



Homonnai Zoltán

Titkár

MTA Doktori Tanács

Bírálat Dr. Dux Mária „**Nociceptív ioncsatornák és a kalcitonin gén-rokon peptid szerepe a trigeminovaszkuláris rendszerben - A migrén patofiziológiai folyamatainak állatkísérletes vizsgálata**” című MTA Doktori értekezéséről.

Dr. Dux Mária MTA Doktori értekezését nagy örömmel olvastam. Ennek legalább két oka volt. Az első az, hogy a tágabb szakterülettel jómagam is foglalkoztam. A második az, hogy kivételesen magas színvonalú, olvasmányos művet kaptam bírálatra, amelyből sokat tanulhattam.

A mű érdemi része 122 oldal, szépen szerkesztett kiváló magyarsággal megírt mű. Nyelvtani helyességéről talán az mond legtöbbet, hogy jómagam nem találtam benne nyelvtani hibát. Őszintén szólva ilyen élményben még nem volt részem. A dolgozat egyébként megfelelően tagolt, a szokásosnak mondható fejezeteket tartalmazza. Talán abban tér el a megszokottól, hogy kicsit úgy épül fel, mint a hagyma, amelynek rétegei vannak: a szerző ad egy általános áttekintést a mű elején, majd minden nagyobb fejezetet egy specifikusabb bevezetéssel kezd és egy megbeszéléssel fejez be. Ugyanakkor a mű olyan értelemben nem szimmetrikus, hogy a közös bevezetés mellett lenne benne közös összefoglalás is. Ilyen értelemben egy nagyrészt közös metodikára épülő, jobbára ugyanazon területet érintő 5 különböző történetet olvashatunk.

Az 5 különböző történet kapcsán a dolgozat (1) a meningeális kemoszenzitív afferensek morfológiai és funkcionális jellemzésére; (2) a nitrogén-monoxid, nitroxil és kénhidrogén funkcionális szerepére; (3) a hízósejtek kemoszenzitív afferenseket befolyásoló szerepére; (4) a depolarizáció (KCl) által kiváltott durális hatások vizsgálatára; (5) és végül a kemoszenzitív neuronok pathofiziológiai szabályozásával foglalkozik. Mint az első hallásra is feltűnhet, ezek a történetek egyáltalán nem állnak egymástól távol, szerintem egyszerűen lehetett volna őket egységes egészként is kezelni, tehát a fejezetekre osztott formai megoldás ellenére sem egy mozaikos, tartalmi elemeiben összeollózott műről van szó.

A mű összesen 29 oldalnyi hivatkozásjegyzékkel rendelkezik! Ez (pontosan nem számoltam meg) becslésem szerint több, mint 400 hivatkozást jelent. Azt hiszem, a mű alaposságáról és a jelölt felkészültségéről ennél többet talán nem is kell megjegyezni.

A bíráló feladata ebben az esetben tényleg a szokásosnál is nehezebb, mert ha meg akar felelni az elvárásoknak, akkor ugye bírálatot kell írnia (ez magyarrá lefordítva szokványosan kritikát jelent).



Ahogy kapta ezt a feladatot Shakespeare szerint Antonius is, mondván: „Temetni jöttem Caesart, nem dicsérni”.

A mű általános bevezetője kellően részletes, és célratörő is. Ebben a fejezetben mutatja be a szerző a kísérletei tárgyát képező dura mater anatómiai sajátosságait, a kísérletei és hipotézise szerinti legfontosabb sejtes és molekuláris célpontokat. Ugyanakkor, ebben a fejezetben mindössze egyetlen ábra segíti az eligazodást. A szöveg tökéletes volt, mind a 16 oldalát élveztem, nagy örömmel olvastam, de ugye egy ábra többet mondhat, mint 5 oldal szöveg. Ráadásul jómagam a TRPV1 és TRPA1 sematikus szerkezetét (az egyetlen ábrát ebben a fejezetben) ráadásul fölöslegesnek is érzem ebben a formában.

