

Válasz Kéri Szabolcs bírálatára

Köszönöm a mélyreható bírálatot és a dolgozat elmélyült átolvasását igénylő inspiráló kérdéseket.

A formai megjegyzéseket (kicsi ábrák, angol nyelvű táblázatok, alfejezet felosztása) a későbbiekben saját és hallgatóim munkái során is igyekszem majd figyelembe venni.

A felmerült kérdésekre a következő válaszok fogalmazódtak meg bennem:

7. old.

A stresszorok meghatározásának és osztályozásának bemutatott rendszere nem a legmakulátlanabb. Példaként említhető, hogy a fertőzés nem fizikai, hanem biológiai stressz, a mozgáskorlátozás pedig nem primer kognitív, hanem fizikai stressz. Az sem világos, hogy a szerző pontosan mit ért a szisztémás vs. neurogén stressz dichotómiás rendszerén. Nagyon hiányoznak a kurrens irodalomban központi helyet elnyert szociális stresszorok (pl. agresszor CD-1 egerek).

A stresszorok felosztása hosszas vitára (és önmagában monográfiák írására) adhat lehetőséget. A leginkább elfogadott az elsősorban magasabb agyi struktúrákat ingerlő stresszorok (pszichés, kognitív vagy neurogén elnevezéssel egyaránt illetett), illetve a perifériáról az agytörzsi magokon keresztül bemenetet adó fizikai, nem kognitív vagy szisztémás névvel illetett stresszorok dichotómiás felosztása (a három-három elnevezés mindkét esetben nagyjából szinonimaként alkalmazható, más-más szerzőktől származik) (sajnálom, hogy az itt mellékelt 1. ábra nem került be a dolgozatba, talán ez érthetőbbé teszi a beosztást). A további kategóriák ezen két nagy csoporton belül elhelyezhetők.

A munkámban idézett felosztások a következő szerzőtől származnak:

1. *Dayas és mtsai, 2001 Eur J Neurosci*: agyi c-fos reakció alapján különített el fizikai és pszichológiai stresszorokat.

A PVN CRH sejtjeiben és az agytörzs noradrenerg (A1 és A2) és adrenerg (C1 és C2) sejtjeiben minden általuk vizsgált stresszor aktivitás fokozódást okozott. A véreztetés és immunstimulus, mint fizikai stresszorok a CeA-t és a rostrálisabb catecholaminerg sejteket aktiválták, míg a zaj, mozgáskorlátozás és kényszerített úszás, mint pszichogén stresszorok a MeA-t aktiválták.

Ezek alapján soroltam be a fertőzést a fizikai stressz kategóriába, bár egyet értek a biológiai ágens kategóriával is, de úgy érzem, az a fizikai stresszoroknak egy alkategóriája. Ugyanígy a metabolikus stresszorok is a fizikai stresszorok közé sorolhatók. A mozgáskorlátozás kategorizálása kérdésesebb. Megint a fentebbi mű alapján soroltam be a pszichológiai stresszorok közé, de kétségtelen, hogy a pszichés kényelmetlenségnek erős fizikai háttere van.

2. *Lolait és mtsai 2007-es Endocrinology*-ban megjelent cikkükben – az általam említett felosztással összhangban - ezt írták: „cognitive (e.g. restraint) and noncognitive (e.g. infection) stressors”

3. *Sawchenko és mtsai a Prog Brain Res*-ben 2000-ben megjelent cikkük szerint minimum két alapvető kategória létezik, melyet ők szisztémás és neurogén elnevezéssel illeltek, de felvetették az interoceptív és exteroceptív terminológiát is.

Munkacsoportunk kiemelten foglalkozik a szociális interakciók ezen belül is az agresszió tanulmányozásával, így természetesen a szociális stresszorok is érdeklődésünk középpontjában állnak. Ezek azonban a pszichés stresszorok alkategóriájaként is felfoghatók, ezért nem kerültek a felosztásnál külön említésre.

Stresszor kategorizálás

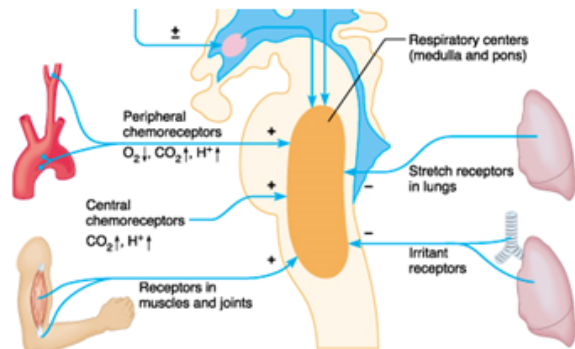
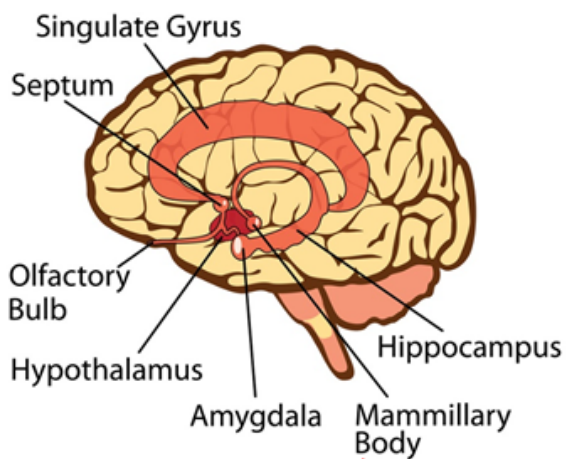
Időtartam: akut-krónikus

Típus: pszichés
kognitív
neurogén

fizikai
nem kognitív
szisztémás

limbikus rendszer

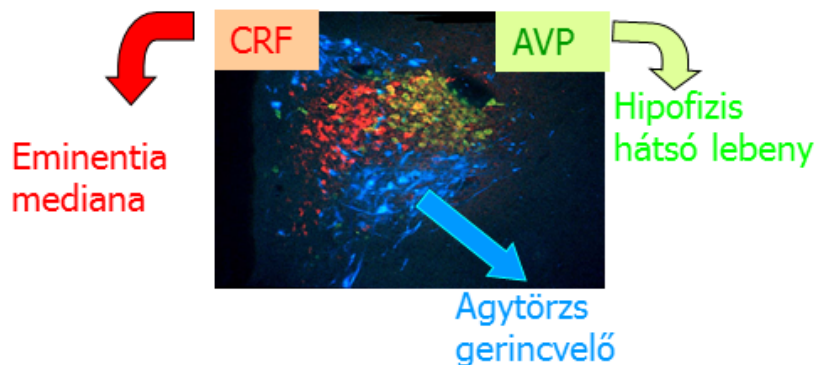
agytörzs



Top-down

Bottom-up

PVN (végső közös út)



1. ábra

Végül említést érdemeltek volna az újabb stresszkonceptiók, mint a szinaptikus és a viselkedési metaplaszticitás kérdése.

A stresszorok kategorizálásán messze túlmutat a stresszkonceptió fejlődése, melyet egyik PhD hallgatóm disszertációjában részletesebben taglalt beleértve például McEwen allostasis elméletét is

(és több kötetet meg lehetne tölteni a leírásával). *Mathias Schmidt és munkacsoportjának 2013-ban Neuroscience-ben közöl „behavioral metaplasticity” elmélete* egyfajta biológiai háttérrel kíván adni a Ron de Kloet laboratóriumából elterjedt three-hit-theory-nak (melyet én az Engels féle biopszichoszociális modell alap kutatásokra való alkalmazásának tekintek) és a Max Plank intézetben továbbgondolt match-mismatch elméletnek, melyek az egyént környezetükkel összefüggésében és fejlődésük egészében tekintik. Ezek az elméletek fontos háttérrel szolgálnak a pszichés betegségek kialakulásának jobb megértéséhez.

8. old.

Dallman és Aguilera elmélete, miszerint az AVP a HHM tengely fő hypothalamikus szabályozója, részletesebb és árnyaltabb megbeszélést érdemelt volna már itt, az értekezés kezdetén. Ahogy később arról több helyen szó esik, ma már a CRH-dominálta mechanizmusok egyértelműbbek, erre a szerző egyes eredményei is utalnak.

Valóban sokat gondolkodtam rajta, hol lenne a legmegfelelőbb hely ezen elmélet alaposabb kifejtésének és végül hátrébb került a dolgozatban. Mivel manapság már kicsit túlhaladottnak tekintjük ezt az elméletet (nem utolsósorban saját munkánk negatív eredményei következtében), ezért talán nem kellő alaposítással részleteztem.

Nem világos viszont az ember és a rágcsálók közötti különbség (pl. emberben a parvocelluláris neuronokban nagyon kevés AVP termelődik).

Mivel munkámat rágcsálókra végzem, ezért sajnos nem fektettem kellő hangsúlyt a transzlációs vonatkozásokra, így az AVP humán előfordulására sem. Egyes szerzők szerint emberben a PVN minden CRH tartalmú sejtje kolokalizál AVP-vel (lásd *Mouri és mtsai 1993 Neuroendocrinology: „All CRF-immunoreactive parvocellular cells in the PVH were also AVP immunoreactive.”*), míg mások korral növekvő kolokalizációt írtak le (*Raadsheer és mtsai, 1994 J Neuroendocrinology: „age dependent increases in AVP colocalization”*). Egy cikk a depressziós páciensek agyában számolt be nagyobb CRH-AVP kolokalizációról (*Raadsheer és mtsai, 1994, Neuroendocrinology*).

Érdekesség, hogy humán perifériás vérben a T és B sejtekben, valamint a monocita/makrofág rendszerben is leírtak CRH-AVP kolokalizációt „nyugalmi” körülmények között (*Baker és mtsai, 20034 J Neuroendocrinol „CRH-ir and AVP-ir are colocalized within human T cells, B cells and monocytes/macrophages.”*)

17. old.

A szerző állítása szerint a glükó- és mineralokortikoidok szabadon képesek a sejtek membránján átdiffundálni. Ez egy tankönyvi adat, amelyet az értekezésben egy 1985-ös közlemény citációja támaszt alá. Az állítás azonban ma már nehezen tartható. Kiemelném a szteroidtranszporttal kapcsolatos újabb eredményeket, különös tekintettel a specifikus szabályozás alatt álló ABC transzporterek kérdésére.

Köszönöm az értékes kiegészítést. Valóban, az élettan oktatási tapasztalatom alapján a tankönyvi adatot idéztem, de – mint ahogy a vízmolekula kapcsán már szó esik az aquaporinokról a szabad diffúzió mellett – a szteroid transzporterek tankönyvbe emelése is fontos lenne. Márcsak azért is, mert számos szteroid függő tumorban (például prosztatarákban: *Cho és mtsai, 2014 Endocrinology*) ezeket próbálják terápiás célpontként használni.

