

II. Beszámoló

A Felsőoktatási Intézményi Kiválósági Program megvalósításáról

Szegedi Tudományegyetem

Fotonika és Lézerkutatás tématerület

Fotoakusztikus lézer spektroszkópia platform az orvosi terápiák és a nem invazív diagnosztika fejlesztésére

Fotonika és Lézerkutató Intézet, Sebészeti Műtéttani Intézet

Alprogram vezető: Dr. Kaszaki József egyetemi docens

Azonosító: 20391-3/2018/FEKUSTRAT UNKP pályázat

A metánt széles körben fiziológiásán inertnek tekintik, de munkacsoportunk és több más laboratórium is kimutatta az exogén metán alapú terápiák gyulladáscsökkentő hatását klinikai kórállapotokat reprezentáló állatkísérletes modellekben. A közelmúltban validált egyedi tervezésű, a közeli infravörös lézeres technikán alapuló fotoakusztikus spektroszkópia (PAS) mérőrendszer segítségével *in vitro* és *in vivo* metánkibocsátás valós idejű mérése vált lehetővé. A PAS technológiával igazoltuk, hogy a kilélegzett metánszintek a gasztrointestinalis (GI) perfúzióval szoros összefüggésben változnak, és a kilélegzett metán output változása tükrözi a vizsgált GI traktus keringési állapotát. Kutatási projektünk során két egymással összefüggő kutatási területen, a metán emisszió meghatározására épülő **Diagnosztika** és az exogén metán alkalmazásával végzett **Terápia** irányokban végeztünk tudományos értékű, innovációs szempontból is jelentős vizsgálatokat, a PAS mérőmódszerre és klinikai szempontból releváns állatmodellekre alapozva.

A „Diagnosztika” kutatócsoport eredményei

1. Sebészeti beavatkozások, traumás sérülések következtében kialakulhatnak a hasüregben vagy üreges szerveken belüli vérzések, amelyek felismerése gyakran csak jelentős mennyiségű vér elvesztése után történik meg. A vérzésre adott keringési válasz következtében a vékonybél mucosa vérellátása csökken. Ezért a tápcsatornára lokalizálható vérvesztés korai felismerésére, a bél mikrokeringésének nem invazív diagnosztizálására alkalmas módszert fejlesztettünk ki, lokálisan képződő, vagy bejutatott metán kilélegzett levegőből történő nagy pontosságú detektálásával, a PAS mérőrendszert alkalmazva. Kimutattuk, hogy a kilélegzett metán szorosán összefügg a műtéti (vagy más okból bekövetkező) vérvesztés okozta vékonybél mucosa mikrokeringésének csökkenésével. A metán emisszió változása korábban jelzi a mikroperfúzió romlást, mint más, klinikumban használt eljárások (*Bársony et al., Methane exhalation can monitor the microcirculatory changes of the intestinal mucosa in a large animal model of hemorrhage and fluid resuscitation. FRONTIERS in MEDICINE 2020; 7:567260*).

2. Az emlős szervezetben endogén metán képződhet a GI traktus anaerob bakteriális aktivitása révén, valamint baktériumoktól függetlenül, kéntartalmú szerves vegyületekből is (pl. kolin, metionin). Megvizsgáltuk egy organoszulfur (SH) vegyületekben gazdag diéta (10% mustármagkivonatot tartalmazó táp) metanogén kapacitását alkoholos májkárosodás rágcsáló modelljében. A kísérleti állatok teljes-test metán kibocsájtását PAS technikával naponta

detektáltuk. Kimutattuk, hogy az alkalmazott SH vegyületekben gazdag diétával az endogén metanogenezis (metán emisszió) nem befolyásolható. Ugyanakkor az orális SH bevitt követő etanolterhelés fokozott metánképződéshez vezetett, ami részleges védőhatást fejtett ki a májszövetben. Ez arra utal, hogy a diéta komponenseinek módosításával a máj oxido-reduktív egyensúlya kedvezően befolyásolható lehet (Varga *et al.*, *Alternative methanogenesis - methanogenic potential of organosulfur administration. PLOS ONE. 2020 Jul 30;15(7):e0236578*)

