

OPPONENSI VÉLEMÉNY

Dux Mária

„NOCICEPTÍV IONCSATORNÁK ÉS A KALCITONIN GÉN-ROKON PEPTID SZEREPE A TRIGEMINOVASZKULÁRIS RENDSZERBEN – A MIGRÉN PATOFIZIOLÓGIAI FOLYAMATAINAK ÁLLATKÍSÉRLETES VIZSGÁLATA” című

MTA doktori értekezéséről

Dux Mária MTA doktori értekezése 161 számozott oldal terjedelemben, magyar nyelven íródott. Általánosságban elmondható, hogy a disszertáció jól szerkesztett, kiváló fogalmazással, szinte elírás nélkül íródott mű. Az ábrák szépen prezentáltak, jól jelzettek, többségében világosan mutatják az eredményeket. A dolgozatot jól tagolt *Tartalomjegyzék* és háromoldali *Rövidítésjegyzék* vezeti be. A 16 oldalas *Bevezetés* élvezetes stílusban, lényegre törően, ugyanakkor kellő részletességgel mutatja be a dolgozat témájának főszereplőit: azaz a trigeminovaszkuláris rendszert, a celluláris szenzorokként működő TRP ioncsatornákat (specifikusan, a rendszer szempontjából kiemelkedő jelentőségű TRPV1-et és TRPA1-et), valamint a migrén szempontjából tekintve a doktori mű kulcsmolekuláját, a CGRP-t.

A *Céltűzések* részben számos, egymással szoros kapcsolatban álló célt jelöl meg a szerző, melyek a fenti molekuláris rendszerek meningeális, neurális és extra-neurális kifejeződését; a fenti ioncsatornák farmakológiai érzékenységet és befolyásolhatóságát; valamint a sejtek közötti kommunikáció jelátviteli molekuláit érintik. Kiemelendő, hogy a fenti kísérletes platform szerves részét képezi adott betegségmodellek elemzése is (kiemelt fókusszal a migrénre), mely a klinikai transzláthatóság megítélésének alapfeltétele.

A több mint 15 oldalt felölelő *Módszerek* fejezetben a szerző megfelelő részletességgel mutatja be a felhasznált módszereket. Kiemelendő, hogy a módszertani és technológiai repertoár lenyűgöző, és messzemenően alkalmas a felvetett kérdések kísérletes megválaszolására.

Ezt követően a szerző eltér a konvencionális disszertáció-szerkesztés menetétől, ugyanis az *Eredményeket* és *Megbeszélésüket* 5 db, tematikailag elkülönített fejezetben külön-külön mutatja be. Bevallom, elsőre meglepő volt ez a szerkesztési mód, ugyanakkor – tekintettel a fenti rendszerek egymást számos ponton szabályozó komplex hálózatára – a nagyszámú kísérletes eredmény bemutatását, megértését, valamint értelmezését nagyban segítette. Így alább én is követem a tematikai elkülönítést, és kérdéseimet-megjegyzéseimet több csoportba osztottam be.

Kérdések és megjegyzések

5. fejezet – Meningeális kemoszenzitív afferensek és extrakraniális kollaterálisai morfológiai azonosítása és funkcionális jellemzése

- Talán a legjelentősebb kritika a dolgozatban bemutatott eredményekkel kapcsolatban, hogy az immunfluoreszcens ábrák gyenge minőségűek. Ez ezért is problematikus, mivel többszörös jelölés alkalmazása után adott molekulák ko-lokalizációjára vonatkozó következtetéseket von le a szerző. Kérdésem, hogy pl. a 9. ábrán a TRPV1 és a CGRP ko-lokalizációjának vizsgálata során történt-e kísérlet a ko-lokalizáció mértékének kvantitatív meghatározására?
- A TRP ioncsatornák elleni antitestek közismerten nem minden esetben rendelkeznek abszolút specificitással. Milyen módon igazolták a kapott immunfluoreszcens (és Western blot) jelölések specificitását?

- Mi magyarázza azt a jelenséget, hogy a szisztémás capsaicin deszenzibilizáció kivédte 100 nM capsaicin (TRPV1 és CGRP felszabadulás-függő) vazodilatátor hatását, de nem befolyásolta 10 μ M capsaicin vazokonstriktor hatását?
- Ezzel kapcsolatban a szerző az 58. oldalon az írja: „A capsaicin CGRP felszabadulás révén kiváltott vazodilatátor és közvetlen vazokonstriktor hatása ...”. Úgy vélem, hogy a disszertáció meggyőző és bizonyító erejű adatokat szolgáltat az idézett mondat első feléről, ugyanakkor a második feléről nem. Kérdésem, hogy milyen adatokkal tudja alátámasztani a capsaicin „közvetlen vazokonstriktor hatását”, illetve annak hatásmechanizmusát?

6. fejezet – Nitrogénmonoxid és nitroxil szerepe a meningeális véráramlás szabályozásában

- A szerzők elegánsan mutatják be az NO és a HNO komplex – a szenzoros idegvégződés és a nem-neuronális struktúrák összjátékát magában foglaló – részben TRPA1 mediált és CGRP függő szerepét a meningeális véráramlás szabályozásában. Kérdésem, hogy megbecsülhető-e, hogy az idegi és nem-idegi hatások közül melyik a domináns?
- A 73. oldalon a szerző említi, hogy más munkájukban celluláris rendszerekben (patch-clamp és Ca-imaging technikákat alkalmazva) vizsgálták a HNO és a TRPA1 szerepét a fenti folyamatokban. Kérem, röviden foglalja össze ezen eredményeket!