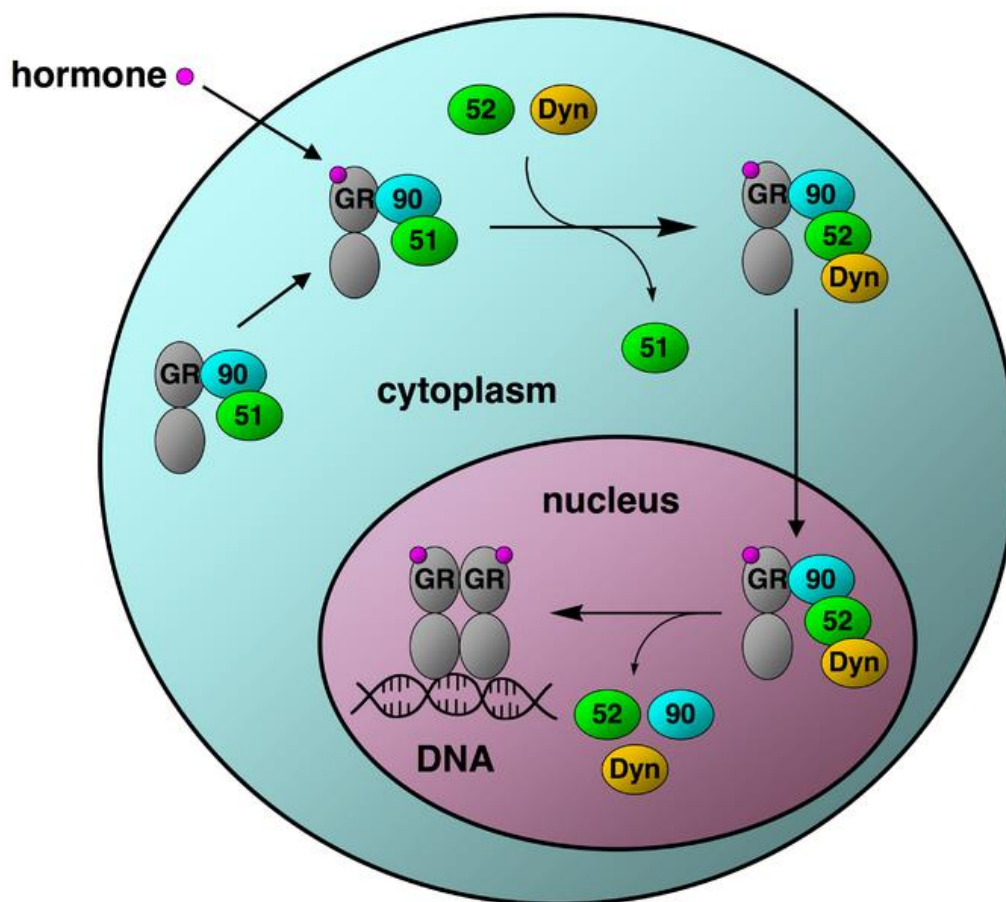
Az SLCO géncsalád által kódolt szerves anion transzporter polipeptid (organic anion transporting polypeptides, OATPs) szupercsalád számos anyag, köztük szteroidok nátrium és ATP független felvételét segíti. Bizonyos körülmények közt mindkét irányú transzportot is lehetővé tesznek.

Az ABC transzporter szupercsalád számos tagja is képes szteroid hormonok és metabolitjaik sejtbe juttatására ATP felhasználásával.

Az alacsony denzitású lipoprotein (low density lipoprotein, LDL) receptor géncsalád tagja, a megalin is képes kötőfehérjéhez kapcsolt szteroid internalizációjára, bár ezt elsősorban nemi hormonokkal kapcsolatban mutatták ki.

Ugyanitt kissé elavult a glükokortikoid receptorok molekuláris szabályozásának tárgyalása. Nem esik szó a receptorinterakcióról (pl. FKBP5, az SRC-család tagjai, ill. a receptorszignál kölcsönhatása az NF- κ B-val és a génexpressziós változásokkal).

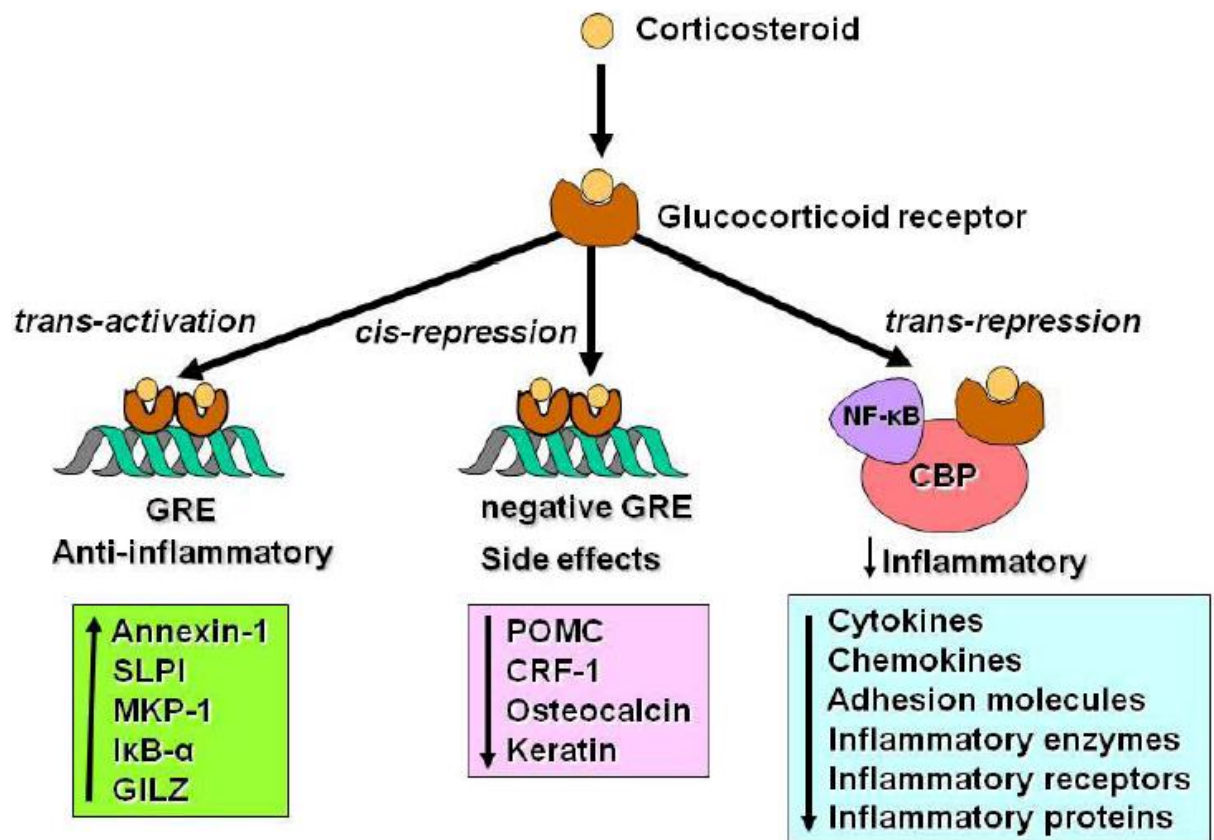
Mivel munkám során nem vizsgáltam molekuláris szintű folyamatokat, ezért nem tértem ki részletesen ennek ismertetésére. Így rögtön hiányzik a hősokk fehérjék említése is (2. ábra), melynek Csermely Péter biokémikus egy egész monográfiát szentelt (*Stresszfehérjék*, 2001).



2. ábra (Davies és mtsai, 2002, *J Biochem*) A glükokortikoid receptor (GR) a 90 kilodaltonos hőszokk fehérje (Hsp, 90) segítségével az FKBP51 (51)-hez (további dajkafehérje) kapcsolódik a citoplazmában, melynek hatására konformáció változás következik be és az FKBP51 kicserélődik FKBP52-re, mely dynein (Dyn) motorfehérjét köt. Ez segíti a komplex citoszkeletonhoz kötődését és a magba való szállítást. A magban a GR disszociál és dimerizálódik így képezve megfelelő transzkripciós faktort (mely komplexben további molekulák, pl. NF- κ B vagy steroid receptor coactivator-ok (SRC) is szerepelhetnek).

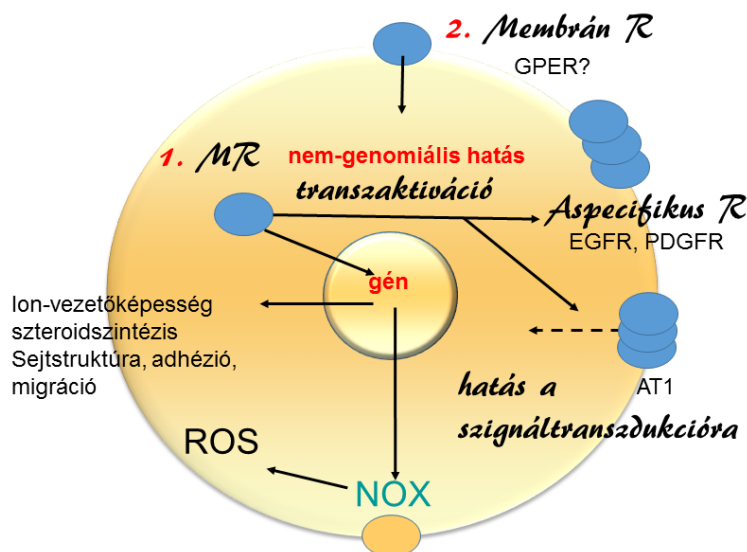
Klinikai vonatkozásai miatt különösen fontos az immunmediátorokkal való interakció. Ebben a vonatkozásban Barnes 2010-ben a *Pharmaceuticals*-ban megjelent munkájára hivatkoznék, aki elsősorban az NF- κ B interakcióra helyezte a hangsúlyt.

3. ábra, az idézett cikkből:



Az aldoszteronról idén publikált könyvfejezetben részletesebben kitértem a mineralokortikoid receptor néhány interakciójára (Zelena D. Aldosteron as a stress hormone, 2017 Nova Publisher).

4. ábra



Aldoszteron: MR – mineralocorticoid receptor; R – receptor; ROS – reactive oxygene species; NOX - nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase; GPER – G-protein coupled estrogen receptor; EGF -epidermal growth factor; PDGF -platelet derived growth factor; AT1 – angiotensin receptor type 1

19. old.

A szerző röviden érinti az anyai stressz hatását a magzat fejlődésére. A kérdés kapcsán rendelkezésünkre állnak újabb kulcsadatok is, különös tekintettel a humán agyi képződési eredményekre. Ennek tükrében érdemes lett volna kitérni az állatkísérletes adatok translációs potenciáljára.

Humán stresszvizsgálatok és különösen terhes nők stresszelése súlyos etikai problémákba ütközik (ezért a gyógyszerek klinikai tesztelése is kizárólag férfiakon folyik), így ebben a témában tudásunk jórészt retrospektív vizsgálatokra hagyatkozik egy véletlen „stresszor” (például természeti katasztrófa) hatásainak követésével. Egyes szerzők a magas anyai kortizol következményeként alacsony születési súlyt, magas vérnyomást, magatartási rendellenességeket és zavart agyi struktúrát találtak (*Reynolds 2013 Psychoneuroendocrinology*). Az *International Journal of Endocrinology*-ban 2015-ben megjelent összefoglaló munkám (*The janus face of stress on reproduction: from health to disease*) a stressznek a fertilitásra gyakorolt hatását és az in utero stressz korai és késői következményeit foglalta össze állatkísérletes és humán adatokat egyaránt felhasználva. Itt ezért csak Dick Swaab és munkacsoportja munkáját szeretném kiemelni, mivel ő az AVP szerepét kutatta és magyarul is elérhető monográfiája (*Az agyunk mi vagyunk, 2013, Libri kiadó*), mely az anya-magzat interakció számos érdekes aspektusát mutatja be (például a magzati agy aktív részvételét a szülésben). 1989-ben az *Early Hum Dev*-ben megjelent munkája patkány amnionfolyadékában talált magasabb AVP-szint fejlődési elmaradással való kapcsolatát tesztelte emberekben. Az amnionális AVP a magzati stressz (acidózis) jó mutatója volt, de nem függött össze a testmérettel. További munkák anencefal (nagyagy nélküli) magzatok amnionfolyadékában mutattak ki AVP-t, mely feltehetően a mellékveséből (de biztosan a perifériáról) származott (*Oosterbaan és Swaab, 1987 Am J Obstet Gynecol*).