Végül, a fentiek szellemében olyan jó lett volna a kísérleti eredményeket összefoglaló ábrákat is látni, de erre az utolsó (szám szerint 57.) ábrától eltekintve nemigen került sor. Ez az utolsó ábra pedig, habár tényleg jó összefoglalást nyújt, a sok apró betűjével és az elvégzett kísérletekhez közvetlenül nem kapcsolódó információival kevésbé sikeres.

A szöveget tekintve (mint azt már említettem, a nyelvtani és formai rész kifogástalansága mellett) nekem jó lett volna, ha a Célkitűzéseket pontokba szedve találom. Ilyen módon (a dolgozat fejezeteivel megegyezően) nekem jobban nyomon követhető lett volna az, hogy mit miért vizsgált a szerző, és az is könnyebb lett volna, hogy a legfontosabb önálló eredményeit majd később összefoglaljam.

Nos, a mű annyira jó, hogy ezzel a formai kritikai megjegyzéseimnek végére is értem.

A tartalmi jellegű megjegyzések előtt annyit talán érdemes megjegyezni, hogy mint a jelölt bírálat ismertetését megelőző előadásából is minden bizonnyal világossá vált, a bemutatott kísérletek alapvető kontextusa a migrén pathomechanizmusának feltárása, különös tekintettel a vaszkuláris mechanizmusokra, ezen belül a szenzoros afferensekre és a CGRP-re. Ebből a szempontból általános kérdéseim:

1. A szakirodalom a szerzővel egyetértésben a kortikálisan terjedő idegi aktivitáscsökkenéssel (cortical spreading depression) hozza összefüggésbe a migrént. Ezt a szerző is nagyszerűen leírja, bemutatja. Azt is megalapozza, hogy ez a hipotézise (és a bemutatott irodalmi adatok) alapján a durális keringés megváltozásával (konkrétan vazodilatációval) függ össze. Erre valóban vannak irodalmi adatok is szép számmal. Ugyanakkor nekem hiányoztak a további, alternatív pathomechanizmusok bemutatása. Kérem, hogy röviden ismertesse, hogy ezeken kívül milyen mechanizmusokat feltételeztek az irodalomban!
2. A fenti kérdés kapcsán érdemes kiemelni, hogy habár a műben elejétől a végéig következetesen a migrén potenciális pathomechanizmusáról értekezik, ezt az élettani



jelenséget egyetlen kísérletben sem vizsgálták közvetlenül. A kérdés ennek kapcsán, hogy a migrén vizsgálatára milyen modellek lehetnek alkalmasak? A disszertációban bemutatott kísérleti rendszerben lehet-e EEG-t regisztrálni? Ilyen szempontból milyen határozottsággal lehet a műben szereplő véreloszlás/vérellátás különbségeit összefüggésbe hozni a migrénnel?

3. A szerző a CGRP szinteket a migrén biomarkereként implikálja. Tudom, hogy erre érdemi bemutatást nyújt a műben, mégis fontosnak érzem, hogy itt, a válaszok kapcsán is foglalja össze, hogy ezt milyen emberi adatok támasztják alá!

A továbbiakban a fentebb már említett fejezeteknek megfelelő konkrét tárgyi kérdéseimet teszem fel, melyek célja őszintén szólva leginkább az, hogy a jelölt számára biztosíthassam vitakészségének bemutatását, mintsem a munkájának és művének érdemi kritikája.

