

Válasz Engelhardt József professzornak a

„Neuropatológiai vizsgálatok neurokognitív zavarral járó betegségekben”

című MTA Doktori Értekezésem bírálatára

Megtisztelve köszönöm, hogy elvállalta a Magyar Tudományos Akadémia Doktori Tanácsa felkérését doktori értekezésem opponensi feladatainak ellátására.

Köszönöm alapos és konstruktív kritikai megjegyzéseit, kérdéseit, az értekezést és az annak alapjául szolgáló munkákat illető elismerő szavait.

Válaszaimat a bírálatban megfogalmazott (és a válaszaim előtt dőlt betűvel szedve szereplő) kérdések, megjegyzések sorrendjében adom meg.

Rendkívül nagy munkát próbál bemutatni a szerző. A disszertáció alapjául szolgáló munka értékes. A post-mortális szövetet igyekszik olyan szempontok szerint vizsgálni, melyekből következtetni lehet az élőben lezajlott történésekre. Abban az esetben, ha ez nem lehetséges, transzgenikus állatmodellek, szövet kultúrák vizsgálatát vonták be, melyekből próbálták következtetni a humán történésekre. A nagyszámú kooperáció biztosítja az interdiszciplináris megközelítést, az eredményesebb kutató munkát. A jelöltet a világ élvonalában lévő kutatók alkalmas partnernek gondolják és igénybe veszik a szakértelmét. Ez a kooperáció tette lehetővé azt a magas színvonalú munkát, melyek a scientometriai indexek alapján is kiemelkedő minőségűek és mennyiségűek. A nemzetközi folyóiratokban társszerzőkkel megjelent 118 dolgozat összesített impact factora 480. A dolgozat alapjául szolgáló, általa megadott nemzetközi folyóiratban megjelent 3 közleményben első szerző, egy magyar nyelvű Ideggyógyászati Szemle közleményben utolsó szerző. Ez azonban az inclusiós testes miozitiszról szól, így nem is értem miért került a disszertációba.

A zárványtestes miozitisz (IBM) a neurodegeneratív proteinopátiákra jellemző kóros fehérjék közül többet is tartalmaz, ezért különleges és sajátos a kapcsolata a demenciával járó kórképekkel. További fontos adat, hogy az IBM társulhat frontotemporális demenciával és Paget kórral ('Inclusion body myopathy with Paget disease of the bone and frontotemporal dementia – IBMPFD'), tehát a fentebb említett összefüggés nemcsak a morfológiai, hanem a klinikai fenotípus, sőt, esetenként a genotípus vonatkozásában is fennáll. További közleményeim is foglalkoznak a témával, melyeket azonban nem szerepeltettem az értekezés alapjául szolgáló közlemények között, ezzel is kerülve a nagyobb súlyozást.

A disszertáció alapjául szolgáló közlemények között van egy 20 szerzős, egy 26 szerzős, egy 33 szerzős BrainNet Europe Consortium állásfoglalás, és egy több, mint 70 szerzős közlemény. Ezekben megállapíthatatlan a szerző tartalmi hozzájárulásának a mértéke. Ezt maga is megemlíti és elfogadom a megjegyzését, hogy a meghívás hasonló szervezetekbe önmagában pozitív értékelés.

A BNE Consortium közleményekben valamennyi szerző sok munkát végzett. E vizsgálatok jellegzetessége, hogy nagyszámú eset sok metszetét körbeküldik a szakmai kiválóság alapján kiválasztottaknak, akik értékelik az elváltozásokat. A vizsgálatok általában több 'fordulósak', azaz az első körös értékelés eredményei meghatározzák a második vizsgálati fázis teendőit és így tovább, amíg a konszenzuson alapuló szakmai irányelv ki nem alakul. Az

esetek többségében soknézős mikroszkópnál, illetve kivetítéssel több napos munkafázisok is voltak (általában Münchenben). Az eredmények megbeszélésénél és értékelésénél a nem megfelelő színvonalú szakmai kompetencia kinyilvánul, ami a további vizsgálatokban azzal a következménnyel jár, hogy az illető nem nyer meghívást. Esetemben ilyen nem fordult elő.

Ezen kívül még megad a doktori értekezés témaköréhez tartozó és ahhoz nem szorosan tartozó közleményeket: könyv fejezeteket, magyar nyelvű közleményeket, nemzetközi és nemzeti folyóiratokban megjelent közleményeket (pl. Slovenian Medical Journal, Neurology India) változatos témákban összesen 135-öt, melyeket elolvasni is sok, nemhogy megírni.

A név szerint kiemelt Slovenian Medical Journal és Neurology India folyóiratokban közlés védelmére megjegyzem, hogy i) erős szlovén szakmai kapcsolataim vannak és több kiváló szlovén kutatóval (Boris Rogelj, Vera Zupunski, Jernej Ule, Tomaz Curk, Blaz Zupan) dolgoztam illetve dolgozom együtt, ennek egyik bizonyítéka, hogy idén is beadtam egy magyar-szlovén közös NKFIH pályázatot. Megemlítem azt is, hogy egy éven belül háromszor utaztam hivatalos szakmai úton Ljubljanába, többek között a 2016-os magyar-szlovén közös kormányüléshez kapcsolódóan szervezett szakmai és üzleti találkozó hivatalos delegációjának tagja voltam (az idén beadott pályázat annak egyik eredményének is tekinthető). Mint ekkor elhangzott, Szlovénia Magyarország kiemelt stratégiai partnere és a történelmi távlatok és a jelen helyzet alapján Magyarország legjobb szomszédja; ii) a Neurology India a földrajzi régió vezető folyóirata a témában (Elkövetkezhet a nem távoli jövőben az idő, amikor India az orvosi és egyéb kutatás egyik globálisan vezető országa lesz publikálni nem kevésbé rangos, mint egy mai nagyhatalom hasonló folyóiratában).

A szerző rendkívül szerteágazó témákkal foglalkozott, melyek nagyobb részét a "Neuropatológiai vizsgálatok neurokognitív zavarral járó betegségeken" címmel foglalja össze az értekezésben. Van azonban ebben is olyan téma, melyben nincs kognitív zavar, vagy nem az a betegség lényege (pl. FUS-ALS, acut traumás agykárosodás.).

A tárgyalt betegségek klinikailag jelentkezhettek neurokognitív zavarral, de ez valóban nem minden betegség-altípusban illetve esetben jellemző: azaz, tágabb értelemben felelnek meg a címben meghatározott kritériumnak. Mivel fontos, érdekes és sokszor kevésbé ismert, hogy a neurokognitív zavar mikor és miért társulhat például ALS-hez, véleményem szerint az inkluzív megközelítés és értelmezés elfogadható lehet.

Saját, új módszert nem fejlesztett ki. Viszont nagyszerűen tudott más tudományágakat bevonni és integrálni a kísérletes és a humán neuropathológiával. A neuropathológia ezekkel az új módszerekkel együtt tud visszajutni arra a kiemelt helyre, melyet a XIX. század végén és a XX. század elején elfoglalt a neurológiai diagnosztikában és a kutatásban. Az ilyen fajta együttműködések nagyszerű példái az integratív tudomány fejlődésének. Ennek a felismerése és alkalmazása már a dolgozatok számának és impakt faktoroknak, citációknak figyelembevételével is nagy értéke a jelölt tevékenységének.

Valóban, egyike vagyok azon neuropatológusoknak, akik integratív szemlélettel dolgoznak a betegségek elleni küzdelemben. Noha saját, új módszert nem fejlesztettem ki, több első- és társszerzős közleményem számol be metodikai újításokról és változtatásokról.

Példaként említem az értekezésben nem szereplő hideg léziós agyi károsodás modell egérben történő beállítását és leírását testvéremmel, Hortobágyi Szabolccsal (Hortobágyi T, Hortobágyi S *et al.*, 2001), vagy az akut axonális károsodás lehető legkorábbi kimutatását, mely metodikai megfontolások és erre alkalmas vizsgálati protokoll kidolgozása nélkül nem lett volna kivitelezhető (Hortobágyi T *et al.*, 2004).

A tartalmi bőség láthatóan a disszertáció szerkezetét megzavarja. Az eredmények és a megbeszélés összevont, mely teljesen szokatlan egy tudományos dolgozatban. Ezt a kettőt szét kell választani. Az eredmények fejezetben szigorúan csak az elért eredményeket szabad ismertetni. Lehetőleg csak saját munka eredményeit. Az eredmények és a megbeszélés összevonása rendkívül megnehezíti annak a megítélését, hogy mi a szerző saját munkája és mi másoké, akiket idéz. Még nehezebb elválasztani azt a szellemi tartalmat, ahogy ő értékeli a saját vagy a munkacsoport eredményeit, vagy mások hogyan értékelik a hasonló vagy ugyanolyan eredményeket. Ráadásul a megbeszélésbe bevonódnak a munkacsoporttól is különálló kutatók, akikre csak hivatkozik a szerző, de az ő eredményeik is bekerülnek az ún. saját eredmények közé. Ez az összevont olvasmányosabbá, review szerűvé teszi a dolgozatot, de ebbe a fejezetbe (Eredmények és megbeszélés) módszerek is bekerültek, nem egyszer a résztémáknak külön bevezetése is van. Ezt követően van még egy Megbeszélés és összegzés című fejezet, ebben viszont a disszertációból kimaradt közlemények rövid tartalmát is belefoglalja. Vagyis olyat, ami az eredményekben nem is szerepel. Így a disszertáció szerkezete nem segíti azt a tisztánlátást, melyet a bírálónak közvetíteni kellene az értékelő bizottság számára. Dícséretes viszont az új eredmények pontos felsorolása. Ebből 35-öt fogadok el új megállapításnak.