Ugyanitt felmerült, hogy az SHRP alatt az AVP a fő szabályozó, mely periódus alatt kisebb a stresszválasz. Nem került kifejtésre, hogy mindez az AVP élettani jelentőségét erősíti vagy gyengíti, illetve pontosan milyen hipotéziseket épített a szerző az SHRP jelenségére.

A rágcslók korai posztnatális korszaka először stresszre egyáltalán nem reagáló periódusként (SNRP) volt elkönyvelve (pl. *Walker és mtsai, 1986 Endocrinology*), majd mikor további szerzők némi kortikoszteron választ kimutattak, stresszhiporeszponzív (SHRP) periódusra változott az elnevezés (*Saplosky és Meaney, 1986 Brain Res*). Az alacsony glükokortikoid válasz adaptív szerepe a magas szintek idegrendszeri károsító hatása miatt érthető, de valóban nem emeltem ki, hogy az AVP szabályozásnak akkor mi értelme is van, ha amit szabályoz (mármint a HHM tengely), annak aktivációja egyébként se jelentős ekkor (6.3.1.-es fejezet). Az AVP szabályozó hatása egyébként is csak az ACTH-ra vonatkozik, a glükokortikoidokat nem érinti, így ebben a vonatkozásban arra utalnék, hogy az ACTH-nak van a glükokortikoid szabályozáson túlmutató szerepe is (6.2.1.1.). A glükokortikoidokra vonatkozó SHRP (6.3.1.) és a stresszreaktivitás fenntartásának szükségessége alátámasztja azt az elméletünket, hogy a korai posztnatális periódus során az aldoszteron a fő stresszhormon, mivel a só-víz háztartás egyensúlya ebben az időszakban fontosabb is lehet, mint a glükokortikoidokhoz köthető folyamatok (6.3.2.2.). *Carrasco és Van de Kar 2003-as* összefoglaló munkájukban (*Neuroendocrine pharmacology of stress. az Eur J Pharmacol-ban*) is a renin-angiotenzin rendszer stresszszabályozására helyezték a hangsúlyt a HHM tengellyel összhangban.

Önkritikát gyakorolva megállapítom, hogy bár következetesen perinatális periódusról beszéltem, valójában a korai posztnatális időszak történéseivel foglalkoztam.

28. old.

Az AVP lehetséges jelentősége szorongásban és depresszióban ismert, ám a jelen tárgyalás némi kiegészítést igényel. Az értekezésben olvashatunk a V1b antagonistá SSR149415-ről, amelyről kiderült, hogy az ígéretes állatkísérletes eredmények ellenére nem hatásos generalizált szorongásos

és major depresszív zavarban (Griebel G et al., J Clin Psychiatry, 2012;73:1403). 2008-ban a Sanofi-Aventis beszüntette a szerrel kapcsolatos vizsgálatokat.

Köszönöm az észrevételt. A 6.5.2. pont alatt 273-as referenciával idéztem ezt a vizsgálatot. Bár a nem-peptid antagonisták, így a CRH antagonisták fejlesztését is úgy tűnik, hogy a legtöbb gyárban leállították szorongás-depresszió kórképekben, de még napjainkban is jelennek meg az irodalomban új V1b antagonisták.

2012 óta megjelent néhány releváns publikáció:

Katz DA, Locke C, Greco N, Liu W, Tracy KA. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and depression symptom effects of an arginine vasopressin type 1B receptor antagonist in a one-week randomized Phase 1b trial. *Brain Behav.* 2017 Feb 9;7(3):e00628. doi: 10.1002/brb3.628. eCollection 2017 Mar.

Iijima M, Yoshimizu T, Shimazaki T, Tokugawa K, Fukumoto K, Kurosu S, Kuwada T, Sekiguchi Y, Chaki S. Antidepressant and anxiolytic profiles of newly synthesized arginine vasopressin V1B receptor antagonists: TASP0233278 and TASP0390325. *Br J Pharmacol.* 2014 Jul;171(14):3511-25. doi: 10.1111/bph.12699.

Hodgson RA, Mullins D, Lu SX, Guzzi M, Zhang X, Bleickardt CJ, Scott JD, Miller MW, Stamford AW, Parker EM, Varty GB. Characterization of a novel vasopressin V1b receptor antagonist, V1B-30N, in animal models of anxiety-like and depression-like behavior. *Eur J Pharmacol.* 2014 May 5;730:157-63. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.02.027. Epub 2014 Mar 4.

Lee RJ, Coccaro EF, Cremers H, McCarron R, Lu SF, Brownstein MJ, Simon NG. A novel V1a receptor antagonist blocks vasopressin-induced changes in the CNS response to emotional stimuli: an fMRI study. *Front Syst Neurosci.* 2013 Dec 12;7:100. doi: 10.3389/fnsys.2013.00100. eCollection 2013.

30. old.

Félrevezető, hogy a 80-as években közölt két klinikai vizsgálat alapján az AVP hatásos szerként került ismertetésre a szkizofrénia pozitív, negatív és kognitív tüneteinek kezelésében. Már ekkor felmerültek kételyek: pusztán csekély javulást és jelentős elektorlitzavart írtak le (Iager AC et al., Am J Psychiatry, 1986;143:375.). A szerző nem szólt ugyanakkor arról, hogy a V2 antagonisták képesek a szkizofréniahoz társuló potenciálisan súlyos hiponatrémia enyhítésére (Josiasen RC et al., Biol Psychiatry, 2008;64:1097). Újabban intranasalisan adott desmopressin jótékony hatását mutatták ki főleg a negatív tünetek esetében (Hosseini SM et al., Eur Neuropsychopharm, 2014;24:846.)

Köszönöm a kiegészítést. A stresszel való szorosabb kapcsolata miatt az AVP szorongás-depresszió-szerű magatartásokra gyakorolt hatását emeltem ki a dolgozatomban, de kb. 5 évet töltöttem a Brattleboro patkányok szkizofrénia-szerű viselkedésének tanulmányozásával is, amit dolgozatom bevezetőjében csak nagyon röviden érintettem. Ez a munka Feifel és munkatársai nyomán indult, akik szenzomotoros gátlás (prepulse inhibition, PPI) tesztben figyelték meg a Brattleboro patkányok szkizofrénia-szerű viselkedését. Kezdeti eredményeinket 2016-ban közzétettük (Demeter K, Török B, Fodor A, Varga J, Ferenczi S, Kovács KJ, Eszik I, Szegedi V, Zelena D. Possible contribution of epigenetic changes in the development of schizophrenia-like behavior in vasopressin-deficient Brattleboro rats. *Behav Brain Res.* 2016 Mar 1;300:123-34. doi: 10.1016/j.bbr.2015.12.007. Epub 2015 Dec 15.).

2015 nyarán Bécsben tartott Amino Acid Peptides and Proteins konferencián mutattam be az alábbi összefoglalást, melyben törekedtem a fellelhető irodalom pro- és kontra érveinek felsorakoztatására mind klinikai vizsgálatok, mind a Brattleboro patkányok kapcsán.

Vasopressin (AVP) in schizophrenia

Neurophysin II (AVP associated protein) concentration is **greater** in the liquor of schizophrenics. Linkowski et al. 1984 Eur Arch Psychiatry Neurol Sci 234:162-5

Not appropriate AVP release in schizophrenics. Ohsawa et al. 1993 Acta Psychiatr Scand 88:130-4

Alteration of neurophysin-immunoreactivity in schizophrenia. Mai et al. 1993 J Hirnforsch 34:133-54.

Psychotic exacerbations are associated with **enhanced AVP**, schizophrenic patients are often polydipsic, however with hyponatremia. Goldman et al, 1997 Arch Gen Psychiatry 54:443-9

Basal AVP level is **lower** in schizophrenics. Elman et al, 2003 J Psychopharmacol 17:317-23.; Frederiksen et al, 1991 Acta Psychiatr Scand 83:273-7; Jobst et al, 2014 Acta Neuropsychiatr 1-9.

AVP (also OT) genes are significantly associated with schizophrenia in a large Arab-Israeli pedigree. Teltsh et al. 2012 Int J Neuropsychopharmacol 15:309-19

AVP (not OT) is **lower** in the plasma of schizophrenics (91 patient). Rubin et al. 2014 Schizophr Bull. 40:1374-84

AVP 1a receptor (AVPR1a) RS3 polymorphism was not associated with schizophrenia, but the allele 327bp was associated with negative symptoms. Golimbet et al, 2015 Psychiatry Research 225:739-40

In non-clinical subject (113!) there was an association between AVPR1a promoter region polymorphisms and PPI. Levin et al. 2009 Psychoneuroendocrinology 34:901-8.

Therapy (with AVP analogues)

Pitressin treatment of mental patients resulted in a 40% improvement.

Forizs 1952 Dis Nerv Syst 13:44-7; N-C.Med.J. 1952 13:76-80 Started in **1937!**

A placebo-controlled cross-over study with lysine-8-vasopressin showed beneficial effect on thought disorder and anergia, but no global effects on the schizophrenic syndrome. Korsgaard et al. 1981 Psychopharmacology 74:379-82; Vranckx et al. 1979 in Biological Psychiatry Today, Elsevier 753-58

Synthetic AVP treatment improved the conditioned of paranoid schizophrenics. Bakharev et al. 1984 Zh Nevropatol Psikhiatr Im S S Korsakova 84:88-92

A 3-month double-blind, placebo-controlled trial with an AVP analogue in 10 patients showed modest improvement with significant fluid and electrolyte imbalance. Iager 1986 Am J Psychiatry 143: 375-77

DDAVP (30 days) improved the memory function (9/13 patient) Brambilla et al., 1986 Neuropsychobiology 15:114-21;

DDAVP (20 days) improved the negative symptoms of schizophrenia and the memory functions. Brambilla et al., 1989 Neuropsychobiology 20:113-9

Brattleboro rat as a schizophrenic model

PPI

Feifel et al, compared to Long Evans

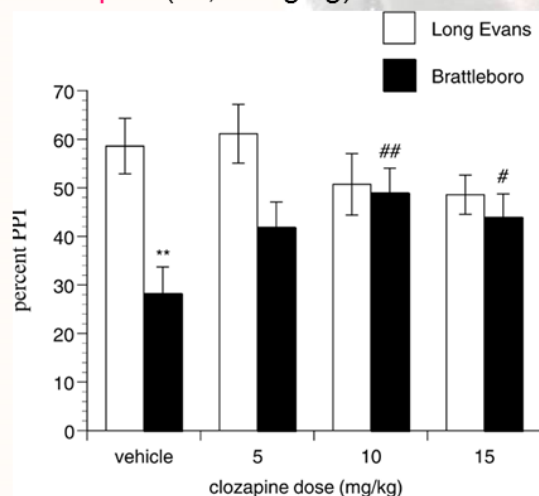
Feifel and Priebe, **2001** Biol Psychiatry 50:425-433 Subchronic **haloperidol** (0.5mg/kg)

Feifel et al. 2004 Neuropsychopharmacology 29: 731-8

Acute **haloperidol** (0.1, 0.5, 1mg/kg) ineffective

PD 149163 (neurotensin agonist) already in 1mg/kg dose effective

Clozapine (10, 15mg/kg) effective



Feifel et al., 2007 Behavioural Brain Res 181: 278-86

Problems:

Long Evans control

One test

(obsessive compulsive disorder (OCD) and Gilles de la Tourette's syndrome (GTS)) Kohl et al, 2013 J Psych Res 47:445-452

Single research group

Questionable role of AVP

Végül megemlítendő, hogy a bevezető részből nagyon hiányzik az oxytocin ismertetése, a vonatkozó hipotézisek, pedig ezzel kapcsolatban méréseket is végeztek, igen érdekes eredményekkel.

