

Válaszok Prof. Katona István bírálataira

Köszönöm, hogy Professzor úr elvállalta doktori értekezésem bírálatát. Kérdései és megjegyzései olyan gondolatokat indítottak el, melyekről érzem, hogy jövő munkáimra nézve nagyon hasznosnak fognak bizonyulni. Válaszaimat alábbiakban foglalom össze.

1. Kritikai megjegyzések

A disszertáció szerkesztési hiányosságaiként említi bíráló az eredmények sorába nem szervesen illeszkedő publikációk adatainak bevétele, a megbeszélés fejezet rövidegét, az eredményekre alapozott új koncepciók, kísérleti kérdések hiányát. Az „Eredmények” fejezetben valóban szerepeltettem olyan adatokat, melyek a kísérlettervezésre nézve ugyan hasznosak és bizonyító erejűek voltak, de a fő gondolatmenetbe, szorosan a kérdésfelvetéshez illeszkedve talán nélkülözhetőek lettek volna. Ezekre a szövegben röviden utalok is, ennek ellenére belátom, hogy a dolgozat vezérfonalának egységét tekintve ezek a részek nem illeszkedőnek tűnhettek. A „Megbeszélés” fejezetben az eredményekkel közvetlen kapcsolatba hozható irodalmi adatokat diszkutáltam. Elfogadom, és a jövőre nézve megfogadom, hogy bátrabban bocsátkozzak új koncepciókba, összefüggések keresésébe. Ugyanakkor úgy találtam szakmailag indokolhatónak, ha egy olyan szerteágazó problematikájú problémakörben, mint az Alzheimer-kór, koncepciók felállításába, vagy meglévők illesztésébe csak még szélesebb körű és bizonyítóbb erejű saját vagy irodalmi eredmények birtokában szabad bocsátkoznom. Példaként említem az extracelluláris mátrix szerepét Alzheimer-kórban, melynek neurokémiai sokféleségét, a glikolizáltság jellegét és szerepét, azok kimutathatóságának korlátját még jóformán megbecsülni sem tudjuk (de magunk is tervezünk kísérleteket más mátrix komponensek, például heparánszulfát-proteoglikánok szerepének vizsgálatára).

2. Kérdések

- A) *„A Tg2576-os egérvonalban a szerző megfigyelései alapján komoly változások vannak a vGluT1, VGAT és cholinerg markerek szintjében. Van-e adat arra vonatkozólag, hogy hogyan befolyásolja a serkentés-gátlás általános egyensúlyi állapotát (excitatory-inhibitory balance) a transzgén expressziója?”*
- A Tg2576 transzgenikus egérmodellben már másfél hónapos állatban kimutatható hiperszinkron hálózati aktivitás, hiperexcitabilitás (pl. Xu és mtsai, Exp Neurol 264:82, 2015; Bezzina és mtsai, PLoS One 10:e0119910, 2015), epileptiform érzékenyséjük nagyobb (Bezzina és mtsai, PLoS One 10:e0119910, 2015). Ezen változások egyúttal rosszabb tanulási képességgel járnak együtt, azok időbeli fellépése megegyezik. Feltételezzük, hogy az állatokban tapasztalt fokozott epileptiform érzékenységhöz az általunk kimutatott csökkent periszomatikus gátló szinapszis sűrűség is hozzájárulhat. Jóllehet a hiperexcitabilitás és epileptiform érzékenység jelensége nem tisztázott, számos molekuláris jelenséget azonosítottak ezzel kapcsolatban. A hippocampusz formáció moharostjaiban ektopikus NPY expresszió lép fel, mely a glutamaterg transzmissziót csökkenti: utóbbi jelenséget a hiperexcitabilitás elleni kompenzációs mechanizmusnak tartják, mely ugyanakkor a hippocampális funkciók progresszív csökkenéséhez vezet (Palop és Mucke, Arch Neurol 66:435, 2009). A hAPPJ20 Alzheimer-modell egértörzs egyedek gátló parvalbumin sejteiben a feszültségfüggő nátrium csatorna Nav1.1 alegységének csökkenését figyelték meg, mely a szinkron hálózati aktivitás diszfunkciójához vezetett (Verret és mtsai, Cell 149:708, 2012). Más megfigyelések a

megváltozott mitokondriális funkció okozta Ca^{2+} tranziensekben keresik az idegsejtekben fellépő hiperexcitabilitás okát (Lee és mtsai, J Neurosci 32:5953, 2012).