Valóban, a 'tartalmi bőség' nem állított könnyű feladat elé. Céлом volt egy áttekinthető és terjedelmében is az MTA doktori értekezés szokásainak megfelelő mű megírása. Mivel MTA doktori értekezést jellemzően egyszer ír életében az ember, tapasztalatot sem szerezhett ebben (ellentétben a tudományos közleményekkel). Az eredmények és megbeszélés összevonása azért történt, hogy a szerteágazó téma egyes munkafeladatainak eredményei és azok értelmezése áttekinthetőbb legyen (ne pedig sok oldallal később szerepeljen). A Doktori Szabályzat ennek lehetőségét nem zárja ki. Magam is megfontoltam, hogy a tudományos folyóiratban szokásos szerkezetet kövessem. A digitális szöveg szerkesztésével egyszerűen elvégezhetően az alternatív struktúrát is megvizsgáltam, de azt kevésbé áttekinthetőnek találtam, ezért a jelen szerkezetet választottam. Ezt támasztja alá (a kritikai megjegyzéseket nem ignorálva) a bíráló véleménye, hogy 'az összevont olvasmányosabbá, review szerűvé teszi a dolgozatot'.

A módszerek részletes bemutatása a nagyszámú, igen változatos, gyakran a tudományos kérdésselvetésnek megfelelően módosított metodika miatt szétfeszítette volna az értekezés kereteit és aránytalansága miatt a jelenleginél kevésbé áttekinthető írásművet eredményezett volna.

Az értekezésben szereplő eredmények – a téma és szakterületem jellegzetességei miatt is – együttműködések keretében valósulhattak meg. Ezekhez patológus és neuropatológus szakképzettségem, számottevő alapkutatási tapasztalatom alapján járultam hozzá, érdemi jellegű saját munkával, kompetitív szakmai környezetben. A saját munka megítélésében az is figyelembe vehető, hogy sok közleményben – beleértve az első illetve utolsó szerzős munkákat is – egyedüli neuropatológusként vettem részt. A King's College

London-ban (szintén egyetlen) egyetemi alkalmazásban álló neuropatológusként a jelentős saját közreműködés tudományos projektekhez elvárás. Ez ott szigorúan vett követelmény a munkacsoport vezető ('PI' – 'principal investigator') státusz, a 'Senior Lecturer' majd 'Associate Professor' / 'Reader' kinevezés, eredményes pályázati aktivitás, PhD és MSc hallgatói témavezetés vonatkozásában.

'A Doktori értekezés témakörében megjelent további közlemények' közül azokat ismertettem röviden, melyek 'A Doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények' kapcsán kiemelten relevánsak. Ezek a 'A Doktori értekezés alapjául szolgáló'-ként szerepeltetett közlemények tágabb (saját munkássághoz tartozó) összefüggéseit mutatják meg.

Örülök a Bíráló elismerő szavainak az új megállapítások pontos felsorolása vonatkozásában.

A disszertáció stílusa is inkább anekdotázó jellegű, mint szigorúan tudományos. Egy tudományos munkának az adatokról és az abból levont következtetésről kell szólni. Csak arról. Nem érdekes annak a leírása, hogy egy másik munkacsoport hogyan és milyen rövid idővel hamarabb közölt ugyanolyan vagy hasonló eredményeket, és hogy milyen "emlékezetes és örömteli munka" valakit hozzásegíteni az első tudományos közleményeinek a megjelenéséhez. Ez inkább egy pszichológiai témájú disszertációba illik, ha tudományosan vizsgálják.

Úgy gondoltam, hogy életem bizonyára leghosszabb írásművében, ami nem új eredmények elsődleges közzétételét ('original publication') jelenti, hanem két évtized publikált eredményeit tekinti át, néhány személyes megjegyzés, tudománytörténeti vonatkozás megemlíthető. Ezzel ellentétben, egyéb tudományos publikációimban a szigorúan tudományos nyelvezetre törekedtem (noha nem kizárt, hogy a magyar nyelvű összefoglaló közleményekben előfordulhat a Bíráló által anekdotázónak tartható mondat, rövid részlet).

A szerző időnként megadja pontosan egy-egy résztémában, hogy annak kidolgozásában mi volt a szerepe. A disszertáció egészét tekintve viszont a fenti okok miatt ez összességében elmosódik. A saját munka, értelemszerűen főként a neuropathológiai jellegű megközelítés. Kevés kivételtől eltekintve az eredmények leírása vázlatos. Nagyon gyakran a résztema bevezetése és a módszerek - az eredmények fejezetben - messze meghaladják a néhány mondatban összefoglalt tényleges eredményt. (pl. a depresszió és a szinaptikus cink ion szabályozása Alzheimer kórban is ilyen résztema. Vagy pl. a "Serotonin receptor kötődés változása vaszkuláris és kevert demenciában" című résztémában az eredmények között a módszerek vannak leírva, eredményként mindössze annyi, hogy "a különböző vaszkuláris demencia típusok közötti különbségre hívják fel a figyelmet neurokémiai szinten és a szerotonin receptor fontosságát igazolják a kognitív funkciókban". Igaz, hozzá van téve, hogy a részletes eredmények a Brain folyóiratban jelentek meg 2009-ben, de nincs megadva a közlemény száma a közlemények jegyzékében. Az MTA kívánalma az, hogy olyan doktori művet kell beadni, mely önmagában véve is alkalmas a kérelmező eredeti tudományos teljesítményének értékelésére. Údító kivétel a FUS és a TDP-43 proteinopathiák, valamint az optineurin szerepének bemutatása a neurodegeneratív kórképekben.

A depresszió és a szinaptikus cink ion szabályozása Alzheimer kórban (Whitfield D et al., 2015. Ez a 12. 'A Doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények' között), valamint a cink transzporter ZnT3 szerepét (is) vizsgáló munka (Whitfield D et al., 2014. Ez a 15. 'A Doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények' között) eredményeinek részletes ismertetése helyett a hivatkozott saját közleményre utalok. Elfogadom a kritikát, hogy a részletes kifejtés ennél

informatívabb és jobb lett volna konkrét eredményeket, adatokat megadni az értekezésben. Ezért erre most részletesebben kitérek.

Ebben a vizsgálatban agyi régiótól és vizsgált fehérjétől függően gyakran különböző és eltérő irányú (azaz csökkenés illetve emelkedés) eltéréseket észleltünk (utalunk a közlemény 1. ábrájára). Ez egyrészt alátámasztja, hogy a neuroanatómiai korreláció és legalábbis Brodmann area meghatározás szintű pontosság kívánatos (ami a szakirodalomban nem általános), másrészt jelzi, hogy ismereteink a kognitív zavarok szinaptikus, neurokémiai vonatkozásairól még messze nem kielégítőek a klinikai kép alapos megértéséhez. Továbbá, meglehetősen távol állnak a patomechanizmus pontos ismeretétől, a terápiás vonatkozások pedig még kevésbé feltártak. A munka szignifikáns kapcsolatot igazolt mind a preszinaptikus fehérje ZnT3, a posztzinaptikus marker PSD-95 szintje és kognitív zavar között a prefrontális kéreg BA9-es területén. Ez a ZnT3 vonatkozásában kifejezettebb volt a Parkinson kórhoz társuló demenciában (PDD), mint Lewy testes demencia (DLB) és Alzheimer kór (AD) esetén (a demencia csoportok között a különbség nem bizonyult szignifikánsnak). A PSD-95 vonatkozásában a csökkenés a kontroll csoporthoz képest nem érte el a statisztikailag szignifikáns szintet Alzheimer kór esetén, viszont a PDD és DLB csoportok között igen. A *gyrus cinguli* rostrális részletében (BA24) a ZnT3 vonatkozásában nem igazolódott különbség, míg a PSD-95 vonatkozásában Alzheimer kór esetén a kontroll csoporthoz képest magasabb szint igazolódott, ami a demencia csoportokon belüli statisztikai elemzéssel a PDD csoportnál is szignifikánsan magasabbnak bizonyult. Az alsó parietális lebenyben (BA40) a ZnT3 vonatkozásában nem igazolódott statisztikai különbség (hasonlóan a BA24-hez), míg a PSD-95 vonatkozásában a BA24-hez hasonlóan csak Alzheimer kór esetén mutatkozott szignifikáns különbség a kontroll csoporthoz képest. Ebben az agyi régióban is szignifikánsan különbözött egymástól a PDD és Alzheimer kór csoport. A szinaptikus fehérjék szintjének változása azonban a BA24 és BA40 régiókat összehasonlítva ellentétes irányúnak bizonyult, azaz a BA24-ben a PSD-95 szintje emelkedett, míg a BA40-ben csökkent. Azt, hogy ennek mi állhat a hátterében, immunhisztokémiai analízis segített tisztázni. E vizsgálatokban az alfa-szinuklein, hiperfoszforilált tau és béta-amiloid immunhisztokémiai, szemikvantitativ módon meghatározott és statisztikailag elemzett szintjét viszonyítottuk a neurokémiai vizsgálatokkal nyert eredményekhez. A saját munka e vizsgálatokban nem korlátozódott a neuropatológiai analízisre és annak értelmezésére, mivel mindkét közleményben az első szerző PhD hallgató kolléga társ-témavezetője voltam, akinek szakmai munkásságát a PhD vizsgára bevélogatástól és felvételtől kezdve a munkaterv kidolgozásán és megvalósításán át az értekezés elkészítéséig és a védésre felkészítésig bezárólag meghatározó módon irányítottam és segítettem (amit az értekezés köszönetnyilvánításában is elismert a hallgató).