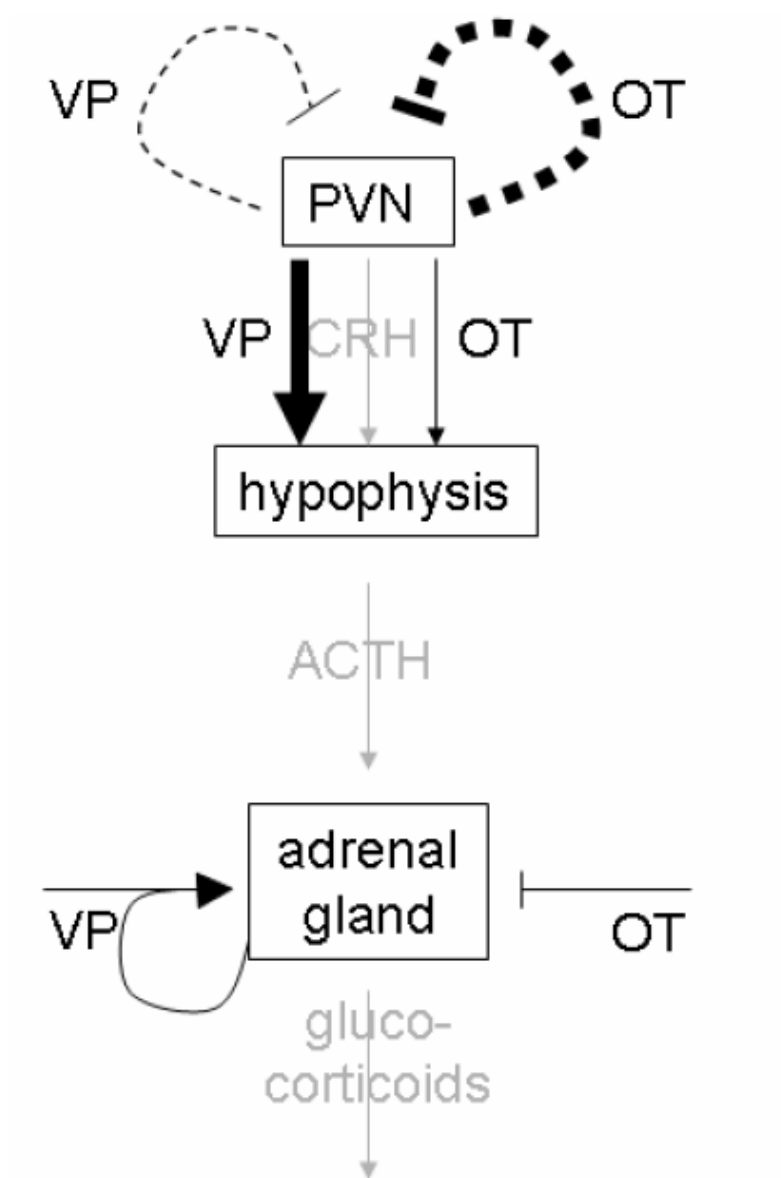
Mivel az oxytocin mondhatni egy külön univerzum (manapság talán kicsit divatosabb is, mint az AVP), ezért inkább ebbe nem bonyolódtam bele.

2009-ben megjelent könyvfejezetben részletesen összehasonlítottam a két „testvérpeptidet” és innen valóban idézhettem volna egy ábrát.

Zelena D., Jain SK., *Oxytocin and Vasopressin in Stress and Stress-Related Diseases: Yin/Yang Counterparts or Substitutes?* Nova Publisher, In: *Handbook of Oxytocin Research* Editor: Hugo Jastrow and Daniela Feuerbach, Chapter 1. p 1-34 (2009)

6. ábra

A HHM tengely szabályozása: AVP és oxytocin szerepe. A szürke nyilak a tengely klasszikus szabályozását jelzik. A nyilak serkentést, míg a tompa végek gátlást jeleznek. A vonal vastagsága a befolyás fontosságára utal. A pontozott vonalak indirekt szabályozás lehetőségét vetik fel.



Az elkövetkezőkben rátérek a módszertani résszel kapcsolatos kérdésekre.

37. old.

Mi indokolta az éter-stressz használatát? Milyen humán stresszhelyzet analógiájának felel meg?

Pályám kezdetén számos, a stresszkutatásban klasszikusan használt stimulust használtunk, melyek közé tartozott az éter is. Előnye, hogy ez mindig, minden körülmények közt erősen aktiválja a HHM tengelyt, és egyértelműen látható, ha hat (elalszik az állat). A motoros és agyi komponens kikapcsolható, ezért még ma is alkalmazzák (Ikeda és mtsai 2007 *FEBS Letter*, Alzheimer kórral kapcsolatos vizsgálat). Továbbá Rivier és Vale 1983-as *Nature*-ban megjelent tanulmánya szerint az AVP is szerepet játszhat az éter stressz hatására kialakuló ACTH válaszban.

Később próbálunk enyhébb és az emberben is előforduló stresszorokhoz hasonló stimulusokat használni. Pl. a bakteriális fertőzés modelljének számító lipopoliszaccharid (LPS), mint baktériumfal injekció, vagy hipoglikémia.

Az NMDA/kainát receptorokon ható szerekkel történő kezelés miért stressz?

Selye János 1936-ban a *Nature*-ban megjelent első, stresszkonceptióval kapcsolatos cikkében is számos stresszort említ (exposure to cold, surgical injury, production of spinal shock (transcission of the cord), excessive muscular exercise, intoxications with sublethal doses of diverse drugs (adrenaline, atropine, morphine, formaldehyde, etc.)), melyek között a különféle anyagok szubletális dóziséval való mérgezés is gyakran előfordul. Ebből az aspektusból mintegy „kémiai stresszornak” tekintve mindenféle anyag beadása stressz-reakciót is kivált a szervezetből. *Gregs és mtsai 2013-as Scientific Reports*-ban megjelent cikkükben kimutathatatlanul alacsony dózisu környezeti szennyezések, mint stresszorok összeadó hatására hívták fel a figyelmet. Paradox módon a glükokortikoid szintézisét gátló metirapont is kémiai stresszor elnevezéssel illeti egy 2008-ban a *Biological Psychiatry*-ban megjelent tanulmány (*Kako és mtsai, Mood and Neuroendocrine Response to a Chemical Stressor, Metirapone, in Buprenorphine-Maintained Heroin Dependence*). A PhD disszertációm az excitátoros aminosavak stressz-tengelyre gyakorolt hatásából írtam és ennek mintegy maradványa volt érdeklődésem az NMDA/kainát hatása iránt.

A stresszexpozíciónak nem kitett állatokkal miért nem végeztek magatartásvizsgálatokat?

Pályám kezdetén a neuroendokrin jellegű kérdések izgattak és 2007-től kezdtem érdeklődni a stresszhez kapcsolható magatartási vizsgálatok iránt. Így korábbi munkáimból a magatartás vizsgálatok hiányoznak. Hozzá tenném azonban, hogy minden magatartás vizsgálat egyfajta stresszhelyzet is, ezért nem igazán tudom értelmezni a stresszexpozíciónak nem kitett állatok magatartásvizsgálatait.

38. old.

A házilag gyártott U-alakú mikrodialízis-mintavevő működését hogyan validálták?

Az U alakú mikrodialízis-mintavevő német kollaborátorom, Marió Engelmann a magdeburgi Otto von Guericke Egyetem habilitált professzorának laboratóriumából származott. A félígáteresztő membrán vesedializáltak dialíziskészülékéből eredt. A membrán intakt voltát a beültetés előtt szemrevételezéssel igazoltuk. Az átfolyási sebesség megfelelő beállítását a 30 perc alatt nyert 100µl folyadék megjelenése igazolta. A megfelelő működést a dialízismintából nyert anyag radioimmunoassay-s mérése támasztotta alá.

A mintavevő AVP mérésre való első alkalmazását *Landgraf és Ludwig 1991-es Brain Research*-ben megjelent cikke tartalmazza, mely leírja, hogy az AVP-nek kb 2%-a jut át a membránon (*Vasopressin release within the supraoptic and paraventricular nuclei of the rat brain: osmotic stimulation via microdialysis.*) (részleteket lásd *Csikota P, Fodor A, Balázsfi D, Pintér O, Mizukami H, Weger S, Heilbronn R, Engelmann M, Zelena D. Vasopressinergic control of stress-related behavior: studies in Brattleboro rats. Stress. 2016 Jul;19(4):349-61. doi: 10.1080/10253890.2016.1183117. Epub 2016 May 17.*)

44. old.

Az agyterületek vizualizálásánál a 20-szoros nagyítással végzett digitalizációt alkalmaztak. Ez az eljárás elégséges felbontást biztosít? A pozitív elemek minimális méretét miért 20 pixelben határozták meg, és miért az adott felbontáson?

Ezek a beállítások tapasztalaton alapultak. A disszertáció 19-es ábrája és a mért adatok is arra utalnak, hogy ez a felbontás megfelelő volt a teljes vizsgált struktúra megjelenítésére azzal együtt, hogy a pozitívan festődő magokat még el lehetett különíteni. A 20 pixelnél kisebb struktúrák már bizonyosan nem magok, hanem szennyeződést jeleznek.

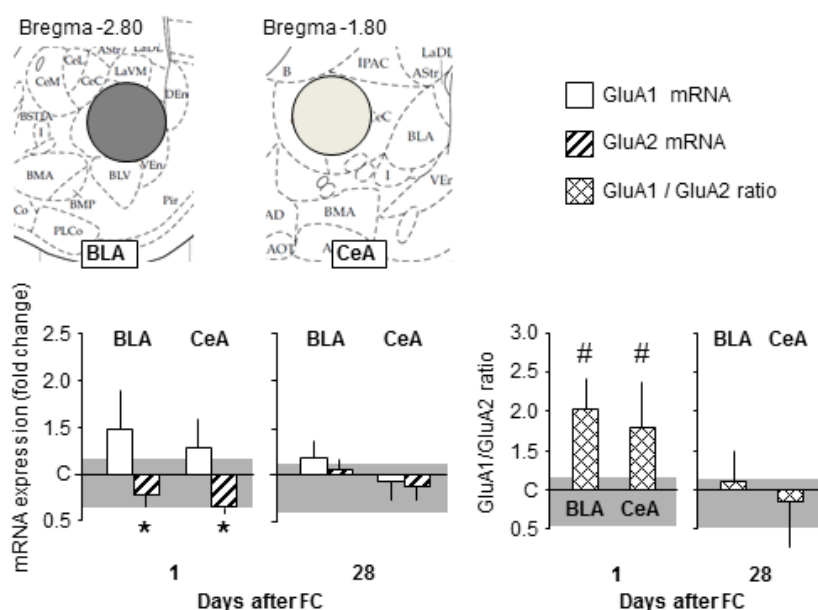
45. old.