4. A durális kemoszenzorok tekintetében a mű a neurális kapszaicin (TRPV1) és a TRPA1 receptorokat nevezi meg. A kísérletekben is ezeket célozták a szerző és munkatársai. Ennek kapcsán a nagyobb koncentrációban alkalmazott kapszaicin (10 mikromól) vazokostriktív hatásait a simaizomban lokalizálódó TRPV1 rovására írja (szerintem helyesen). Ugyanakkor az immunhisztokémiai elemzést bemutató 9. ábra bal oldali paneljén egy a nyomtatott képen nehezen megítélhető TRPV1 festődést látunk, melyen nem nyilvánvaló, hogy a durális erek simazmában expresszálódik a TRPV1. Ennek mi lehet az oka? A TRPV1 festésére használt antitest specificitását hogyan ellenőrizték?
5. A kapott véráramlási értékek (a műben általánosan) vajon a fiziológiás lehetőségek tükrében mekkora mértékűek? Más szavakkal megfogalmazva, az adott kísérleti elrendezés mellett mekkora mértékű lehet a maximális dilatáció és konstriktio mellett megfigyelhető hatás?
6. A műben változatos kísérleti elrendezésekben vizsgálták például a CGRP koncentrációját. Ezen kísérletekben a kontroll állatokban némileg eltérő abszolút koncentrációkat láthatunk (akár kezeletlen, akár azonos kezelések mellett megemelkedő szintek). Ezen eltéréseknek van valami magyarázata (például az állatok kora, neme, altatás/anesztézia módja)?
7. Ugyanehhez kapcsolódik, hogy a mért CGRP koncentrációk széles tartományban változtak, ennek ellenére a vérellátottságban hasonló mértékű változások következtek be. Ennek mi lehet az oka?
8. Nekem sok kísérletsorozatban hiányzott az, hogy a CGRP specifikus hatások mértékét meghatározzák, és ezzel elkülönítsék a CGRP specifikus komponenseket az összes többi komponenstől a keringés tekintetében. Erre miért nem került sor? Léteznek kellő specificitású CGRP receptor/funkció gátló molekulák? Ezek alkalmazása milyen arányban képes a migrént csökkenteni?
9. A műben bemutatott interpretáció egyik legnagyobb kérdése (amit az egyik fejezetben a szerző ki is bont részben) az, hogy a mért CGRP értékek közvetlenül okai-e a vérellátásban látott különbségeknek? Ebből a szempontból fontos kérdés, hogy a mért



koncentrációk nagyságrendekkel elmaradnak az in vitro kísérletekben meghatározható CGRP érzékenységektől. Miért lehet az in vivo érzékenység nagyobb, illetve miért lehet a receptorok környezetében a CGRP koncentráció magasabb?