A szerotonin receptor szerepét vaszkuláris demenciában és stroke-ban vizsgáló, a *Brain* folyóiratban megjelent közlemény a 39. 'A Doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények' között.

A szövevtani képek nem egyszer túlságosan kicsik ahhoz, hogy jól ábrázolják az eltéréseket, az új eredményeket. A 7. ábra (a harántcsikolt izom neurogén atrophíája) pedig fölösleges, mert nem új eredmény, hanem inkább ismert tananyag a orvosoknak. A dolgozatban sok gépelési hiba

van, különösen a vége felé. Pl. a Megbeszélés és az összegzés utolsó 2/3-os oldalán 5-öt számoltam össze. Máshol vannak azonban olyan hibák is, melyek a mondat megértését is nehezítik. Mivel a disszertációt mind tartalmi, mind formai szempontból szükséges értékelni, a fenti formai visszasságokat említenem kell. Jelentős különbség van a szerző általam kiválóan ítélt munkássága és a megírt disszertáció minősége között.

Az értekezés eredeti (digitális) változatában jó felbontású és éles képek a nyomtatáskor sokat veszítettek minőségükből. A képek közül a 2. ábra kisméretű – ez eredetileg az International Society of Neuropathology / Blackwell közös kiadásában megjelent és az értekezésben is hivatkozott 'Neurodegeneration: The molecular pathology of dementia and movement disorders' kézikönyv ALS fejezetében (Strong, Hortobágyi, Okamoto, Kato, 2011) szerepel, azaz saját ábra. A 7. ábra újdonságtartalma tisztázásra szorul. Originalitást az ad a képnek, hogy ALS-FUS esetében tudomásom szerint ez az első képi megjelenítése a neurogén izomatrófia szövettanának. Azért szerepeltettem az értekezésben, mert ha egy díjazott kézikönyvben elfogadásra került, az értekezésben is bizonyára helye lehet.

A BEVEZETÉS olvasmányos. Jó összefoglalója a neurodegeneratív betegségek általános jellemzőinek és osztályozásának. A neuropathológiai osztályozás alapján az elváltozások neuroanatomiai eloszlását, a szelektívnek gondolt károsodást tekinti. Mivel azonban a szelektív károsodás bizonyos betegségekben csak a kórfolyamat kezdetére jellemző, inkább a betegségekben előforduló kóros fehérjék jelenlétét preferálja a felosztás szempontjaként. Ez alapján 7 csoportot képez. Együttal feltételezi azt is, hogy a kóros szerkezetű fehérjék a neurodegeneratív betegségek legvalószínűbb okai. A fehérjék meghatározásával, az általuk is képzett intracelluláris zárványok kimutatásával a neuropathológia segít a klinikailag bizonytalan esetek diagnosztikájában, de módszereivel a sejt pusztulás pathomechanizmusáról is kapunk adatokat. Ezután a demencia történetileg változó kritériumait, gazdasági kihatásait, főbb klinikai típusait és okait tekinti át főként neuropathológiai szempontból, de a diagnosztikához szükséges genetikai, klinikai és képalkotó diagnosztikai, neurokémiai és neurofiziológiai aspektusait is összefoglalja. Ezzel a kiválóan megírt bevezetéssel demonstrálja, hogy mind a történetében, mind a biológiájában, mind a patológiájában a neurodegeneráció kiváló szakértője. Ezután tér rá a neuropathológiai vizsgálat standardizált algoritmusára, majd a kutatáshoz használt MÓDSZEREK leltárszerű felsorolását adja meg. A módszerek korszerűek, túllépnek a rutin neuropathológián. Immunohisztokémiai, Western blot, genetikai, sejtbiológiai, főleg transzgenikus állatkísérletes vizsgálatok, statisztikai értékelés segítik a neurodegeneratív betegségek diagnosztikáját, etiológiájának és pathomechanizmusának a megismerését.

Örömmel veszem az elismerő szavakat a Bevezetést illetően.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS főcímmel kezdődik az új eredmények részletesebb leírása. Ez a multidiszciplináris megközelítés történik a FUS gén mutációi és a familiális ALS összefüggésének bemutatásával is. A FUS gén mutációkat a TDP-43 fehérjét kódoló gén mutációjának a leírása után 6 kandidáns génre szűkített csoportban találták. Ez a mutáció a familiális esetek 3%-ában igazolódott. Nemzetközi együttműködésben 20 FUS mutáns egyedet azonosítottak, melyekből 3-nak történt meg a részletes neuropathológiai vizsgálata. Nincs kétségem, hogy ez utóbbi a jelölt munkája. Viszont meg kell kérdeznem ki irányította a nemzetközi együttműködést, ki állította össze a klinikai adatokat (korai kezdet, demencia hiánya), ki végezte a genetikai vizsgálatokat. A patológiai vizsgálatok meggyőzőek, melyek néhány részletét szövettani képeken be is mutatja a szerző. Az 5. ábrán lévő makroszkópos képeken azonban a gyököket "mozgató és szenzoros idegeknek" nevezi, ami anatómiai értelemben nem helytálló. Mi magyarázza a gerincvelői hátsó fehérállományi pályarendszerekben a mérsékelt demyelinizációt? Volt-e élőben kimutatott

szenzoros deficit (mélyérzés zavar)? A szerző által klasszikus ALS-nek nevezett esetekre jellegzetes, immunohisztokémiával Ubikvitin és p62 pozitív "szálcsás" (skein like) inclusiákat megtalálta a mellsőszarvi motoneuronokban. FUS antitesttel globosus és elnyúlt zárványokat tudott kimutatni a gerincvelői mellső szarvi motoneuronokban, de diffúz cytoplasmikus jelölődést is bemutat a 4. ábrán. Hasonló jelenségeket SOD-1 mutáns vagy sporadikus ALS-ben ill. nem neurológiai kontroll esetekben nem talált. Mennyi volt a kontroll esetek száma? Van-e átfedés a szálcsás és a FUS immunopozitív zárványok között? A szerző szerint van-e jelentősége a motoneuron pusztulás pathomechanizmusában a különféle, nem FUS immunopozitív zárványoknak? Patkányból származó neuronális sejtenyészetekben a normál FUS génnel transzfektált sejtekben a FUS immunohisztokémia nucleáris, a mutáns génnel történő transzfecció cytoplazmás lokalizációt adott. Ennek az igazolását fluorescens vizsgálattal értem. Immunoblot vizsgálattal hogyan történt a nucleáris és a cytoplazmatikus lokalizáció? A sejtenyészetek motoneuronok voltak-e? Az eredmények alapján a munkacsoport elindította a FUS proteinopathiák vizsgálatát a neurodegeneratív betegségekben. Később genetikai és nem részletezett sejtbiológiai módszerekkel megállapították, hogy ha a mutáció a fehérje nucleáris lokalizációs szignál terminális régiójában van, akkor a FUS a cytoplasmában halmozódik fel. A kóros elhelyezkedést a nucleáris transzport zavara okozza. A mutáns SOD cytoplazmatikus lokalizációja az első kóros jelenség, melyet követ a celluláris, oxidatív stressz kiváltotta aggregáció majd sequestráció.

Az ALS-FUS-t leíró *Science* közlemény vizsgálatának irányítója akkori főnököm, Christopher Shaw neurológus és neurogenetikus professzor volt. A klinikai adatokat ő gyűjtötte össze, analizálta (neurológus kollégákkal együttműködve). A genetikai vizsgálatokat jelentős részben Caroline Vance végezte, de ebben is C. Shaw volt az iránymutató. A neuropatológiai vizsgálatokat én terveztem, koordináltam és végeztem. Ez az immunhisztokémiai vizsgálatok saját kezű elvégzését, kiértékelését, képi dokumentációt stb. egyaránt magába foglalta.

Egyetértek, hogy az 5. ábrán ideggyök és nem ideg látható (a hivatkozott könyvfejezetben is, helyesen, 'nerve root' szerepel).

A gerincvelői hátsó szenzoros kötegekben észlelt mérsékelt fokú mielinizációs zavar klinikai jelentősége kérdéses, ugyanis ennek megfelelő tüneteket – melyekre a Bíráló is rákérdez – a klinikai adatok nem igazoltak. A hátsó köteg érintettséget ALS-ben Engel és munkatársai írták le elsőként familiális esetekben (*Brain*, 1959, 82: 203-220), a Clarke mag és a hátsó spinocerebelláris köteg degeneratív elváltozásaival társultan, típusos ALS patológiai jellemzők mellett, azokat kiegészítve. Sokáig úgy vélték, hogy ez familiális ALS-re pathognomikus és a genetikai ALS típusokat megelőzően ismert két familiális ALS típus egyikének tartották (a másik típus akkoriban neuropatológiailag megkülönböztethetetlen volt a sporadikus ALS-től). Ma már ismeretes, hogy a szenzoros neuroanatómiai rendszer érintettsége előfordul ALS-ben (Nolano M *et al.*, *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2016, 2: 117–130). Ismeretes, hogy mind a gerincvelőben, mind a motoros kéregben átfedések és kapcsolatok vannak a szenzoros és motoros idegsejtek és neuroanatómiai régiók között.