A hippocampus feldolgozása után végzett qPCR számos kérdést felvet. Jól ismert, hogy a hippocampusban több alrégió található eltérő cytoarchitektonikával, és az itt lévő sejtek génexpressziós profilja is különböző. Kérdéses, hogy ennek ismeretében milyen információt ad általánosságban, alrégió és sejtípus-specifikáció nélkül mRNS kifejeződésről beszélni.

A technika fejlődésével egyre kisebb mintamennyiségekből (pl egyes alrégiók „micropunch”-olása után) vált meghatározhatóvá sok minden, például az mRNS mennyisége is. Legutóbbi munkánkban például az amigdala egyes területeit elkülönítve vizsgáltuk, bár nem kaptunk eltérő eredményt. (Zelena D, Mikics É, Balázsfi D, Varga J, Klausz B, Urbán E, Sipos E, Biró L, Miskolczi C, Kovács K, Ferenczi S, Haller J. Enduring abolishment of remote but not recent expression of conditioned fear by the blockade of calcium-permeable AMPA receptors before extinction training. *Psychopharmacology (Berl)*. 2016 Jun;233(11):2065-76. doi: 10.1007/s00213-016-4255-4. Epub 2016 Mar 28.)

7. ábra

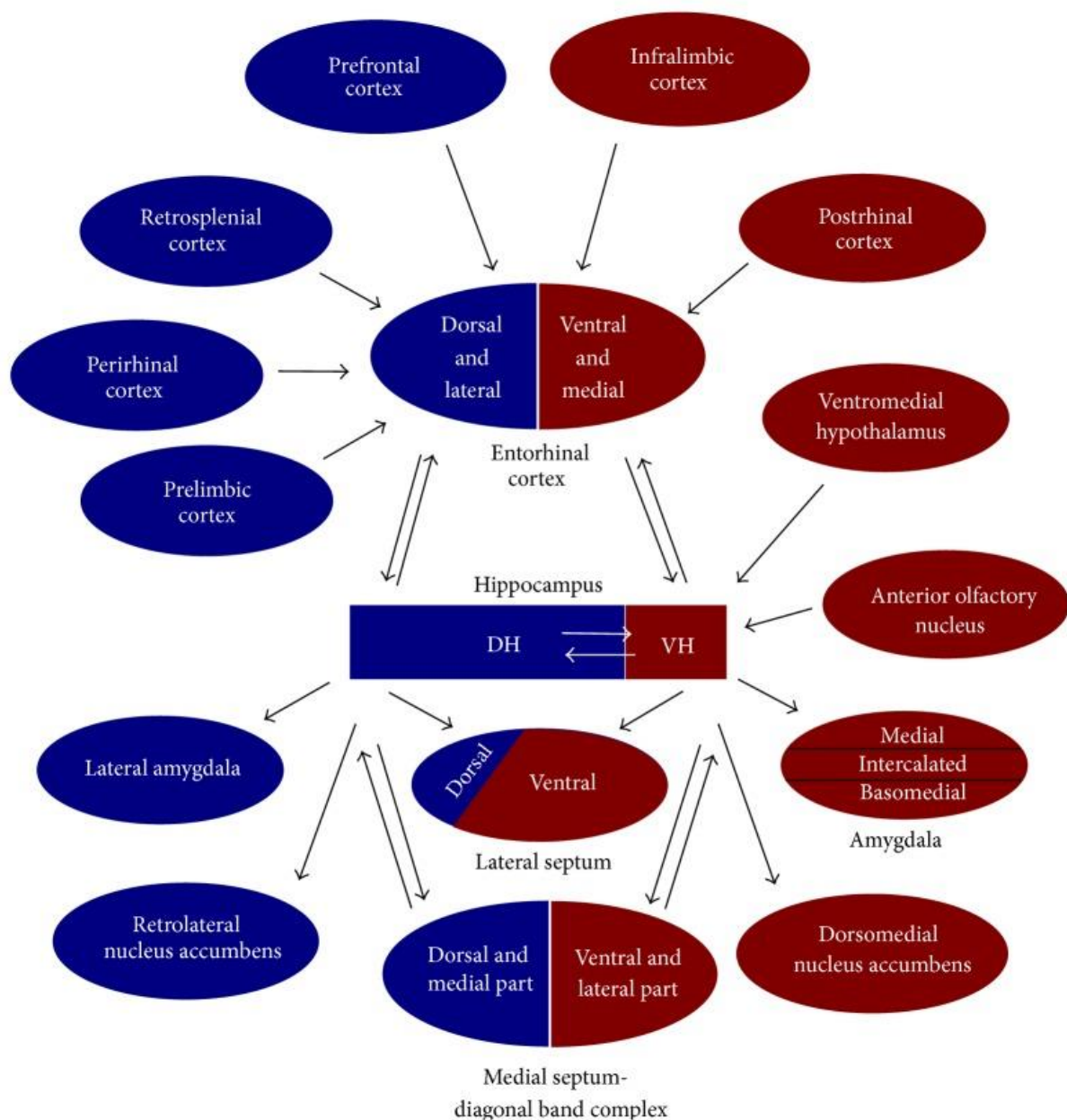
A félelmi kondicionálás hatása a glutamát receptor 1-es alegység (GluR1) és GluR2 mRNA expressziójára 1 és 28 nappal a lábsokkolás, mint traumatizáló élményt követően. Az agyi "punch"-ok a Paxinos és Watson (2007) patkány agyatlasz alapján lettek meghatározva. Rövidítések: FC, fear conditioning; BLA, basolateral amigdala; CeA. central amigdala; mean $\pm$ SEM, # $p < 0,05$ vs nem kondicionált kontroll; * $p < 0,05$ vs GluR1.



A kiterjedt hippokampusz valóban akár ellentétes működésekkel is bírhat, melynek alapját más kapcsolati rendszerük szolgáltathatja.

8. ábra

Grigoryan G, Segal M. Lasting Differential Effects on Plasticity Induced by Prenatal Stress in Dorsal and Ventral Hippocampus. *Neural Plast*. 2016;2016:2540462. doi: 10.1155/2016/2540462. Epub 2016 Jan 10.



Érdekes módon a „szokásos” dorzo-ventrális felosztás mellett antero-poszterior és jobb-bal irányú tagozódás is megfigyelhető a hippocampusban (Maruszak A, Thuret S. *Why looking at the whole hippocampus is not enough-a critical role for anteroposterior axis, subfield and activation analyses to enhance predictive value of hippocampal changes for Alzheimer's disease diagnosis. Front Cell Neurosci.* 2014 Mar 31;8:95. doi: 10.3389/fncel.2014.00095. eCollection 2014.).

A kapott eredményeink (5.3.2.5.2., 45. ábra), azaz a posztnatálisan alacsonyabb GR és MR és magasabb 11 β HSD2 szint a káros glükokortikoid hatás elkerülésére, egész hippocampuszon végzett mérésünket mégis értelmessé teszi. Az agyban 11 β HSD2 jelenléte sokáig kérdéses volt, úgy tartották, hogy a mineralokortikoidok nem képesek itt hatni (Geerling és mtsai, 2006 *J Comp Neurol*). Utóbbi években számos tanulmány cáfolta ezt az elképzelést.

Például szlovák kollaborátorunk, Daniela Jezova, a Szlovák Tudományos Akadémia volt főtitkárhelyettese, és csoportjának munkái:

Hlavacova N, Wes PD, Ondrejckova M, Flynn ME, Poundstone PK, Babic S, Murck H, Jezova D. Subchronic treatment with aldosterone induces depression-like behaviours and gene expression changes relevant to major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012 Mar;15(2):247-65. doi: 10.1017/S1461145711000368. Epub 2011 Mar 4.

Franklin M, Bermudez I, Hlavacova N, Babic S, Murck H, Schmuckermair C, Singewald N, Gaburro S, Jezova D. Aldosterone increases earlier than corticosterone in new animal models of depression: is this an early marker? *J Psychiatr Res.* 2012 Nov;46(11):1394-7. doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.07.010. Epub 2012 Aug 14.

Büttner M, Jezova D, Greene B, Konrad C, Kircher T, Murck H. Target-based biomarker selection - Mineralocorticoid receptor-related biomarkers and treatment outcome in major depression. *J Psychiatr Res.* 2015 Jul-Aug;66-67:24-37. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.04.012. Epub 2015 Apr 23.

Franklin M, Hlavacova N, Babic S, Pokusa M, Bermudez I, Jezova D. Aldosterone Signals the Onset of Depressive Behaviour in a Female Rat Model of Depression along with SSRI Treatment Resistance. *Neuroendocrinology.* 2015;102(4):274-287. Epub 2015 May

és mások közleményei:

Murck H, Büttner M, Kircher T, Konrad C. Genetic, molecular and clinical determinants for the involvement of aldosterone and its receptors in major depression. *Nephron Physiol.* 2014;128(1-2):17-25. doi: 10.1159/000368265. Epub 2014 Nov 6.

Bay-Richter C, Hallberg L, Ventorp F, Janelidze S, Brundin L. Aldosterone synergizes with peripheral inflammation to induce brain IL-18 expression and depressive-like effects. *Cytokine.* 2012 Dec;60(3):749-54. doi: 10.1016/j.cyto.2012.08.016. Epub 2012 Sep 13.

Murck H, Schüssler P, Steiger A. Renin-angiotensin-aldosterone system: the forgotten stress hormone system: relationship to depression and sleep. *Pharmacopsychiatry.* 2012 May;45(3):83-95. doi: 10.1055/s-0031-1291346. Epub 2012 Jan 30. Review.

Az AVP-hiányos állataink magasabb 11 β HSD2 szintjei arra utalnak, hogy bennük erősebb lehet az aldosteron hatása. Valóban, a só-vízháztartásra ható AVP és renin-angiotenzin rendszer számos ponton (így az agyban is) befolyásolja egymás működését.

Janiak P, Brody MJ. Central interactions between aldosterone and vasopressin on cardiovascular system. *Am J Physiol.* 1988 Jul;255(1 Pt 2):R166-73.

Kadota M, Ise T, Yagi S, Iwase T, Akaike M, Ueno R, Kawabata Y, Hara T, Ogasawara K, Bando M, Bando S, Matsuura T, Yamaguchi K, Yamada H, Soeki T, Wakatsuki T, Sata M. Response Prediction and Influence of Tolvaptan in Chronic Heart Failure Patients Considering the Interaction of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Arginine Vasopressin. *Int Heart J.* 2016 Jul 27;57(4):461-5. doi: 10.1536/ihj.15-491. Epub 2016 Jun 29.

Izumi Y, Hori K, Nakayama Y, Kimura M, Hasuike Y, Nanami M, Kohda Y, Otaki Y, Kuragano T, Obinata M, Kawahara K, Tanoue A, Tomita K, Nakanishi T, Nonoguchi H. Aldosterone requires vasopressin V1a receptors on intercalated cells to mediate acid-base homeostasis. *J Am Soc Nephrol.* 2011 Apr;22(4):673-80. doi: 10.1681/ASN.2010050468. Epub 2011 Mar 17.