A „Terápiás” kutatócsoport eredményei

A „terápia” kutatási irány a metán terápia hatásmechanizmusának megismerését célozza meg hipoxémiában és gyulladásban, különös tekintettel a mitokondriális reakciókra, valamint a metán és az oxigén metabolizmus közötti kölcsönhatásra. A fő célkitűzésünk volt egy új, metán-alapú megközelítés felvázolása a klinikai hipoxiás események kimenetelének befolyásolására, ideértve a szepszist, szívműtéteket és szervátültetéseket – elsősorban egy továbbfejlesztett szervmegőrzési technika kifejlesztését megcélozva.

1. Kimutattuk, hogy altatott törpesertésekben indukált szepszis és szeptikus shock 18-24 órája között alkalmazott 6 órás 2%-os metán inhaláció hatékonyan csökkentette a szepsziszhez kapcsolódó szervi diszfunkciókat (kardiális, pulmonális, kiválasztási, alvadási szervrendszerek és a máj működési zavarait). Eredményeink szerint a metán inhalációs kezelés ígéretes kiegészítő terápia lehet egy adott súlyossági küszöbértéig szepszisben és szeptikus shockban. (Rutai *et al.*, *Methane inhalation therapy in experimental sepsis. Critical Care 2020, 24 Suppl 1.*

2. Kimutattuk, hogy szívizom iszkémia/reperfúzió által okozott mitokondriális diszfunkció befolyásolható metán gázzal *in vitro* cardiomyocita sejtenyészeten, *ex vivo* szervperfúziós rendszerben és *in vivo* heterotróp szívtranszplantációs modellben. A PharmaHungary 2000 Preclinical & Clinical R&D Ltd, Szeged céggel kooperációs kísérleteinkben a metánkezelés hatékonyan csökkentette a cardiomyociták I/R károsodását a mitokondriális diszfunkciók javításával. Kísérleteink igazolják azt a korábbi feltételezést, hogy metán hatásának egyik sejt belüli fő célpontja a mitokondrium (Jász DK és mtsai, *J Inflammation*, bírálólat alatt).

3. *Ex vivo* szervperfúziós rendszer alkalmazásával vizsgáltuk a szervek hideg iszkémiás károsodásának befolyásolhatóságát oldott és gáz halmazállapotú metán alkalmazásával. Vizsgáltuk egyrészt a máj graft metán dúsított oldatával történő statikus hideg prezervációját, másrészt a dinamikus prezervációs eljárások közül a szisztémás vénás oxigén perszuffláció (VSOP) hatását metán jelenlétében. A metán tartalmú oldat csökkentette a portális nyomást és fokozta máj oxigénfogyasztását és epetermelését. Kísérletes adataink szerint a transzplantációs oldat gáz-összetételének változtatásával a szervfunkciók javíthatók. A metánnal dúsított Hisztidin-Triptofán-Ketoglutarát oldat alkalmas lehet a graftok hideg iszkémiás károsodásának csökkentésére és így a májfunkció megőrzésére (publikáció előkészületben).

4. A Semmelweis Egyetem Városmajori Szív- és Érgyógyászati Klinikájával történt kooperációs kísérletekben *in vivo* heterotróp szívtranszplantáció (HTX) esetében kimutattuk, hogy a metánnal dúsított prezervációs oldatban a szív kontraktilitás, az aktív relaxáció és a koronária perfúzió javult. A mitokondriumok oxidatív foszforilációs kapacitása növekedett, a külső membránkárosodásra utaló citokrom c mennyiségének csökkenésével párhuzamosan.

Összegezve, igazoltuk, hogy a metánnal dúsított szerv prezerváció javítja a graft teljesítményét és biztosítja a mitokondriális diszfunkció és a gyulladásszerű aktiváció elleni védelmet kísérletes HTX során. A kedvező folyamat háttérében az endoplazmás retikulum stresszhez kapcsolt proapoptotikus jelek befolyásolása állhat (*Benke et al., Methane supplementation improves graft function in experimental heart transplantation. J Heart Lung Transplantation 2020, <https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.11.003>*).