A kontroll esetek száma kilenc volt.

A szálcsás és FUS-pozitív zárványok átfedést mutattak, pozitívak voltak anti-p62 és anti-ubikvitin antitestekkel és negatívak anti-TDP-43 antitesttel. A FUS-negatív zárványoknak bizonyára jelentősége van a neuronpusztulásban, hiszen ezek is ubikvitinilált fehérjék. Ezeket, mint kóros és citotoxikus fehérjéket, feltételezhetően az ubikvitin-proteasoma rendszer

próbálja meg lebontani (bizonyára csak részleges sikerrel, legalábbis erre utal felhalmozódásuk). Ma már ismert, hogy ALS-ben a típusos és proteinopáthia-definiáló fehérjék (úgy mint TDP-43, FUS) mellett sok más protein is felhalmozódik, melyek között számos olyan fehérje is van, melyek az RNS processzálsban játszanak szerepet (hasonlóan, mint a TDP-43 és FUS). Michael Strong kanadai (London/Ontario) munkacsoportja igazolta ezek meglétét és fontosságát a motoneuron pusztulásban (Keller BA *et al.*, Acta Neuropathol, 2012, 124: 733-747).

A nukleáris illetve citoplazmatikus lokalizáció igazolása nemcsak immunfluoreszcens, hanem Western blot vizsgálatokkal is megerősítést nyert. Ez utóbbi esetében a sejt (illetve agyszövet) homogenizátumból izolált fehérjéket az oldékonyság alapján frakcionáltuk. Négy frakciót hoztunk létre: alacsony sótartalmú ('low salt'), magas sótartalmú ('high salt'), szarkozil és urea tartalmú oldatban kezeltük a blottolás előtt a fehérjéket. Ilyen vizsgálatokat is nagy számban végeztem 'saját kezűleg', ALS-es mintákon is, beleértve az ALS-FUS-t is.

A sejtenyészetek nem motoneuronok voltak, hanem N2A neuroblastoma, CV-1 fibroblast, valamint Wistar patkány embriók (E17) primer kortikális neuron tenyésztete (melyeket a tenyésztetek egy részében mutáns FUS-szal transzfektáltunk és ezeket hasonlítottuk össze a nem transzfektált tenyésztetekkel). Ma már iPS eredetű motoneuron tenyészteten is történnek vizsgálatok, a londoni munkacsoportban is, de ez előző évtizedben még nem volt számunkra elérhető metodika.

A kóros folyamatok az RNS processzálsat zavarják meg. A 8-as ábrán kis nagyításban ugyan, de láthatók glia sejtekben is a FUS zárványok. Milyen glia sejtekről van szó? Gondolom astrocytákról. Ha azokban ugyanúgy működik a fenti mechanizmus, miért nincs sejt pusztulás, sőt aktiválódás következik be. Nincs említés arról, hogy van-e FUS zárvány a felső (corticális) motoneuronokban. Ha nincs, akkor hogyan magyarázható a fenti hipotézissel a pusztulásuk? A citációkat számolva ez a legjelentősebb része a vizsgálatoknak. Csak éppen a disszertáció címébe nem illik bele, mert ebben a betegségben a szerző szerint sincs kognitív zavar.

ALS-FUS, és más ALS típusok esetében is, a gliális patológia kiemelt fontosságú, alátámasztva, hogy a motoneuron pusztulás nem sejt-autonóm (azaz nem a motoneuronok 'belügye'). Mind asztrocita, mind oligodendroglialis patológia és FUS-pozitivitás igazolódott. Az oligodendroglia érintettsége részben magyarázhatja a mielinárosodást is – noha az jelentős részben a neuronopátia miatti axonpusztulás következménye. Az, hogy reaktív astrocitózis kapcsán asztrocita szaporulat és aktiváció van, nem zárja ki annak lehetőségét, hogy a FUS patológia által érintett gliális sejtek (így az asztrociták is) elpusztulnak. A gliális patológia másik fontos aspektusa, hogy felveti annak lehetőségét, hogy az gliasejtek érintettsége a prion-szerű terjedés részeként történik. A prion-szerű terjedés a neurodegeneratív betegségek esetén a neuroanatómiai régiók közötti proteinopátia-propagáció (terjedés) egyre inkább elfogadott mechanizmusa (például: Grad *et al.*, Neurobiol Dis, 2015, 77: 257-265). A FUS patológia a primer motoros kéreg neuronjaiban is mutatkozik. Ma már a korábbiaknál jobb immunhisztokémiai jelet eredményező antitestek érhetőek el a kereskedelmi forgalomban, melyekkel a motoros és extramotor területek érintettsége jól kimutatható.

Noha az ALS-FUS esetén valóban nem jellemző a kognitív deficit, az ALS esetén ez gyakori továbbá az ALS-FUS rokon kórképe, az FTLD-FUS esetén ez a prominens klinikai kép.

Az FTLD-FUS esetekben a Transportin-1 (nucleo-cytoplasmikus transport fehérje) colokalizál a FUS-szal a zárványokban, az ALS-FUS esetekben viszont nem. Ebből arra következtetnek, hogy más a két állapot pathomechanizmusa. Kérdésem az, hogy a kettő együtt, egy betegben nem fordul elő? Ha igen, akkor is feltételezik az eltérő pathomechanizmust? A normál human FUS gént overexpresszáló transzgenikus egerekben is kialakulnak a motoneuron betegség jelei és a FUS pozitív cytoplazmatikus zárványok. Miért nem hoztak létre és vizsgáltak a mutáns human FUS-szal létrehozott transzgenikus egereket? Ráadásul az FTLD-FUS sporadikus is lehet, s nem a gén mutációja okozza. Nekem így nem világos, hogy a mutáns FUS fehérjének, az ebből kialakuló zárványoknak, vagy a normál fehérjéből létrejött zárványoknak mi lehet a szerepe a pathomechanizmusban. Hogyan értelmezi a jelölt mindezeket? Az astro és microglia cytoplasma is fokozott mennyiségben tartalmazza a FUS fehérjét, Ezeket a sejteket mi védi meg a károsodástól? Nem lehetséges az, hogy magának a zárványnak nincs is szerepe, vagy az ellenkezője, hogy akármilyen fehérjéből álló zárvány betegséget okoz? A mutáns FUS fehérje okoz-e működészavart a szervezet nem idegrendszeri sejtjeiben? Ha nem, mi magyarázza a károsodás specificitását?

A Transportin-1 és FUS kolokalizációja a FUS gén mutáció okozta ALS-es esetekre jellemző. A nevezéktanban ezt az ALS-FUS-t úgy különböztetjük meg a sporadikus ALS-FUS-tól, hogy a FUS dőlt betűvel írandó: ALS-FUS, jelezve a genetikai okot – miként ez a közleményünk címében is szerepel. Az ALS-FUS pedig jellegzetesen nem társul FTLD-FUS-szal, mint azt a betegséget definiáló és elsőként leíró közleményünkben is megfogalmaztuk (Science, 2009) és amit az azóta nagyobb esetszámon elvégzett vizsgálatok is megerősítettek (noha kivételekről irodalmi adat megjelenik, de ez, ahogy szokták mondani, inkább erősíti a szabályt). Azaz, a Bíráló kérdésére röviden válaszolva, a kettő egy betegben nem szokott előfordulni.

A mutáns humán FUS-t expresszáló transzgenikus egerek vonatkozásában Sharma és munkatársai szolgáltatottak értékes irodalmi adatokat (Nat Comm, 2016, 7: 10465). Igazolták, hogy a mutáns FUS fehérje 'toxic gain-of-function' mechanizmussal okoz progresszív, mutáció-dependens motoneuron degenerációt, amit megelőz a neuromuszkuláris junkció strukturális és funkcionális rendellenessége. Ilyen egérmodell, az erőfeszítések ellenére, nem állt rendelkezésre munkacsoportunkban. Megjegyezzük, hogy korábban humán mutáns FUS-t overexpresszáló patkányokban igazoltak progresszív paralízist, amit a motoneuronok és axonjainak degenerációja okozott és a hippokampális és kortikális neuronok jelentős mértékű pusztulása is kísért (Huang C *et al.*, Plos Genet. 2011, 7:e1002011). A FUS-t overexpresszáló egéren végzett vizsgálataink azt is igazolták, hogy a normális (vad típusú) FUS, ha nagy mennyiségben van jelen, ALS-FUS-ra jellegzetes neuropatológiai elváltozásokat okoz, azaz hasonló eltéréseket, mint amit a FUS mutáció okoz emberben. Ez alapján feltételezhető, hogy a FUS mutáció is a kóros fehérje felhalmozódása miatt okoz neurodegenerációt 'toxic gain-of-function' mechanizmussal és nem FUS-fehérje funkcióvesztés ('loss-of-function') módon. Ezt igazolták később a mások által végzett kísérletek és a fentebb hivatkozott 2016-os *Nature Communications* közlemény is ezt erősítette meg. Egér modellünk további előnye, hogy a humán ALS-FUS patológiai jellemzőit mutatja (ami több más egér modellről nem mondható el), így a patomechanizmus és a terápiás lehetőségek vizsgálatára is alkalmas. A magas FUS

szint mutáció nélkül többféle mechanizmussal okozhat neurodegenerációt, például az ubikvitin-proteaszoma rendszer (UPS) túlterhelése révén.