Angeli M, Moura AM, Worcel M. Interaction between aldosterone and vasopressin on vascular smooth muscle permeability to sodium. *J Steroid Biochem.* 1988;30(1-6):477-8.

Tény azonban, hogy a RAAS rendszer más elemeivel (pl. angiotenzin II) is kell számolnunk, ha az AVP-aldoszteron kölcsönhatással foglalkozunk (lásd *Zelena D Aldosterone as a stress hormone, 2017 Nova Publisher*).

46-47. old.

A szorongás és a depresszió komplex fenotípussal rendelkezik. Ennek ellenére az állatkísérletes modellekben csupán egy-egy viselkedési paradigmát alkalmaztak, így számos jelenségkör lehetséges stressz- és genotípus-függése ismeretlen maradt.

Köszönöm a felvetést, mellyel teljesen egyet értek. Amennyire lehet, a stressz kutatásban is igyekszem számos, eltérő kategóriájú stresszort összevetni, és a magatartás vizsgálatok során is „test-battery”, azaz több viselkedéstezt lefuttatására törekszem. Az idézett cikkekből csak egy-egy teszt került kiragadásra, leginkább azok, melyek több cikkben is előfordultak, hogy jobban összehasonlíthatók legyenek. A következőkben két komplexebb összehasonlító táblázatot mellékelek szemléltetésül.

9. ábra (Csikota és mtsai, 2016 Stress)

di/+ = heterozigóta; +/+ = homozigóta, AVP-szintetizáló Brattleboro patkány; DW = visszahúzódas (defensive withdrawal); EPM = emelt keresztpalló (elevated plus maze); FS = kényszerített úszás teszt (forced swimming); sucrose =cukor preferencia/anhedónia teszt; DDAVP = desmopressin, V2 receptor agonista; ND = nem mért (not determined); PVN = paraventricular nucleus of the hypothalamus; + = p<0.05, ++ = p<0.01 szignifikáns különbség a di/di és kontroll átlalok közt; (+) = trendek, - = nincs különbség

Experimental subject	Treatment	Control genotype	DW	EPM	FS	Sucrose	Publication
Male	None	di/+	ND	-	++	+	Mlynarik 2007
Female	None	+/+	ND	+	+	+	Fodor 2015
Lactating	None	+/+	ND	-	+	+	Fodor 2012
Male	DDAVP	+/+	+	+	++	-	Balázsfi 2015
Male	Retrodialysis of AVP into the PVN	+/+	+	+	ND	ND	
Male	Retrodialysis of AVP into the septum	+/+	-	(+)	+	ND	
Male	AVP synthesis rescue in the PVN	+/+	(+)	(+)	(+)	ND	

10. ábra (Fodor és mtsai, 2016 Physiology and Behavior)

=: nincs különbség a genotípusok közt; ↓: AVP-deficiens állat alacsonyabb szinteket, vagy kedvezőbb pszichopatológiával összefüggő magatartást mutatott; ↑: AVP-deficiens állat magasabb sziteket, vagy kedvezőtlenebb magatartást mutatott; ND: nincs adat (no data); *: három kísérletből egyben

Tests	Female	Male
Anxiety-like behavior		
Open-field (OF)	=	=
Elevated plus maze (EPM)	↓	(↓)*
Marble burying (MB)	=	↓
Novelty-Induced Hypophagia (NIH)	=	ND
Memory and social behavior		
Novel object recognition (NOR)	=	↑
Social recognition	=	↑
Social avoidance	=	↑
Depression-like behavior		
Anhedonia	↓	↓
Forced swim (FST)	↓	↓
Stressed-hormone levels (ACTH/Corticosterone)		
Basal	=/=	=/=
Open-field (OF)	=/=	↓/=
Elevated plus maze (EPM)	↓/↓	↓/=
Forced swim (FST)	=/=	↓/=

A módszertani részt követően áttérek az eredmények értékelésére.

Az eredmények összességében áttekinthetően és logikusan kerültek bemutatásra, kiemelve a lényeges pontokat a rendkívül szerteágazó adathalmazokból. Hiányoznak viszont a statisztikai hatásmegnyilvánulásokra utaló paraméterek: csupán a p-értékeket ismertetette a szerző, nem találunk F-, df- és d-értékeket.

Úgy éreztem, hogy a részletesebb statisztikai adatok megadása feleslegesen hosszította volna a szöveget, sokszor megszakítva a mondat folyamát anélkül, hogy érdemben hozzátett volna a mondanivalóhoz. Mivel minden adat korábban publikált eredmények „újrarendezése” volt, ezért hivatkoztam az eredeti közleményekre, ahol ezek az adatok szerepelnek. „A részletesebb statisztikai adatokat (pl. szabadsági fokok, F értékek) lásd a vonatkozó cikkekben.”

61. old.

A 26. és 27. ábrán látható adatok ellentmondásosak két vizsgálat tekintetében: nem tisztázott, hogy az AVP hiánya önmagában is emelkedett kortikoszteronszintet okoz, vagy sem?

Valóban, az egyes kísérletek között tapasztalható volt eltérés a nyugalmi kortikoszteron szintek vonatkozásában. Ezt a kérdést a 6.1.1. második bekezdésében próbáltam megválaszolni.

„Az Mo esetén az AVP-hiányos állatok **nyugalmi** kortikoszteron **szintjei** magasabbak voltak, mint kontroll társaiké. A di/di állatok kisebbek, állandó ivási kényszerük van, így feltehető, hogy „nyugalmi” körülmények között is krónikus stressz állapotban vannak. Ezt alátámasztja a (néha tapasztalható; vö. 27. ábra emelkedés és 26, 28. ábra normál szint) magasabb „nyugalmi” kortikoszteron szintjük is. Ennek megfelelően feltehetnénk, hogy bennük további, krónikus stresszre utaló elváltozások nem képesek kifejlődni. De ez akkor lenne probléma, ha a di/di állatokban csökkent stresszreaktivitást látnánk, mert nem lehetnénk biztosak benne, hogy ez tényleg az AVP-hiány hatása-e, vagy csak a di/di állatok fokozott „nyugalmi” HHM tengely aktivitása miatt létrejött csökkent reaktivitás. A krónikus Mo kezeléssel kísérletnél a kontroll állatok is kaptak sorozatos injekciókat, amik befolyásolhatták a mért „nyugalmi” szinteket. Továbbá számos kísérletből származó adatunkat összesítve nem volt szignifikáns különbség a genotípusok között a nyugalmi ACTH és kortikoszteron szintjeik tekintetében (7. táblázat), bár mindig tapasztaltunk egy tendenciát a magasabb kortikoszteron szintekre.

	ACTH (fmol/ml)		Kortikoszteron (pmol/ml)	
	dekapitálás	sorozat vérvétel	dekapitálás	sorozat vérvétel
di/+	23,9±3,0 (136)	70,6±10,5++ (83)	137,4±17,6 (142)	277,4±41,4++ (66)
di/di	21,0±1,5 (135)	82,8±10,7++ (75)	175,2±13,7 (140)	332,7±43,5++ (63)

7. táblázat Nyugalmi hormonszintek. Zárójelben az állatok száma. ++p<0,01 vs dekapitálás (Zelena és mtsai, 2009 1. táblázata alapján)

Vizsgálataink összességében arra utalnak, hogy a nyugalmi ACTH és kortikoszteron hormonszintek fenntartásában nincs szerepe az AVP-nek."

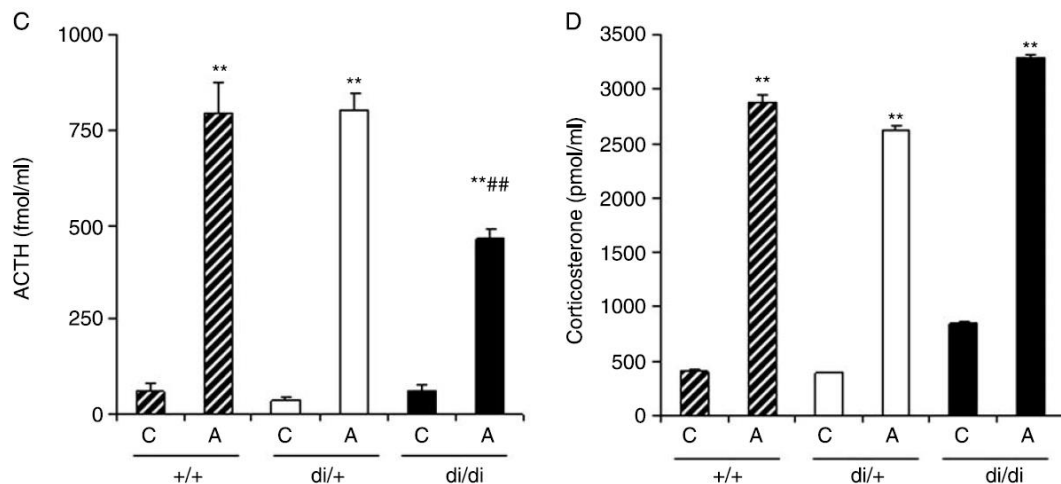
A di/+ és di/di állatok mellett miért nem alkalmaztak +/+ genotípusú állatokat is? A 30. ábrán (agyi aktivitás monitorozása c-fos pozitív sejtek meghatározásával) már +/+ kontrollok vannak. Ez több, más helyen is gondot okoz, és megnehezíti az egyes vizsgálatok összehasonlítását (lásd pl. CRH pozitivitás 29. és 32. ábra).

Ezt a problémát az okozza, hogy a vizsgálataink kb 20 éven keresztül folytak.

Kísérleteink megkezdésekor nem álltak rendelkezésre +/+ genotípusú állatok, ezért az irodalomban elfogadott heterozigóta patkányokat használtuk kontrollként (*Bohus B, de Wied D. The vasopressin deficient Brattleboro rats: a natural knockout model used in the search for CNS effects of vasopressin. Prog Brain Res. 1998;119:555-73.*). Később a világon egyedülálló módon mi tenyésztettük ki a +/+ vonalat, és ezt követően igyekeztünk a legtöbb vizsgálatnál ezeket alkalmazni. A posztnatális korban azonban úgy éreztük, hogy az alomtársak és az anya befolyása különösen erős, így ekkor megmaradtunk a testvérek (azaz di/di és di/+ állatok) összehasonlításánál. A +/+ genotípus kitenyésztése után próbáltuk több helyzetben bizonyítani, hogy a +/+ és di/+ állatok nem térnek el számottevően egymástól (lásd 11. ábra). A későbbiekben viszont csak elvétele alkalmaztuk mindhárom genotípust, márcsak a három R állatvédelmi szemlélettel összefüggésben is (replacement-reduction-refinement).