10. A műben végig követhető az az alapvetés, hogy a migrén feltehetőleg a durális, CGMP magasabb fokú felszabadulásával összefüggésbe hozható vazodilatáció vezethet migrénhez. Ugyanakkor ez az adriamicin kezelés kapcsán nehezen értelmezhető. A kapott adatok alapján várható migrén adriamicin-kezelt betegekben?
11. Kicsit visszalépve a dolgozatban, a KCl potenciális hatásait tekintve a simaizom depolarizációt követő feszültségfüggő Ca^{2+} csatorna nyitásából adódó vazokonstrikcióra nem emlékszem. Ennek alapja az, hogy az általam vizsgált csaknem minden ér esetében 50-100 mM KCl alkalmazása a simaizom depolarizáció miatt vazokonstrikciót okozott, mindenféle egyéb sejt (neuronok, endothel sejtek) hozzájárulása nélkül. Ez miért nem szerepelt a lehetőségek között, annak magyarázatára, hogy a megemelekedő CGRP szintek ellenére kevésbé látható a vazodilatációs hatás?
12. A proteáz aktivált receptor 2 stimulációja során bemutatásra került, hogy az a kapszaicin hatásait fokozza és önmagában nem kimutatható kapszaicin deszenzibilizált állatokban. Mitől specifikus ez a válasz a TRPV1-et expresszáló neuronokra? A deszenzibilizálást túlélő TRPA1 neuronok miért nem voltak képesek ezt a funkciót átvenni?
13. A migrén potenciális mechanizmusai közül az elhízott egyéneknél mekkora jelentősége lehet a CGRP-től feltehetően független alvási apnoe-nak? A repetitív hipoxiás epizódok esetében mit lehet tudni a migrén gyakoriságáról és annak mechanizmusáról?
14. A TRPV1 mennyiségének meghatározására ELISA kísérleteket végeztek. Milyen volt ezen kísérletek megbízhatósága? Milyen kontrollokat alkalmaztak és a trigeminális rendszerben, illetve a durában a TRPV1 expresszió hogyan arányult a hátsógyöki ganglionokban mérhetőhöz képest?
15. Hogyan magyarázható, hogy a TRPV1 és TRPA1 receptorok hasonló stimulációja mellett a különböző modellekben megjelenő jelentősen eltérő CGMP szint változások ellenére a vérátáramlás hasonlóan emelkedett értékeit figyelték meg? A rendszer szaturálódik (mindegy mennyi CGRP van jelen, úgyis csak ugyanakkora vazodilatáció jelenik meg), vagy egyéb mechanizmusokat (is) feltételezhetünk?
16. Egy általános kérdés: a durális keringés Doppler-vizsgálata kapcsán történt időkontroll felvétele? A durális keringést érintette-e a kísérlet időtartama? Más szavakkal, a keringés változásához mennyiben járulhatott hozzá az altatás/anesztézia időtartama?
17. Végül, ismét egy általános kérdés. A disszertációban a durális keringés széleskörű élettani jellemzése látható. Nekem ezen erek viselkedése unikálisnak tűnik. Semmiképpen sem emlékeztet az általam leginkább vizsgált vázizomerekre, de az artéria basilarisra sem. Mit lehet tudni ezen erek unikalitásának molekuláris okairól?

Még egyszer hangsúlyozom, hogy a bemutatott munkát magas (kiemelkedő) színvonalúnak tartom, és a fenti kérdések pusztán olyan provokatív felvetések, amelyekkel a jelölt vitakészségét biztosítani tudja.



**DEBRECENI
EGYETEM**

ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
Klinikai Fiziológiai Tanszék
H-4032 Debrecen, Mórícz Zsigmond krt. 22.
Tel: 52/255-978, email: klinfiz@med.unideb.hu

A jelölt disszertációjában foglalt legfontosabb tudományos eredményeinek az alábbiakat fogadom el:

1. Kemoszenzitív afferensek a TRPV1 és TRPA1 receptorok stimulációjától függő módon befolyásolják a durális CGRP szinteket. Ezen receptorok stimulálása növeli a CGRP szinteket.
2. Ezek a kemoszenzitív afferensek élettani kontroll alatt állnak, amennyiben aktivitásukat a streptozotocin kezelés, az elhízás befolyásolhatja.
3. A hízósejtek degranulációja kiváltható a TRPV1-et expresszáló idegsejtek ingerlésével. Ezzel szemben a hízósejtek degranulációja nem befolyásolta a kemoszenzoros neuronokat az alkalmazott kísérleti rendszerben.
4. A trigeminális kemoreceptorok intrakraniális és extrakraniális ingerlése is hatással van a durális vérellátásra. Ez kapcsolatot teremt az extrakraniális hatások (stimuláció, keringésbeli változások) és a migrén kialakulása között.
5. A magas zsír- és szénhidrát tartalmú táplálék jelentősen megemeli a kemoszenzoros neuronokból felszabaduló CGRP mennyiségét és az ennek következtében kialakuló véráramlás növekedést.
6. Adriamicin kezelés jelentősen csökkenti a trigeminális kemoszenzitív afferensekből felszabaduló CGRP mennyiségét.

Mint azt a fentiekben is látható jelen disszertációt egy alapos, kitűnően megírt, tartalmas műnek tartom. Ennek megfelelően javaslom a nyilvános vita megtartását.

Debrecen, 2020. május 20.

Tisztelettel,

Tóth Attila

bíráló