7. fejezet – Kemoszenzitív afferensek és hízósejtek közötti interakció a dura materben

- Minor hiba, hogy a 30. ábráról lemaradt egy „ μ ” betű.
- Általánosan elfogadott, hogy a hisztamin döntően a hízósejtekből szabadul fel különféle hatásokra. Ugyanakkor nem mutat olyan adatot a szerző, miszerint a hízósejtek jelen vannak-e az alkalmazott kísérletes elrendezésben a dura materben, valamint, hogy valóban degranulálódnak-e az alkalmazott stimulusokra. Kérem, kommentálja fenti felvetésemet!
- Az ebben a fejezetben bemutatott eredményeket tartalmazó közleményeket 2007-ben és 2009-ben publikálták a szerzők. Van-e azóta újabb adata a dura mater hízósejtjeiről, különös tekintettel a migrén patofiziológiájára?

9. fejezet – A kemoszenzitív meningeális afferensek működésében bekövetkező változások patofiziológiás körülmények között

- 47. ábra: A szerző bemutatja, hogy elhízott állatokból származó preparátumokon azonos akrolein koncentráció nagyobb áramlásfokozódást váltott ki. Ugyanakkor a szerző nem mutat adatot arra, hogy a mechanizmus továbbra is TRPA1 aktiváció és CGRP-függő maradt-e (azaz nem mutat inhibitorokkal végzett kísérletes eredményeket). Kérem, kommentálja fenti felvetésemet!
- A 46., 47., 49. és 50. ábra adatai arra utalnak, hogy elhízott állatokban a TRPV1 és TRPA1 aktivációja megnövekedett véráramlás-fokozódást vált ki. Ugyanakkor az 51. ábrán a TRPA1 szignifikánsan csökkent kifejeződését mutatja a szerző elhízott állatokban. Kérdésem: A fenti érdekes megfigyelést a szerző, hogy elhízás során feltehetően szenzitizálódik a TRPA1 (és a TRPV1 is?). Tud-e ezen felvetést bizonyító eredményt mutatni?
- 52. ábra: Ismert, hogy az inzulin – saját receptorához kötődve, majd számos intracelluláris jelátviteli folyamat beindítása révén – képes a TRPV1 modulálására. Kérdésem: Nem lehetséges, hogy az a jelenség, hogy az inzulinkezelés normalizálta 6 hetes diabéteszes állatok capsaicin-érzékenységét, az inzulin direkt hatásának, és nem a metabolikus státusz rendeződésének köszönhető?
- Hogyan változott a TRPA1 szintje a trigeminális ganglionban adriamycin kezelést követően?

Új tudományos eredmények

A jelölt a 10. fejezetben foglalja össze tudományos eredményeit. Habár talán átláthatóbb lett volna a fejezetet is részekre osztani, illetve pontokba szedve rendezni, az eredmények értékelése, valamint az azokból levont következtetések helytállóak.

Új tudományos eredményként az alábbiakat fogadom el:

1. Kísérleteik során kimutatták, hogy a trigeminovaskuláris rendszer által közvetített meningeális neurogén vaszkuláris reakciók kialakulásában alapvető szerepet játszanak a nociceptív TRP ioncsatornákat (főként a TRPV1-et és TRPA1-et) kifejező, a dura materben elsőként általuk azonosított kemoszenzitív primer afferensek. Igazolták továbbá a kemoszenzitív érző idegeken kifejeződő TRPV1 és TRPA1 szerepét a CGRP-függő meningeális szenzoros neurogén vazodilatáció és a nociceptív primer szenzoros neuronok szenzitizációjának mechanizmusában.
2. Elsőként bizonyították be, hogy a NO és a H₂S interakciója során keletkező endogén nitroxil szerepet játszik a meningeális TRPA1 aktiválásában és a következményes vaszkuláris reakciók közvetítésében.
3. Kimutatták, hogy a meningeális nociceptorok PAR2 receptorainak aktiválódása következtében kialakuló nociceptor szenzitizációt fokozott CGRP felszabadulás és neurogén szenzoros vazodilatáció kíséri.
4. Különböző betegségmodelleket használva bebizonyították, hogy az elhízás következtében megváltozott metabolikus és immunológiai státusz, feltehetően (többek között) a proinflammatorikus citokinek emelkedett plazma és szöveti szintjének, a TRP ioncsatornák feltételezett szenzitizációját váltja ki, mely fokozott meningeális vazodilatációt és CGRP felszabadulást eredményez. Streptozotocinnal előidézett kísérletes diabetesz modellben kimutatták, hogy a meningeális vaszkuláris válaszok és a CGRP felszabadulás jelentős mértékben csökken, melyet, nagy valószínűséggel, a meningeális kemoszenzitív idegek strukturális és következményes funkcionális változásai magyarázhatnak. Bebizonyították, hogy az onkoterápiában széleskörűen alkalmazott adriamycin kezelést követő károsodások hátterében nemcsak a nociceptorok funkciójának és CGRP-t felszabadító képességének változása, hanem a vaszkuláris CGRP receptorok szerkezetét érintő módosulások is tetten érhetők.
5. Kísérletes eredményeiket összefoglalva egy originális koncepciót – a „Trigeminovaskuláris nociszenzor komplex” koncepciót – vezettek be, melynek működésével kapcsolatos kísérletes eredményeik jól összhangba állíthatók azokkal a klinikai megfigyelésekkel, amelyek a migrénes roham lefolyására vonatkoznak.

Összegzés

Összességében elmondható, hogy a jelölt komoly kísérleti munkán alapuló, fontos orvosbiológiai relevanciával bíró felfedezéseket összefoglaló, messzemenően koherens, magas színvonalú, szépen összeállított és megírt disszertációt nyújtott be, melynek nyilvános vitára bocsájtását (és sikeres védés esetén az MTA Doktora cím odaítélését) örömmel támogatom.

Debrecen, 2020. március 9.

Bíró Tamás
egyetemi tanár