11. ábra (Zelena és mtsai, 2007 J Endocrinol)

Gyors hatású inzulinnal előidézett hipoglikémiás stressz (3NE/kg 60 perccel a vérminta gyűjtése előtt 18 óráig éhező állatnak). ACTH: adrenokortikotropin, C: kontroll, ip fiziológiás só injekció, A: Actrapid, di/+ : heterozigóta, di/di: vazopresszin-hiányos homozigóta

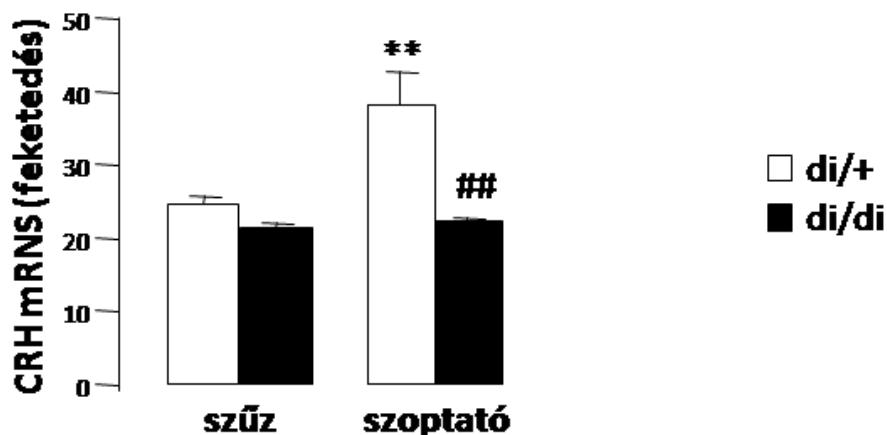


62. old.

A 29. ábrához kapcsolódva a szerző leszögezi, hogy a di/di állatok CRH mRNS szintje általában is alacsonyabb volt a di/+ genotípushoz képest. Az ábrán azonban ez a hatás nem látszik. Érdekes lenne kifejtetni, hogy az „általában alacsonyabb” jelenség hátterében pontosan milyen statisztikai részletek állnak.

Ez a kijelentés a két szempontos ANOVA eredményét alapul, mely szignifikáns genotípus fő hatás szerepel a szövegben is. „A di/di-s állatok CRH mRNS szintje általában is alacsonyabb volt a di/+ állatokhoz képest (genotípus: $p < 0,01$).” Az ábrán is látható, hogy a sötét oszlopok összességében alacsonyabbak a világos oszlopoknál. Az ábrákon jelölt poszthoc összehasonlítás esetén a szűzeknél nincs különbség a genotípusok közt, ezért itt nem szerepelnek jelzések, csak a laktáló állatoknál (lásd ##).

A disszertáció hivatkozott 29-es ábrája:



63. old.

A 6. táblázat szerint bizonyos stresszorok esetében különbséget figyeltek meg ACTH és kortikoszteron szekrécióban a di/di és di/+ állatok esetében. Mi magyarázza ezeket a különbségeket nagyon hasonló stresszorok esetében is (pl. szociális elkerülés és szociális kudarc)?

Munkánk kezdetén mi is azt reméltük, hogy valamilyen, kezdetben említett stresszorkategória mentén leszünk képesek az AVP hatását felderíteni. Az AVP szociális kapcsolatokban betöltött szerepe alapján (lásd AVP adással a „csélcsp” hegyi pocok monogám „préripocokká” tehető; Winslow és mtsai, 1993 Nature; Young és mtsai 1999 Nature; Lim és mtsai 2004 Nature) mi is az említett kategóriákban vártunk fontos szerepet, azaz nagy különbséget a di/di és di/+ állatok közt. Mondhatjuk, hogy esetleges

kompenzáció (például oxitocin emelkedés) miatt nem tapasztaltuk meg az AVP hatását, de akkor ezt egyformán kellett volna látnunk mindkét szociális (pszichogén) stresszor esetén.

A szociális elkerülés laboratóriumunkban kidolgozott egyfajta szorongásteszt (*Haller és Bakos, 2002 Physiol Behav, Haller és mtsai 2003 Behav Pharmacol*) és alapvetően megállapíthatjuk, hogy az AVP szerepe a szorongás szabályozásában kérdéses. Így nem csoda, ha ebben az esetben nem láttunk különbséget a genotípusok közt. A szociális kudarc esetén az állatot megverték, ahol erősebb a fizikai stresszor (fájdalom) faktor, valamint a depressziós hatás, ahol pedig az AVP szerepe erőteljesebbnek bizonyult. Ez magyarázhatja, hogy ebben az esetben az AVP szerepe előtérbe került a stresszfolyamatok szabályozásában. Valószínű, hogy ekkor sem a hipofízis V1b receptorain való közvetlen HHM tengely hatásról, hanem más agyi (és perifériás) struktúrákon keresztül, azaz a stresszor észlelésének, megítélésének megváltoztatása révén kialakuló hatásról van szó.

71. old.

A gyomorfekély és a mortalitás tekintetében nonintuitív eredmények születtek. Volt-e különbség a fekély lokalizációjában, mélységében és szövettani szerkezetében a kor és a genotípus függvényében? A dolgozatban csak a fekély területe szerepel.

A gyomor és bélrendszeri fekélyek tanulmányozása orosz kollaborátorunk, Ludmilla Filaretova, a Szent Pétervári Pavlov Intézet jelenlegi igazgatónőjének fő kutatási területe, és a fekély megítélésében is az ő és munkatársai szakavatott szemére támaszkodtunk. A lokalizáció az indomethacin-indukálta fekély esetén elég azonos elhelyezkedésű volt (lásd a dolgozat 46. ábrája). Sajnos szövettani feldolgozás hiányában a kiterjedésen kívül további számszerűsíthető paramétereket nem tudunk megadni (a jelenleg folyó kutatások során törekszünk a szövettani mintavételre).

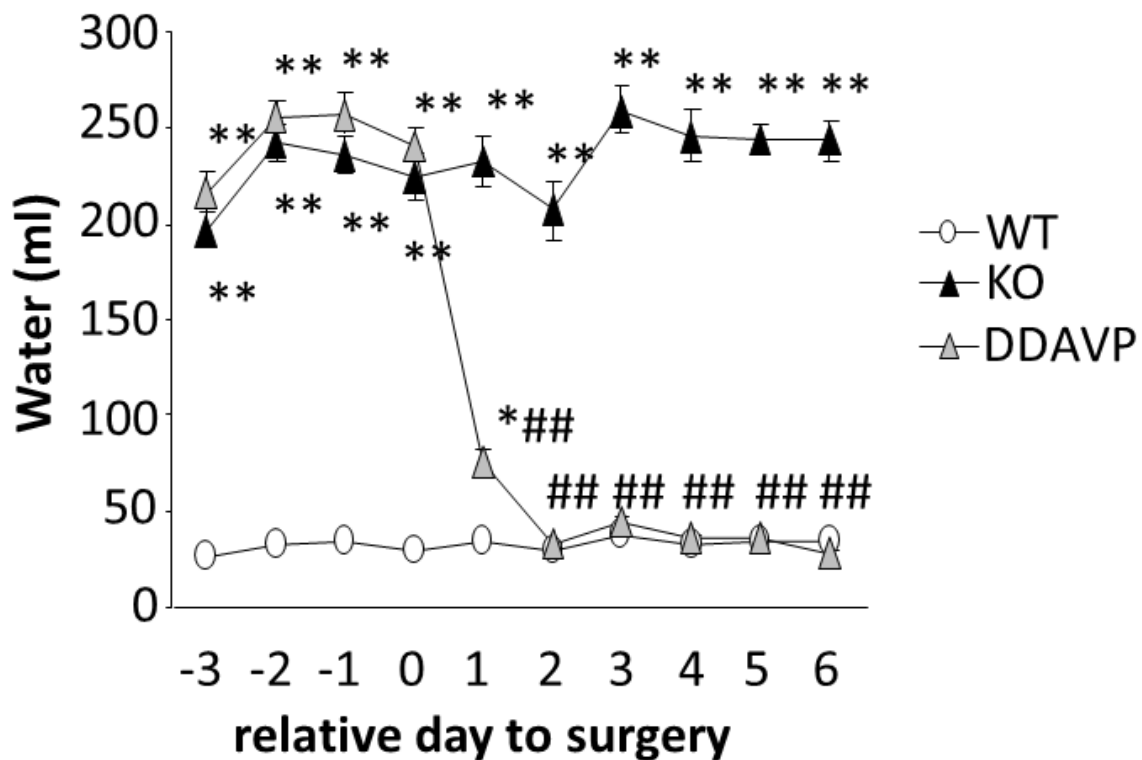
72. old.

Depresszió, szorongás: Nem világos, hogy a perifériás DDAVP kezeléstől milyen hatást vártak, és milyen mechanizmust tételeztek fel e mögött.

A DDAVP, másnéven desmopressin, V2 receptor agonista (lásd 4.3.2., illetve a 30. oldallal kapcsolatban említett „V2 antagonisták képesek a szkizofréniához társuló potenciálisan súlyos hiponatréria enyhítésére (Josiassen RC et al., *Biol Psychiatry*, 2008;64:1097). Újabban intranasalisan adott desmopressin jótékony hatását mutatták ki főleg a negatív tünetek esetében (Hosseini SM et al., *Eur Neuropsychopharm*, 2014;24:846.)”, mely elsősorban a vesék AVP receptorain (V2) a vízvisszaszívást serkenti (12. ábra). Mivel a folyamatos perifériás vízhiány mintegy krónikus stresszorként jelentkezve befolyásolhatja az állatok közérzetét, ezért felmerült, hogy a magatartási változások nem az AVP hatásnak, hanem másodlagosan a vízhiálynak a következményei lennének (lásd 6.5.1. „Mindenesetre ezen kísérlet fő célja az volt, hogy igazoljuk, nem a perifériás AVP-hiány másodlagos következményei-e a magatartási változások.”). Amennyiben így lett volna, akkor a +/+ és di/di állatok magatartási különbsége DDAVP kezelésre rendeződött volna.

12. ábra (Balázsfi és mtsai 2015 Psychoneuroendocrinology)

Az ozmótikus minipumpában bejuttatott AVP már egy nap alatt rendezte a perifériás AVP hiányt. WT: +/+; KO: di/di, vazopresszin hiányos; DDAVP: desmopressinnel kezelt AVP-hiányos



Végül az értekezés diszkusziójára reflektálnék.

A szerző eredményei árnyalt és sokrétű továbbgondolást tesznek lehetővé. Ez a munkában jórészt meg is jelenik, de van néhány hiányzó pont. A nem egyértelmű eredményeket a továbbiakban tisztázni lehetne a központi idegrendszerre szelektív genetikai manipulációval. Példaként megemlíthető, hogy V1b knockout egérben lentivírusral a hippocampus CA2 régiójába juttatott receptorgén helyreállította az állatok támadó viselkedését a szorongással kapcsolatos jelenségek változatlansága mellett (Pagani JH et al., *Mol Psychiatry*, 2015;20:490).

Köszönjük a felvetést. További vizsgálataink során részben mikrodialízissel a PVN és a szeptum területére juttattunk AVP-t, részben adenoasszociált vírus vektor segítségével tartósan pótoltuk a PVN AVP termelését (magatartási válaszok összefoglalását lásd válaszom 9. ábrája Csikota és mtsai 2016-os publikációja alapján).