A gliális sejtekben felhalmozódó FUS e sejtípusok esetében sem ártatlan, mint ezt fentebb egy korábbi kérdés kapcsán jeleztem. Az, hogy a zárványképződés és toxicitás milyen viszonyban van, sokat vitatott kérdés. Feltételezhetően a zárványképződést megelőző fázis, amikor szolubilis(abb) a kóros fehérje, a toxicitás szempontjából fontosabb. A zárványképződés kialakulásában fontos tényező, hogy a kóros fehérjék sokkal inkább hajlamosak aggregációra, mint a normális fehérjék, illetve hogy (mint fentebb említettem) a normális fehérje nagy mennyiségben felhalmozódva fokozza annak (azaz 'saját maga') aggregáció hajlamát. Mindezt több más neurodegenerációban releváns fehérje esetében is vizsgálták – azaz nemcsak az ALS-ben elsődlegesen fontos és kórjelző fehérjék esetén, hanem pl. tau és az extracelluláris béta-amiloid esetében is.

Az, hogy miért szelektív az idegrendszer sejtjeinek vulnabilitása és következményesen milyen neurológiai betegségek alakulnak ki, jelentős kérdés, ami további vizsgálatokat igényel. A FUS vonatkozásában a nukleo-citoplazmatikus transzport, axonális transzport, neuromuszkuláris junkció sajátosságai – többek között – olyan kutatási területek, amelyeknek mélyrehatóbb vizsgálata közelebb vihet a válaszhoz. A kérdés, hogy az ALS miért meglehetősen szelektíven (de nem sejt-autonóm módon) a motoneuronok betegsége, messze nem lezárt illetve kielégítően megválaszolható. A FUS egyébként nem 'ártatlan' egyéb betegségekben sem: a gén neve is onnan ered, hogy 'fused in sarcoma' illetve 'translocated in sarcoma' (*FUS/TLS*), mivel ez a genetikai eltérés alacsony grádusú fibromixoid szarkómában illetve myxoid liposzarkómában fordulhat elő.

A TDP-43 proteinopathiák is mind az ALS-ben, mind a FTD-ban előfordulnak. Ennek a fehérjének a miszlokálizációját is kimutatták. Mind a mutans, mind a vad típusú protein a cytoplasmában halmozódik. Ebből arra következtettek, hogy a fehérje transportjárt felelős proteint kell megtalálniuk. Humán neuroblastoma sejtekben siRNS konstruktumokkal vizsgálták a transzport fehérjék blokkolását. A Karyopherin-Béta1 szelektív kötődését tudták kimutatni a TDP-43-hoz. Ebből feltételezik, hogy ennek a fehérjének szerepe lehet a TDP-43 cytoplasma-nucleus irányú transportjában.

Összegezve a proteinopathiákkal kapcsolatos vizsgálatokat, számos részadatra rávilágítottak, de a rendelkezésükre álló igen korszerű módszerekkel sem sikerült megérteni ezeknek a fehérjéknek a szerepét a neurodegeneráció pathomechanizmusában.

Az Alzheimer kóros esetek 20-30 %-ban is van TDP-43 patológia, elsősorban a hippocampusban. Feltételezték, hogy ezekben az esetekben a tau protein hasítási zavara (mis-splicing) járulékos pathogenetikai tényező, de ezt igazolni nem tudták. Így a hypothesisük nem igazolódott, de közlemény azért lett belőle. Itt tulajdonképpen a saját hypothesis nem igazolható voltát közölték, igazolták annak helytelenségét. Ez inkább akkor fogadható el tudományos teljesítménynek, ha más hypothesisét cáfolják.

A TDP-43 fontos regulátora az mRNS hasításnak ('splicing') és a tau pre-mRNS a TDP-43 közvetlen 'target'-je, mint azt közleményünkben igazoltuk (Tollervey *et al.*, Nat Neurosci, 2011). A TDP-43 része annak az RNS-et reguláló komplexnek, melynek a FUS is tagja. A FUS pedig kötődik a tau pre-mRNS-hez és down-regulációja a 10-es exon inklúzióját segíti elő rágcshálókban (Orozco D *et al.*, EMBO Rep, 2012, 13: 759-764). Mindezek alapján fontosnak

tartottuk megvizsgálni, hogy az Alzheimer kórban kialakuló tau mis-splicing kapcsolatba hozható-e a TDP-43-mal (ugyanis az aggregált kóros TDP-43 Alzheimer kórban gyakori járulékos patológiai eltérés). Ez egy nyitott kérdés volt, melyre a nemleges választ vizsgálataink adták meg. Megjegyzem, hogy a közleményhez egy 18-oldalas 'Supplementary On-line Material' is tartozik, fontos további adatokkal, A TDP-43 expresszió részletes neuropatológiai vizsgálati eredményei Michael Niblock PhD hallgatóm értekezésének része (deklarálva benne, hogy a neuropatológiai analízis az én munkám).

Miután egy familiáris ALS-ben szenvedő japán családnál leírták 2010-ben az optineurin mutációjának esetleges szerepét, a jelölt munkacsoportja hatalmas munkával igyekezett kideríteni az optineurin szerepét más központi idegrendszeri betegségekben is, beleértve az Alzheimer, Huntington betegségeket, PSP-t, spinocerebelláris degenerációkat. Ennek a munkának a bemutatása 7 oldalt tesz ki az értekezésben. A szerzők sporadikus ALS-ben, SOD-1 mutációkban találtak a motoneuronokban intracytoplasmikus inklúziókat vagy diffúz immunopozitivitást. A kontrollokban hasonló jelenségek nem voltak. Ismételten az eredmények fejezetben a szerző teljesen leírva belekeveri a módszereket, melyek az eredmények megbízhatóságát igyekszik igazolni. A közölt szövettani képek is jórészt informatívak. Végül az optineurin immunopozitív agyi és gerincvelői jelenléte nem mutatott korrelációt a klinikai fenotípus, a betegség tartam, a demográfiai jellemzők vonatkozásában. A Western blot vizsgálatok csökkent szintet mutattak (kevesebb a neuron). Végül nem igazolódott a japán szerzők feltételezése, miszerint az Optineurin, az azt tartalmazó zárványok központi szerepet játszanak az ALS pathogenesisében. Egyéb neurodegeneratív betegségek vonatkozásában sem igazolódott ez. Más munkacsoportok későbbi vizsgálatai ugyanerre a következtetésre jutottak. A Western blot vizsgálatokban az Optineurin expressziós eredményeket normalizáltuk a neuronpusztulás illetve az általános sejtszám vonatkozásában (béta-3 tubulin illetve histon-3 blottolásával), Pearson féle statisztikai korreláció analízist is végezve.

Ezt követően a szerző visszatér a TDP-43 proteinopathiák RNS kötőhelyeinek és az RNS hasítás (splicing) szabályozásában játszott szerepének a vizsgálatára. Az 55. oldal utolsó előtti sorában "a TDP-43 elleneshez való kötődési hely"-et ír, ami nyilvánvalóan RNS. Ehhez egy akkor forradalminak nevezett új módszert használtak a genetikusok (individual-nucleotide resolution clip). A szerző érdeme, hogy ezt post mortem human agyszöveten tudták elvégezni, hiszen ő választotta ki a megfelelő agyrészleteket. Az általa kiválasztott mintákban nagyszámú, általa "TDP-43-ellenes"-nek nevezett kötőhelyet sikerült azonosítani (TDP-43 RNS!?). Ennek a jelentőségére nem kapunk magyarázatot. Mi a normál agyszövetben talált kötőhelyek jelentősége, mi az összefüggés a kóros TDP-43 betegség okozásával? Neuroblastoma sejtvonalon igazolt nagyszámú splicing eltérés is csak lehetséges magyarázatait adja olyan fehérjék alternatív mRNS splicing-jának, melyeknek jelentősége lehet az apoptózisban, a sejtek túlélésében, trophicus faktorokra történő reagálásában. Ismert, hogy a TDP-43 hiánya embrionális lethaltást okoz, többete toxicus a sejtekben (Tsao W. et al, Brain Res. 1462, 26-39. 2012, Wachter N et al. Amyotroph. Lateral Scler. Front. Degener. 16, 431-441. 2015, Igaz L. et al. J. Clin. Invest. 121, 726-738. 2011.). Mivel a TDP-43 az összes DNS-ről RNS-re átírt gén 1/3-ához kötődik, nagyon sok lehetősége van a sejtek károsodásának. Mennyire érzi a jelölt ezt a kutatási vonalat ígéretesnek a neurodegeneratív betegségek, az ALS, a demenciák vonatkozásában?

Igen, TDP-43 RNS kötőhelyekről van szó. Szövegírási hiba történt, ami elkerülte a figyelmemet (a nyelvi ellenőrző program sem jelölte ki hibának az 'ellenes'-t, mivel más kontextusban ez egy értelmes magyar szó).

A TDP-43 RNS kötőhelyeinek megismerése a TDP-43 proteinopátiák megértését segíti, ugyanis feltételezhető, hogy kórállapotokban a normális kötődés hiánya a betegség

kialakulásának egyik mechanizmusa. Mivel a TDP-43-ról minimális ismerete volt a tudományosságnak mielőtt igazolták szerepét frontotemporális demenciában és ALS-ben (Neumann M *et al.*, Science, 2006, 314: 130-133; Arai T *et al.*, Biochem Biophys Res Commun, 2006, 351: 602-611), a fehérje fiziológiás szerepének tisztázása fontos volt. Ennek egyik példája az RNS-hez kötődés szisztematikus vizsgálata, ami ennek a közleménynek célja.