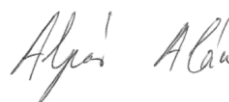
- B) „Megváltoztatja-e a plakképződés intenzitását az önkéntes fizikai aktivitás a különböző APP-t túlexpresszááló transzgenikus egérvonalakban, illetve az Alzheimer kórban szenvedőekben (esetleges ikervizsgálatok eredményei)?”

Saját vizsgálati anyagunkban ilyen jelenséget nem tapasztaltunk, kísérleteinkben olyan korú (9 hónapos) állatokat használtunk, melyekben a patológiás amiloid lerakódás már kialakult. Több amiloid lerakódásban szenvedő állatban (TgCRND8 és APP-PS1) kimutatták ugyanakkor, hogy az amiloid lerakódás kezdete előtti, fiatal korban (4 hónapos) induló és hosszan tartó (5 hónap) önkéntes fizikai aktivitás az idősebb kori amiloid lerakódást/expresszióját csökkenti (Adlard és mtsai, J Neurosci 25:4217, 2005; Bo és mtsai, Oxid Med Cell Longev 2014: 834502, 2014), bár az extracelluláris amiloid lerakódásban mások hasonló kísérleti körülmények között a javuló tájékozódási képességek ellenére nem találtak változást (Xiong és mtsai, Biol Sport 32:295, 2015). Az ingergazdag környezet hatása hasonló: ha Tg2576 egerek még fiatal korban (3 hónapos), az amiloid lerakódás kezdete előtt kerülnek ingergazdag környezetbe, az előagyi (neokortikális) és a hippocampális amiloid lerakódás idős korokra (13,5 hónap) csökken (Verret és mtsai, Neurobiol Aging 34:211, 2013). A fizikai aktivitás pozitív hatását tükrözik az embereken végzett megfigyelések eredményei is: az MRI és PET vizsgálatok (11C-Pittsburgh compound-PET) alacsonyabb kérgi amiloid mennyiségre engednek következtetni.

- C) „Van-e bizonyíték az Alzheimer kóros mintákban a mikroglia sejtekben felhalmozódó 2-AG lebontó enzimeknek a valódi mikroglialis expressziójára és funkcionális jelentőségére vagy ezek esetleg csak a fagocitózis passzív termékei? Hogyan vizsgálná ezt a kérdést a szerző?”

Nem zárhatjuk ki, hogy az említett enzimek emelkedése a mikrogliaokban fagocitózis következménye. A kérdést vizsgálhatnánk neuron-mikroglia ko-kultúrában, melyben a neuronok MAGL KO állatból származnak, míg a mikroglia sejtek vad típusú állatból. Neuronpusztulást amiloid hozzáadásával idéznénk elő, mely fagocitózist indítana el. A mikroglia sejtekben fellépő MAGL-immunoreaktivitás ekkor csak mikroglia sejtől származhat; a kontroll kísérlethez (kettős vad típusú kultúra) viszonyított emelkedést a mikroglialis enzimek expressziójának növekedése magyarázná. A kísérletet „meg is fordíthatjuk”: MAGL KO állatból készítjük a mikroglia kultúrát, a neuronokat vad típusú állatból izoláljuk. Ekkor a mikroglia sejtekben fellépő MAGL expresszió csak fagocitózisból származhat. *In vivo* körülmények között a probléma vizsgálatára akkor nyílna lehetőség, ha olyan egértörzset használhatnánk, melyben a kérdéses bontó enzim mikroglia specifikus génkiütött. Ebben az esetben egy amiloid okozta gyulladás (amiloidot fecskendezünk az agyszövetbe) csak fagocitózis esetén vezethetne MAGL-immunoreaktivitáshoz a mikroglia sejtekben.

Kelt Budapesten, 2016. február 1-én.



Alpar Alán