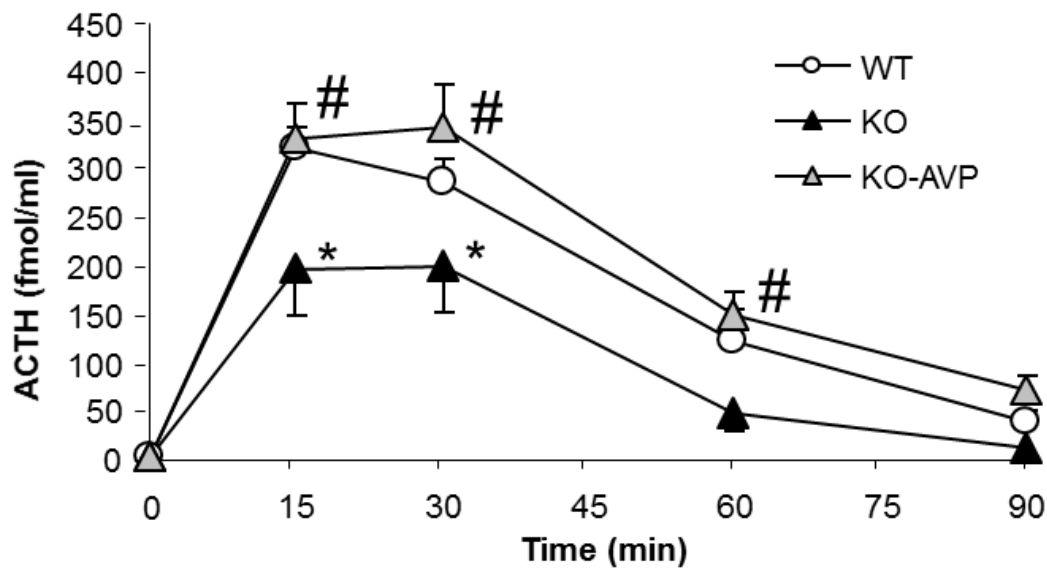
Némi csúsztatással (mivel sokszor csak trendeket láttunk) a PVN-be és szeptumba juttatott AVP nem befolyásolta az AVP-hiányos állatok kevésbé szorongó és depresszió fenotípusát, míg a tartósabb AVP-szint helyreállítás a +/- fenotípushoz közelebbi magatartásprofilhoz hozott létre.

Legutóbbi, közlés alatt álló munkánk során az SON-be pótoltuk vírus vektorral az AVP-t, miáltal csak a magnocelluláris eredetű AVP szintézis állt helyre. Legmeglepőbb eredményünk, hogy ez normalizálta a csökkent stressz-indukálta ACTH-szint emelkedést (13. ábra). Még érdekesebb, hogy míg alapvetően nem különbözött a +/- és di/di állatok szociális érdeklődése és agressziója, az SON-be adott AVP, mintegy az agyi AVP egyensúly megbomlása révén egy érdeklődőbb, kevésbé agresszív állatot hozott létre (14. ábra).

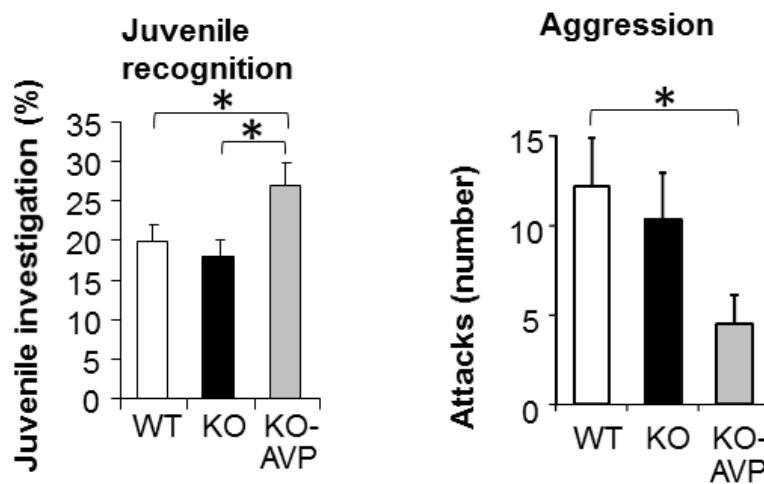
Úgy tűnik, hogy ebben a folyamatban a mediális amigdalának juthat nagyobb szerep, mert c-fos méréseink során ennek a területnek az aktivációja „normalizálódott” az SON kezelt di/di állatokon (15. ábra). Szeretnénk tisztázni a vonatkozó receptor altípust, mely feltételezésünk szerint V1a és a GABAerg sejteken fordulhat elő.

13. ábra Immun stressz (iv tojásfehérje) és sorozat vérvétel a véna jugulárisba két nappal előbb ketamin-xylazin altatásban beültetett kanülön keresztül.

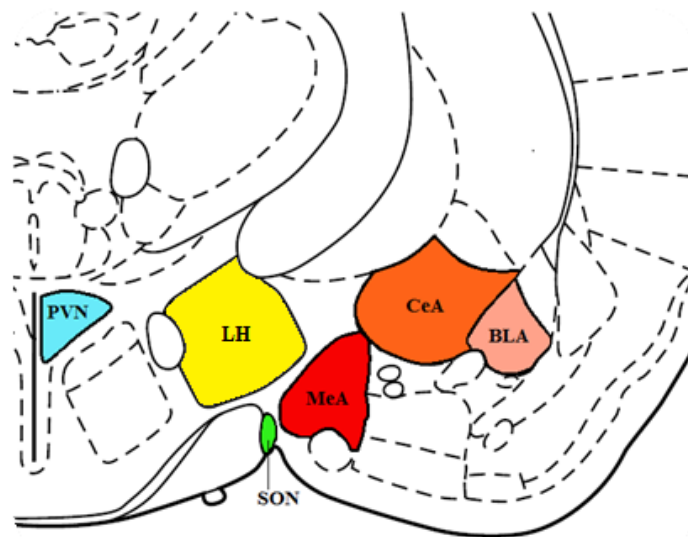
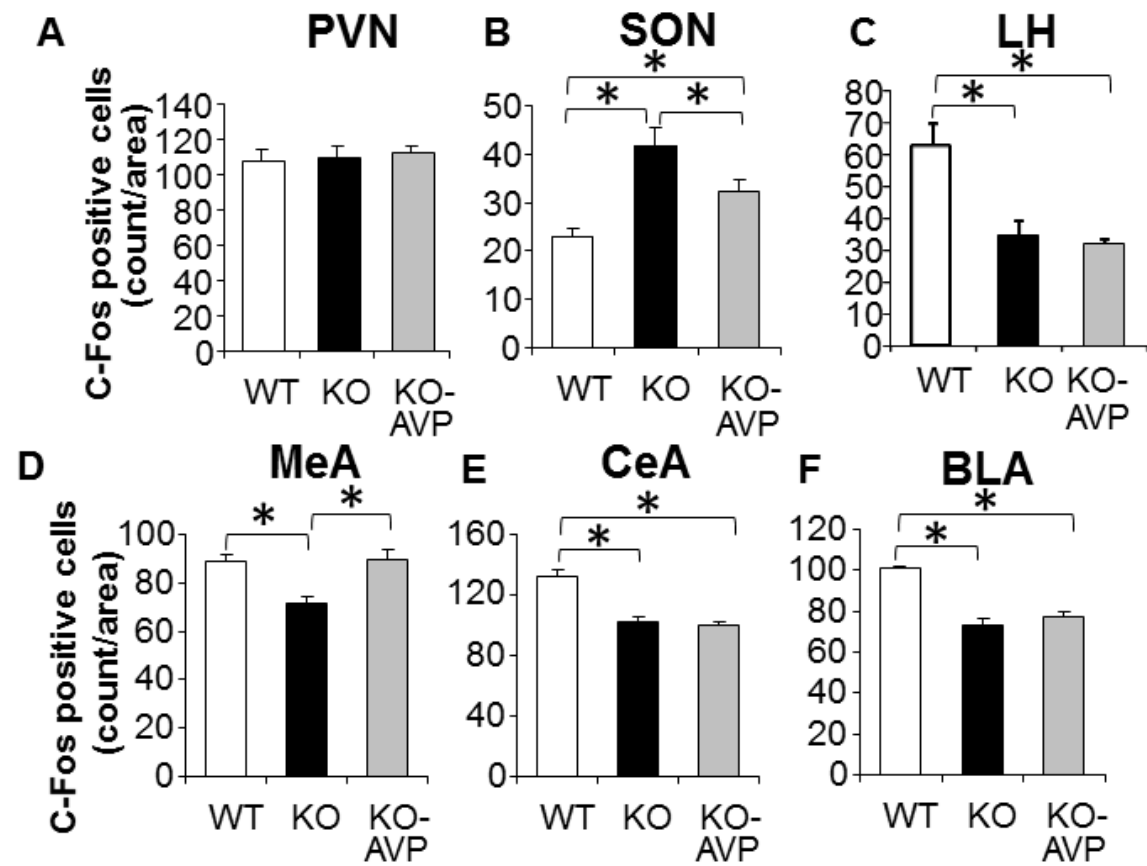
WT: +/+; KO: di/di, AVP-hiányos, KO-AVP: di/di az SON-be adenoasszociált vírus vektorral AVP visszajuttatása min 2 héttel a vizsgálat előtt.



14. ábra



15. ábra Hipoglikémiás stresszor után 60 perccel perfundált állatok agyain c-fos immuncitokémiát végeztünk +/+ (WT) és di/di (KO) állatokon összehasonlítva őket az SON-be vírus vektor segítségével visszahelyezett AVP hatásával (KO-AVP) (n = 7-8/csoport) SON: nucleus supraopticus, PVN: paraventricular nucleus of the hypothalamus, LH: lateral hypothalamus, MeA: medial amygdala, CeA: central amygdala, BLA: basolateral amygdala. * legalább p < 0,05 szignifikáns különbség a csoportok közt



Genetikailag módosított, mutáns állatokban bonyolult kompenzációs folyamatok alakulnak ki, így a megfigyelt változások - viselkedésbeli, élettani és morfológiai – sokszor e következményes jelenségekkel függhetnek össze, nem pedig az eredeti, körülírt és jól definiálható genetikai változással. Szükséges tehát az adott célmolekulához kapcsolódó interaktom vizsgálata, igénybe véve a bioinformatikai eszköztárát is.

Mint ahogy a dolgozat 6.1.1.-es fejezetében és a 8. táblázatban is jeleztem, teljesen egyetértek annak a szükségességével, hogy a kompenzációs faktorokat figyelembe vegyük. A bioinformatikát felhasználó bonyolult –„omic” vizsgálatok nagyon divatosak és molekuláris szintű folyamatok esetén van már bevett módszer az értelmezésükre, alkalmazásukra. Bár tervezzük ilyen irányú vizsgálatok folytatását (például egy horvát együttműködő partnerrel a glikom vizsgálatát az ő humán mintáit patkány adatainkkal összevetve), de úgy érzem az egész szervezetet érintő élettani folyamatok esetén más megközelítések, több technika egymást kiegészítő alkalmazása (ideértve a „test battery”-ket is) egyértelműbb eredményre vezethet. Éppen ezért hasonlítottuk össze a kispatkányokban kapott eredményeinket farmakológiai kezeléssel (5.3.1.3. 38. ábra), illetve AVP antiszérum adásával (5.3.1.2. 37. ábra), amik megerősítették a genetikai AVP-hiánnyal kapcsolatban szerzett tapasztalatainkat (lásd 6.3.1.).

Még egyszer köszönöm a fáradságos munkát és remélem, a felvetett kérdésekre adott válaszaim eloszlatták a homályos pontokat.

Budapest, 2017. április 20.

Zelena Dóra

Magatartás Neurobiológiai Osztály
Magyar Tudományos Akadémia
Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

cím: 1083 Budapest Szigony utca 43.
Telefon: +36-1-210 9400
Fax: +36-1-2109423
E-mail: zelena.dora@koki.mta.hu
www.koki.mta.hu