Valóban, nagyon sok génről átírt RNS-hez kötődik a TDP-43. Bioinformatikai analízis valamint a jelátviteli és egyéb intracelluláris útvonalak ('pathways') más módokon történő elemzése segíthet egy kutatási projekt tervezésekor. Megfelelő módszerekkel hasznosítva a közlemény generálta adatokat, hasznos és ígéretesnek tartható ez a kutatási irány. Neuroonkológiai vizsgálatainkban is eredményesen alkalmazunk ilyen megközelítést.

A módszereket sikeresen használta fel a munkacsoport az idősödő agyban és a demenciákban eltérő RNS hasítás kimutatására. Az öregedésben talált gén expresszió változások elsősorban metabolikus folyamatokat érintenek, a betegség specifikus eltérések viszont a neuronális és oligodendroglia működéseket változtatásukat okozzák.

A TDP-43 szerepét demonstrálja az az általuk vizsgált transzgenikus egérmódel, melyben a vad típusú és a mutáns TDP-43 ko-expressziója a humán ALS-hez hasonló betegséget okoz. Mi lehet ennek a magyarázata? Hasonló jelenség figyelhető meg az SOD-1 mutációs transzgenikus egerekben is.

A neurodegeneratív proteinopátiák prion-szerű pathomechanizmusa és terjedése mellett egyre több érv szól. A TDP-43 mutáns és vad típusát koexpresszáló egérmódelben észlelték és a SOD-1 hasonló egérmódelben látottak is értelmezhetőek e mechanizmus alapján. Óvatosságra int viszont, hogy a FUS vonatkozásában ez nem áll fenn, mivel az endogén (vad típusú) FUS nem járul aktívan hozzá a mutáns FUS indukálta ALS fenotípus kialakulásához (Sharma *et al.*, Nat Comm, 2016, 7: 10465).

A munkacsoport leírta, hogy a TDP-43 a proteinopathiákban zárvány alkotó fehérje, mely ubikvitinnel, p62-vel colocalizált, s egy Guam szigeti esetben hyperfoszforilált tau-val is és egy esetben SOD-1 mutáns fehérjével együtt volt detektálható. Ez utóbbi az irodalmi adatok szerint igen ritka. Lehet-e tudni, milyen relációban vannak ezek a zárványok az ún. Bunina testekkel (1962), ill. a később leírt hyalin-szerű zárványokkal?

A Bunina testek és a TDP-43 viszonya nem teljesen tisztázott. Csupán a Bunina testek egy része van TDP-43-pozitív zárványokat tartalmazó sejtekben és a Bunina testek sem mind TDP-43 pozitívak (Mori F *et al.*, Neuropathology, 2014, 34: 71-76). Mások úgy találták, hogy a Bunina test TDP-43-negatív, miként a SOD-1 mutáció miatt kialakuló ALS-re jellegzetes Lewy test-szerű hyalin zárvány ('Lewy body like hyaline inclusion' (LBLHI)) is (Tan *et al.*, Acta Neuropathol, 2007, 113: 535-542). A LBLHI megnevezést az újabb neuropatológiai kézikönyvek nem ajánlják (többek között azért sem, mert az alfa-szinukleinopátiára jellegzetes Lewy testek említése ALS kapcsán a témában kevésbé járatosak számára félreérthető).

A vesicle-associated membrane protein – associated protein mutáns transzgenikus egerekben enyhe motoneuron betegség fejlődik ki és TDP-43 protein zárványok jelennek meg, melyek tartalmazzák a kóros proteint, ubikvitiniláltak, és szerző szerint p63-hoz kötődnek. (Ez utóbbin valószínűleg a p62-t érti). Arra következtet ebből, hogy az ALS 8 modellbetegsége is TDP-43 proteinopathia. Az irodalomban azonban a fehérje funkció vesztese és új funkció nyerése egyaránt

szerepel a károsodás magyarázataként. A humán ALS 8-ban van-e TDP-43 zárvány? Van-e neurocognitív zavar, mint ahogy a címben szerepel?

Igen, p62 és nem p63 (gépelési hiba történt). Igen, az ALS 8 feltételezhetően TDP-43 proteinopátia – transzgenikus egereken végzett vizsgálataink is e mellett szólnak. Tudomásom szerint azonban ALS 8-ban meghalt betegből neuropatológiai vizsgálat eddig még nem történt. A legtöbb ilyen beteg Brazíliában él, de vannak kis számban betegek Belgiumban is. Az ALS 8 a motoneuron betegség szokatlanul enyhe formája és nem szokványos fenotípusa. Neurocognitív zavar sem jellemző (szemben több más ALS formával).

A következő fejezetben a TDP-43 negatív, de P62 és ubikvitin pozitív zárványokkal járó FTD-ALS eseteket vizsgálták szisztematikusan. A zárványok megjelentek a cerebellumban és a hippocampusban is. 36 betegből 14-ben megtalálták a C9orf72 mutációját (hexanucleotid ismétlődés expansióját). A p62 pozitív zárványok globuláris ill. csillag alakúak és a többségükben nincs a TDP-43 hyperfoszforilált formájával reagáló antitesttel immunohisztokémiai reakció. A hippocampusban és a cerebellumban intranucleáris inklúziók is vannak. Ezt az immunohisztokémiai mintázatot pathognomikusnak tartja a C9orf72 mutációs ALS és a FTLD-TDP-43 esetekre és a TDP-43 proteinopathiák új csoportjaként írja le. Az olvasó számára ezzel az egész leírást érthetlenné teszi (előzőleg azt írja, TDP-43 negatív eseteket vizsgáltak, ráadásul ugyanazon az oldalon (66.) az NCI rövidítést egyszer nucleáris cytoplazmatikus inklúzió, máskor neuronális cytoplazmatikus inklúzióként értelmezi). A zárványok cerebelláris lokalizációja jár-e kimutatható cerebelláris tünetekkel?

A C9orf72 mutáns ALS esetén a zárványok többsége TDP-43-negatív, ami különösen igaz a cerebellumban és a hippocampusban nagy számban előforduló p62- és ubikvitin-pozitív, csillag alakú neuronális (a 'nucleáris' valóban egy zavaró gépelési hiba) citoplazmatikus inklúziók (NCI) esetében. Ennek megfelelően, a C9orf72 mutáns ALS (és frontotemporális demencia (FTD)) olyan TDP-43 proteinopátia alcsoport, ahol a zárványok jelentős része TDP-43 negatív. Érdekes, hogy a cerebelláris patológia ellenére a betegeknek nincsenek cerebelláris tünetei.

Négy ALS fenotípusú és a szerző által extramotor patológiával jellemzett esetet is leírtak. Cognitív deficit nem volt. A C9orf72 mutáció a gén későbbi felfedezése során igazolódott ezekben az esetekben. Utal a szerző a részletes neuropatológiai jellemzésre, a nagyszámú immunohisztokémiai reakcióra, melyet alkalmaztak, külön kiemeli a postmortális anyagban elsőként végzett elektronmikroszkópos vizsgálatot. Ennek szerzőtársát is megadja, az eredményét azonban nem is említi.

Granuláris és szálcás zárvány igazolódott olyan neuronban, amelyik C9orf72 mutációra jellegzetes csillag alakú inklúziót tartalmazott.

Multicentrikus európai vizsgálattal megállapították, hogy a C9orf72 Európában a leggyakoribb genetikai eltérés familiális és sporadikus ALS-ben, és ezt egy 6500 évvel ezelőtt egy egyedben bekövetkező mutációra lehet visszavezetni. A vizsgálatokba a disszertáció szerzőjének a patológiai anyagait is bevonták.

A motoneuron és kisebb részben a gliális zárványok fehérjeösszetételét vizsgálva mind a familiális mind a sporadikus ALS-ben gamma-szinukleint mutattak ki immunohisztokémiai és Western blot vizsgálatokkal a dorsolaterális gerincvelői fehérállományban az axonokban a 44 vizsgált ALS elhunyban. Ennek a jelentősége még nem ismert.

Az irodalom retrospektív vizsgálata alapján arra a következtetésre jutottak, hogy nem igazolható, hogy az áramütés kóros szerepet játszik az ALS kialakulásában. A kérdésem az, hogy milyen indítástól került ez munka a disszertációba, amelynek címe a neuropathológiai vizsgálatok neurocognitív zavarral járó betegségekben? Sem neuropathológiai vizsgálat nem történt, sem cognitív zavarral járó betegség nem állt fenn.

Korábbi kérdésre adott válaszában írtakra utalva, mivel az ALS-hez társulhat kognitív zavar, ezért az ALS-t bevontam az értekezés témakörébe.

A következő nagy fejezet az Alzheimer kór vizsgálatáról szól.

Kimutatták, hogy a Presenilin funkcióvesztéses mutációja a Ciklin-D1 felszaporodást, és következményes abortív sejtciklus aktivációt okoz apoptosissal a neuronokban a humán mutációt expresszáló transzgenikus egerekben és a humán betegségben is.

