

Válaszok Prof. Mihály András bírálatára

Köszönöm, hogy Professzor úr elvállalta doktori értekezésem bírálatát, a művel kapcsolatos kritikai észrevételeit. Válaszaim kérdéseinek, megjegyzéseinek sorrendjében teszem meg.

1. „Anyag és módszer” fejezet

„Valamely oknál fogva egy transzgén törzset szerző nem említ ebben a fejezetben (APdE9: a táblázatokban szerepel)”.

A különböző fajok felsorolása alatt az említett szövegrészben valóban nem említettem az APdE9 egérfajt, azt csak az összegző táblázatban sorolom fel, a figyelmetlenségért bíráló elnézését kérem. Ezek az állatok mutáns amyloid prékurzor proteint (KM593/594NL) és egy exon 9 deléciós variáns presinilin 1-et expresszálnak; mindkét eltérés megfigyelhető familiáris Alzheimer-kórban szenvedőkben (Jankowsky és mtsai, Neurobiol Aging 25:885, 2004). Az állatokban progresszív amyloid lerakódást tapasztalunk a 6. hónaptól, mely jól korrelál az idegéletteni és viselkedésbeli degenerációs változásokkal: az állatok térbeli tájékozódása fokozatosan és progresszívan romlik (Morris-féle vízi labirintus teszt), a serkentő szinapszisok működése (glutamát felszabadulás képessége) csökken (pl. Minkeviciene és mtsai, J Neurochem 105:584, 2008).

2. „Eredmények” fejezet

A) Hibernáció hatása a neuron morfológiára és a memóriára

„Ebben a fejezetben az ábrák minősége olyan rossz, hogy opponens bírálatára során csak a szövegre és a grafikonokra tudott hagyatkozni”.

A kritika a 24. és 25. ábrákat érintik. Az ábrákon szereplő immunhisztokémiai reakciókkal és Golgi-impregnációval készült preparátumok és az azokról történt felvételek minőségét szerző is gyengébbnek ítéli meg, melynek okát abban látjuk, hogy szíriai aranyhörcsögben perfúzióink nem sikerültek olyan jól, mint egérben vagy patkányban. A 24. ábra üzenetét mindazonáltal így is megítélhetőnek látjuk: AT8-immunoreaktivitás (mely a hiperfoszforilált tau fehérjét jelöli) eutherm állatban nem látható, a hibernáció korai fázisában detektálható, késői fázisában erős, míg a korai és ébredési fázisban ismét minimális. Mindezen változásokat három agyterületen is mutatjuk. A CA1 és CA3 régiók piramissejtjeinek bazális dendritjeit tartalmazó stratum oriens minimális immunoreaktivitása élesen elüt a stratum radiatumban való apikális dendritek erős immunoreaktivitásától. Az apikális dendritek struktúrája valóban nem azonosítható (csupán az ábra M részén felismerhető), azokat csak a megfelelő rétegükben való, sajnos többnyire homogén immunoreaktivitásuk alapján lehetséges az ábrán azonosítani. A 25. ábra áttekintő felvételt kívántunk mutatni a hippocampusról. Ezen az impregnált neuronok fenotípusa, tüskesűrűsége nem megítélhető. Elismerem, elkerülhettem volna a jogos kritikát, ha nagyobb nagyítású felvételeket is az ábrába foglaltam volna, a szignifikáns dendritometriai eredményekre így valóban csak a grafikonok utalnak.

B) Differenciálatlan neuronok az emberi szaglórendszerben

„Szerző megvizsgálta a sejtek markereit, a sejtek eloszlását emberi agyban és transzgenikus egerekben. Nem talált jellemző elváltozásokat, amiket oki kapcsolatba lehetett volna hozni a betegséggel.” valamint a „Megbeszélés” fejezetben: *„Nagyon szép és alapos a secretagogin-pozitív sejtek leírása*

humán szaglőrendszerben – az eredmények azonban itt sem mutatnak szoros kapcsolatot az Alzheimer-kórral.”

Alzheimer-kórban elhunyt mintáinkkal kapcsolatban nem állt rendelkezésre adat, hogy a betegek szaglaskárosultak voltak-e. Sikertült ugyanakkor kimutatnunk, hogy az általunk elsőként azonosított, tractus olfactoriusban található, plaszticitásra jellemző neurokémiai markereket mutató (pl. PSA-NCAM) secretagodin-immunoreaktív neuronok száma a betegség folyamán csökken, és sok esetben hiperfoszforilált tau fehérjét tartalmaznak. Ok-okozati kapcsolatot nem mutattunk ki, de fentiek alapján feltételezzük, hogy olyan plasztikus képességgel bíró, sérülékeny idegsejt populációt azonosítottunk az emberi agyvelő egy eddig gyakorlatilag neuronmentesnek tartott területén, melyek Alzheimer-kórban való pusztulása a szaglőrendszer diszfunkciójához vezethet.

C) Az extracelluláris mátrix szerepe/változásai Alzheimer-kórban

„Fény- és elektronmikroszkópos képekkel illusztrálja a leírásokat – sajnálatos, hogy itt is előfordulnak rossz minőségű mikrofotográfiák (69., 70., 73., 78. ábrák), melyek semmiféle információt nem közvetítenek.”

