányom első naptól kezdve nyújtott állandó támogatásáért, és azért, mert őszintén hiszi, hogy amit csinálok az menő.

TÁMOGATÁSOK

A jelen disszertációban bemutatott kísérletek anyagi támogatását a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal finanszírozta (OTKA-138223; 2020-1.1.5-GYORSÍTÓSAV-2021-00011; NVKP-16-1-2016-0017 Nemzeti Szív Program; EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00009; EKOP-2.3.2-16-2016-00002 and VEKOP-2.3.3-15-2017-00016). Sz. T. az Innovációs és Technológiai Minisztérium Kooperatív Doktori Program ((KDP-2020; C1007099) Doktori hallgatói ösztöndíjasa volt 2020-2023 között.