Kimutatták, hogy egerekben a térbeli tájékozódás tanulása során (Morris water maze vizsgálatok) a hippocampusban emelkedik a cyclin dependens kinase-5 aktivátor p35 és p25 szintje (tükrözve az emlékező funkciók javulását) és emelkedik a szeptin 7 és OPA1 szintje (melyek a dendritikus tüskék és a sejtek közötti kapcsolatok kialakulásában fontosak). Elektron mikroszkópos vizsgálatokkal igazolták a presynaptikus vezikulák és a dendritikus tüskék számának "kedvező" változását (gondolom, hogy a növekedését). A p35 és p25 szintje az Alzheimer kórosok agyában csökken a postmortális vizsgálatok szerint. Hasonló eltéréseket találtak schizofrénias betegek agymintáiban is.

Az elektronmikroszkópos vizsgálat a presynaptikus vezikulák számának emelkedését és a mitokondriumokat tartalmazó tüskék számának csökkenését igazolta.

A presynaptikus vesiculáris protein CSP-alpha szintjét is csökkentnek találták Alzheimer kórosok postmortálisan vizsgált előagy régióiban, míg a cerebellumban emelkedett. Ennek alapján feltételezik ennek a proteinnek a neuroprotektív hatását, mert Alzheimer kórban a cerebellum nem károsodik. Humán tau-proteint expresszáló transzgenikus egerekben is azt tapasztalták, hogy ha a CSP-alpha expressio fokozott, a neuronvesztés nem számottevő. Miért van egyáltalán neuronvesztés a normál humán tau-proteint expresszáló egérben?

Ez az egértörzs mind a hat humán tau izoformát expresszálja, viszont az egér tau fehérjét nem (mivel annak génjét az állat nem hordozza). Andorfer és munkatársai hozták először létre az állatmodellt (J Neurochem, 2003; 86:582-590). A sporadikus humán taupátiák (beleértve az Alzheimer kórt is) az egyik legjobb modelljének tartják, mind a neuropatológiai jellemzők (hiperfoszforilált tau expresszió igazolódott, ami magyarázza a neuronvesztést is), mind a kognitív tesztek alapján.

Olyan transzgenikus egérben mely a humán tau 35 kDalton méretű fragmentjét overexpresszálta, a humán taupathia neuropathológiai, kognitív, viselkedési és sejtbiológiai jellemzői alakultak ki. Melyik humán taupathiához, melyik humán betegséghez hasonló? Miért éppen ezt a fragment választották a transzgenikus átvitelhez? A betegellátásban engedélyezett vegyület "fenilbutatrat" visszafordította az eltéréseket. Valóban ez a név? Natrium és glicerin fenilbutirátot találtam csak emberi használatra.

A kérdés jogos és valóban helytálló: azért ennek a C-terminális tau fragmentnek az overexpresszióját eredményező génátvitel történt, mert egy gyakori humán taupátia, a progresszív szupranukleáris bénulás (PSP) esetén ennek a tau-fragmentnek a kóros hiperfoszforilációja igazolódott (Wray et al., J Neurochem, 2008; 105: 2343-2352.). Az állatmodellt azonban nem specifikusan a PSP, hanem általában a sporadikus humán tau-

páthiák modelljének tarjuk (ami az Alzheimer kórt is magába foglalja). A fenti kijelentés mellett szólnak a neuropatológiai jellemzők is.

A Bírálónak igaza van: fenilbutirát a vegyület neve helyesen.

A klasterin specifikusan kötődik az amyloid beta fehérje 40 aminosav hosszúságú altípusához és nem kötődik a 42 aminosavból álló formájához. Az Alzheimer kórosak plakkjaiban a 40 aminosav hosszúságú amyloidhoz kötődik a klasterin, ugyanúgy mint az angiopathiás erekben. Tau-hoz kötődő klasterint nem láttak. Az irodalomban eltérő eredményeket a postmortális szövetnek az élőttől vagy az ex vivo nyerttől eltérő károsodási fokával, az antigént előhívó technikák és az antitestek különbözőségével magyarázza.

Ezeknek a vizsgálatoknak a jelentősége az, hogy további adatokat szolgáltatnak az Alzheimer kórban előforduló neuron degenerációról, az emlékezéssel, tanulással kapcsolatos fehérjék mennyiségi változásairól. Ezek az adatok részben kapcsolhatók az amyloid, részben a tau hypothézishez, de a teljes kép még nem áll össze. További jelentősége az, hogy ráirányítja a figyelmet arra, hogy a postmortális szövetből is nyerhetők adatok az élő szervezetben zajló folyamatokról. A vizsgált anyagoknál mennyi idő telt el a halál és a vizsgált szövet eltávolítása között?

Az ismert post-mortem idő (PMI) 13 és 96 óra között váltakozott, ez azonban nem mutatott összefüggést a vizsgált paraméterekkel (plakkok száma, béta-amiloid típus, klasterin). Az eltérés az agyi régiótól függött, nem pedig a PMI-től. A PMI ilyen mértékű eltérése előfordulhat neuropatológiai tanulmányokban és valóban óvatosságra int.

Nagyon értékesnek látom a Lewy testes és a Parkinson kórhoz társuló demenciák klinikopathológiai jellegű feldolgozását. Ebben a kognitív deficit mértékét korreláltatták statisztikailag is megerősítve a szövettani eltérések mértékével. Négy releváns agyi régiót hasonlítottak össze, amelyek szerint megoszlának a vizsgált proteinopathiák. A súlyosság mértékének a definícióit pontosan megadja. A kognitív funkciók mérésére a Mini-Mental State Examination-t használták. Az eredmények az alábbiak: i.) az alpha synuclein pathológia súlyossága összefüggést mutat a kognitív képességek csökkenésével, ii.) Mindkét Lewy testes demenciában az Alzheimer típusú amyloid és tau pathológia egyidejű fennállása nagyobb kognitív deficitet és gyorsabb romlást eredményez, iii.) Az MMSE teszt pontszám csökkenés gyorsabb üteme jobb jelzője a neuropathológia súlyosságának, mint a halál előtt végzett utolsó vizsgálat pontértéke. iv.), v.) az amyloid szorosan, a tau immunoassay eredményei kevésbé egyértelműen korreláltak az amyloid beta szöveti koncentrációjával ill. az ún. plakk score-okkal. (Ez éppen várható volt, hiszen ugyanazt nézték két különböző módszerrel.) vi.) a proteinopathia-jellegű pathológia összegzett értéke pontosan korrelál a kognitív képességek csökkenésének a mértékével, vagyis a folyamatok szinergisztikusan károsítják az idegrendszert. vii.) ha a synucleinopathiás demenciákban kimutatható az Alzheimer típusú pathológia, indokolt annak is a kezelése viii.) A legfontosabb megállapítás az, hogy a neurodegeneratív betegségek nagyon gyakran kevert proteinopathiák összességének a következményei.

Köszönöm a Bíráló elismerő szavait klinikopathológiai vizsgálatainkról!

Egy ötéves prospektív vizsgálatban megállapították, hogy a DLB-ben gyorsabb a kognitív hanyatlás, mint Alzheimer kórban. Ezért sem lehet a demenciákat mint syndromát összevonni a gyógyszerkipróbálásoknál. A vizsgálatból bebizonyosodott ismét, hogy a leggondosabb klinikai vizsgálatok sem mindig adnak biztos diagnózist. Alapvető fontosságú volt a jelölt által felállított autopsiás diagnosis. A Lewy testes és Alzheimer demenciában is korai tünetnek találták a depressziót. Hypothesisként felvetik, hogy a kognitív hanyatlás gyógyszerei kedvezőek lehetnek a depresszív tünetekre. A klinikai gyakorlat azonban a fordítottját mutatja. A neuropathológiai

anyagban a BA9 (dorsolaterális frontális régió) ZnT-3 szinaptikus fehérje szintjét mind Alzheimer, mind diffúz Lewy testes, mind Parkinson kórhoz társuló demenciában alacsonynak találták. A PSD-95 (postsynaptikus densitás protein) szintje ugyanúgy csökkent, correlálva a kognitív hanyatlással. Az utóbbi mennyisége a diffúz Lewy testes és Parkinson demenciában különbözött. A különbség iránya azonban nincs megadva. (Ehhez hasonló, nem konkrét megfogalmazások többször is előfordulnak a disszertációban, holott ez az "Eredmények" fejezet része. A ZnT-3 és a PSD-95 szintjét a synucleinopathiákban csökkentnek találták, az Alzheimer kórban és a kontrollokban nem. Ez az előző aláhúzotthoz viszonyítva ellenkező megállapítás. Melyik volt az igaz? A további szinaptikus fehérjék vizsgálata eredményeinek, pl. a Dinamin-1 szintjének a leírása számomra érthetelen ("különböző demencia típusokban nem mutatott különbséget és nem eltérő a kontroll csoport részletétől sem, azonban ha a szintjét a kognitív hanyatlás mértékével azonosítjuk, akkor pozitív korreláció adódik"). A kalmodulin-dependens protein kináz II alpha (CMK II) szintje szignifikáns különbséget mutatott valamennyi demencia típusban a kontroll csoporthoz képest. Csökkenést, vagy emelkedést? A beteg kontrollokhoz képest, vagy a normál kontrollokhoz képest? Ezek után további szinaptikus fehérjék (Dinamin-1 /ez már előzőleg szerepelt/, WAMP2, Rab3A, SNAP25 és neurogranin9 összefüggését igazolták a kognitív hanyatlás mértékével. Adatok azonban nincsenek bemutatva, amelyek meggyőznék az olvasót. Így ennek a fejezetnek a leírás alapján nem tudom minősíteni a tartalmát, csak a leírást, ami ellentmondásos. Kérdésem, hogy a nem neurodegeneratív betegségben szenvedők depressziója mutatja-e azokat az eltéréseket, melyeket a degeneratív betegségekben leírtak? Ez lenne egy olyan vizsgálat, ami tisztázná, hogy a depresszióknak van-e neuropathológiai szubsztátuma. Pl. suicid személyeken lehetne vizsgálni. Ugyancsak különbözik az unfolded protein response az alpha-synucleinopathiákban az Alzheimer kórosokhoz és a normál kontroll csoporthoz képest, de csak a gyrus cinguliban és a parietalis kéregben. A prefrontális és a temporális cortexben nem. Lehet-e ezen területi limitációban mért glucose-regulált protein szint emelkedésből (az unfolded protein response szabályozója), és ennek az egy proteinnak az emelkedéséből levonni azt a következtetést "hogy ez a sejtválasz" fontos szerepet játszik a Lewy testes és Parkinson betegséggel kapcsolatos demenciákban?