A kritikát elfogadva szeretnénk néhány, az érintett immunreakciókkal kapcsolatos körülményt megvilágítani. Úgy érezzük, az ábrák minőségét, megítélését több tényező is kedvezőtlen irányban befolyásolja.

1. Az extracelluláris mátrix komponensek kimutatása nagyobb háttérrel, így kisebb kontúrral lehetséges, mint ahogyan azt általában az immunhisztokémiai reakcióknál elvárjuk. A jelölt glikoproteinek egy homogén eloszlási mintázatban inkább feldúsulnak bizonyos sejtek, sejtkompartmentek körül, semmint kizárólag itt fordulnának elő.
2. A 69. ábrán fiatalabb (pl. 1 napos, 13 napos) állatból is mutatunk immunreakciókat felnőtt állat (3 hónapos) mellett, melyek éppen azt kívánják demonstrálni, hogyan válik a kor előrehaladtával a perineuronális mátrix környezetétől elhatárolódottabbá, így fenotípusában karakteresebbé.
3. A 70. ábrán áttekintő felvételeket kívántunk mutatni az aggregátum tartalmú extracelluláris mátrix általános előfordulásáról az agyvelő különböző kranio-kaudális magasságaiban, melyhez kis nagyításra volt szükség. A részletes térképmunka („mapping”) eredményét valóban csak a táblázat adataiból (az ábra F része) ismerhetjük meg pontosan. Ezen az ábrán a perineuronális hálók valóban nem felismerhetők, azokat nagyobb nagyítással a 69. és 71. ábrákon mutatjuk be.
4. A 73. és 78. ábrák humán mintákból készültek, a fixálás minőségét az alkalmazott perfúziós technika ellenére is rontja a postmortem idő (legalább 12 óra). Mindkét ábrán (73. ábra B, D, D₂ részei; 78. ábra C része) mutatunk be olyan perineuronális mátrix hálót, melyek ún. diffúz típusúak, így képük, fenotípusuk ennek megfelelően elmosódott. A 73. ábra E, E₁, E₂ és F részein igen kisméretű mátrixstruktúrákat látunk, melyek, ahogyan azt elektron mikroszkóppal igazoltuk, szinapszisokat vesznek körül. Ilyen kisméretű mátrixgyűrűk izolált megjelenítése egy, az összetevőt szintén, bár kisebb sűrűségben tartalmazó homogén állományban nem szokványos immunhisztokémiai kihívás.

„Az Alzheimer-kór illetve transzgenikus egér (plakkokkal) nem mutat igazán szignifikáns eltéréseket ebben a kérdésben sem.” valamint a „Megbeszélés” fejezetben: *„Hasonlóképpen alapos és átfogó vizsgálatokat végzett a szerző az agyi intracelluláris mátrix neurokémijával és lokalizációjával kapcsolatban... Szoros neuropatológiai összefüggést azonban itt sem sikerült találni.”*

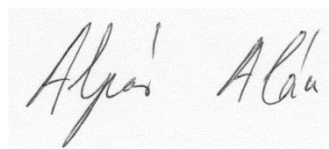
Szignifikáns eltéréseket a súlyos Alzheimer-kórban elhunytak mintáival kapcsolatban találtunk: az aggregált és brévikan alapú extracelluláris mátrix mennyisége a hippocampusban megnövekedett. Immunhisztokémiai vizsgálatainkra alapozva egyelőre valóban csak feltételezni tudjuk, hogy az izolált periszinaptikus mátrixgyűrűk a posztszinaptikus kompartment pusztulása (hiperfoszforilált tau fehérjében gazdag dendritok), illetve a környező amiloid lerakódás ellenére is megvédi a körülvett szinapszt az elfajulástól, segítik funkciójuk megmaradását (utóbbira a vezikuláris transzporter fehérjék változatlan expressziója utal).

3. „Megbeszélés” fejezet

„Ebből a hatalmas adathalmazból lehetett volna egy koncepciózusabb diszkusszió: sorra lehetett volna venni azokat a morfológiai-neurokémiai változásokat, amelyek az Alzheimer-kór neuropatológiájához szorosabban kapcsolódnak... Hiányzik egy koncepciózus molekuláris biológiai összefoglalás is.”

A diszkussziót csupán azokra az összevetésekre céloztam szűkíteni, melyek eredményeimmel közvetlen kapcsolatba hozhatóak. Különösen egy ilyen szerteágazó témában éreztem szükségét annak, hogy ne bocsátkozzak feltételezésekbe, bármennyire izgalmasak is lehetnek azok, eredményeimet pedig túl ne értékeljem. Bíráló kritikai megjegyzését köszönöm és természetesen elfogadom. Az Alzheimer-kór neuropatológiája, a feltételezett patomechanizmusok, különösen annak molekuláris biológiája (ugyanígy az amiloid prékurzor fehérje vagy a p21Ras fehérje szerteágazó sejtekben betöltött funkciói) ugyanakkor olyannyira szerteágazó, hogy eredményeimet kritikusan a közvetlen diszkutálható irodalmi eredmények tükrében láttam indokolva áttekinteni.

Kelt Budapesten, 2016. február 1-én.



Alpár Alán