A neurodegeneratív betegségek és a depresszió kapcsolata a neuropatológiai alapok és a neurokémiai folyamatok vonatkozásában véleményem szerint is tisztázatlan kérdés. E területen nehéz átütő eredményt elérni és nemzetközileg kiemelkedő folyóiratban közölni. Ennek az is oka, hogy a Bírálónak a probléma mélyére hatoló és klinikai tapasztalaton alapuló kérdéseit a szöveti alapú kutatási következtetések, hipotézisek gyakran nem válaszolják meg, sőt, ellentmondanak annak. Ezzel magunk is tisztában voltunk, vagyunk. Noha a nagy organikus pszichiátriai betegségek neuropatológiai feltérképezése szakterületem egyik legfontosabb 21. századi kihívása, feladata (kéne, hogy legyen), a neuropatológusok közül kevesen vállalkoznak arra, hogy ezen az 'ingoványos talajon' nekivágjanak az ismeretlennek. E területen tudásunk nagyon is töredékes, mozaikszerű és a távolabbi jövőben visszatekintve sok hipotézis, következtetés és eredmény bizonyára revízióra szorul vagy elvetendő lesz.

A vizsgált post-mortem agyak az adott betegnél *per definitionem* a végállapotot jelentik. Ekkor a súlyos morfológiai elváltozások elfedhetik a betegség kialakulásában, progressziójában szerepet játszó folyamatokat, melyeknek az élő szövet funkcionális viszonyai között van igazán relevanciájuk. Példa erre a neurotranszmitterek változása depresszióban, melyek a post-mortem agyszövetben messze nem tükrözhetik azt, ami az élő betegben fennállt. Az ehhez sokban kapcsolódó szinaptikus diszfunkció, ami egyik fő kutatási témánk, szintén hasonló megfontolásokkal illethető. További lényeges szempont, hogy a betegek változatos gyógyszeres kezelésben részesültek. Ezek egy része a neurotranszmitterekre hat és

ellensúlyozza (legalábbis egy ideig) a kóros folyamatokat. A farmako-(neuro)patológia születőben lévő tudományterület e kérdések vizsgálatára. A szövettani metszeteken végezhető gyógyszerkimutatás ('drug imaging') reménykeltő módszer (számos limitációval). Egyetértek a Bíráló kiváló kérdésfelvetésével és javaslatával, hogy 'a nem neurodegeneratív betegségben szenvedők depressziója mutatja-e azokat az eltéréseket, melyeket a degeneratív betegségekben leírtak? Ez lenne egy olyan vizsgálat, ami tisztázná, hogy a depresszió van-e neuropathológiai szubsztrátuma. Pl. suicid személyeken lehetne vizsgálni.'. A jövőbeni vizsgálatok remélhetőleg e kérdésre is választ adnak. A depresszió és más pszichiátriai tünetek vonatkozásában a lelki, spirituális aspektusok is felmerülnek, melyek nehezen vagy egyáltalán nem kezelhetőek és értelmezhetőek az anyagi valóságot vizsgáló neuropatológus részéről.

A ZnT3 és PSD-95 szintjét vizsgáló munkával kapcsolatban a kért részletesebb ismertetést egy korábbi bírálati kérdés kapcsán megtettem. Elfogadom a kritikát, hogy kizárólag az értekezés alapján a különböző betegségekben (DLB, PDD, AD) és agyi régiókban nem egységes irányú eltérések nem átláthatóak. A részletes ismertetés és diszkusszió a közleményekben szerepel illetve korábbi válaszomban részleteztem.

A Dinamin-1 vonatkozásában a Bíráló által idézett mondat gépelési hiba miatt valóban nem értelmezhető: a 'kontroll csoport részletétől' helyett 'kontroll csoportban észleltől' a javított szöveg. Noha a Dinamin-1 szint magas esetszámot (16 és 55 közötti, csoporttól függően) vizsgálva alacsonyabb volt a demencia csoportokban a BA24 (*gyrus cinguli* elülső része) régióban, mint a kontroll csoportban, a különbség nem bizonyult szignifikánsnak. Ha a betegcsoportokban a kognitív hanyatlás gyors illetve lassabb voltával ('sebességével') korreláltattuk, akkor a Dinamin-1 szint csökkenése szignifikáns korrelációt mutatott ezzel a paraméterrel (azaz a kognitív hanyatlás tempójával). Ez is alátámasztja annak fontosságát, hogy a demencia vizsgálatakor a betegséget annak dinamikájában szemléljük. Az élő betegeket vizsgáló klinikusok ezt teszik és számukra ez természetes, de a halott szövetet vizsgáló klinikusok, kutatók számára is megfontolandó ez a megközelítés.

A foszfoCaMKII szintje a BA24 régióban alacsonyabb volt, mint a kontroll csoportban. A három betegség (DLB, PDD, AD) összehasonlításakor azonban nem mutatkozott különbség. A VAMP2 esetén a betegcsoportokban a csökkenés korrelált a demencia diagnózistól számított időtartamával. A neurogranin, Rab3a, SNAP25 szintje a kontroll csoporthoz képest valamennyi betegcsoportban (AD, PDD, DLB) csökkent a prefrontális kéregben (kivéve a SNAP25 szintjét AD-ben), míg a betegcsoportok között nem mutatkozott statisztikai különbség. Továbbá, a Rab3 szinaptikus fehérje vonatkozásában DLB-ben a parietális lebenyben (BA40) mutatkozott szignifikáns korreláció a fehérje szintjének csökkenése és a kognitív hanyatlás sebessége között, míg a SNAP25 esetén az Alzheimer kóros betegek prefrontális (BA9) kérgi mintáiban nyert ez igazolást. Lényeges megállapítás, hogy a három szinaptikus fehérje együtt értékelve 90%-ot meghaladó specificitással és szenzitivitással különítette el a betegségeket (AD, PDD, DLB) csoportokat a kontroll csoporttól.

Az 'unfolded protein response' (UPR) aktivációját elsőként igazoltuk Lewy testes kórképekben. Eredményeink arra utalnak, hogy amennyiben Alzheimer kór is társul a szinukleinopátiához, akkor további UPR aktiválódás történik. Munkánk jövőbeni vizsgálatok

hivatkozási és kiindulási alapja lehet, amit megerősít az elmúlt évben megjelent közleményre kapott 14 irodalmi hivatkozás is. Az UPR fontosságát és jelentőségét (mint lehetséges terápiás célpont) ma még nem lehet megjósolni. A neurodegeneratív betegségekből, mivel igazán hatékony oki terápia nem ismert, az új utak reménykeltőek. Közleményünkben is óvatosan fogalmaztunk eredményeink tudományos és klinikai jelentőségét illetően.

A neuropathológia konszensusokat örömmel olvastam - a béta amyloid lerakódásról a neurodegeneratív kórképekben és az idősödő agyban, - a frontotemporális lobáris degeneráció TDP-43-pozitív inclusionsokkal kapcsolatban, - a frontális temporális lobáris degeneráció-tau Pick testekkel a hippocampusban jelenséggel kapcsolatban, - az időskori tau astrogliopathiával kapcsolatban. A konszensusok jellegéből következik, hogy több kutató, alkalmanként 60-nál is több konszenzusa, nem tekinthető önálló eredménynek. Akkor sem, ha megtisztelő ilyen konszenzust kialakító szakmai tudományos közösségekben tagnak lenni.

Örömmel olvastam a Bíráló sorait a konszenzus közleményekről. Amint egy korábbi megjegyzésére reagálva kifejtettem, a konszenzus közlemények nem elméleti kérdések megvitatását, hanem nagyszámú paraméter neuropatológiai analizisét is magukba foglalták, megosztott mikroszkóp melletti diszkusszióval kísértén.

A következő fejezetben leírja, hogy a vezikuláris glutamát transzporter-1 protein szintjét nem demens stroke-os elhunytakban (és nem betegekben!) emelkedettebbnek találták, mint a vasculáris demencia, kevert demencia, Alzheimer demencia esetében. Nem inkább arról van szó, hogy az utóbbiak esetében csökkent?

Köszönöm a megjegyzést, ami lehetőséget ad a pontosításra. Természetesen a 'stroke-os nem demensek' (SND) is betegeknek tekinthetők. Az egészséges kontroll csoportokhoz képest a VGLUT-1 szint csökkenése nem érte el a szignifikáns mértéket a demencia csoportokban. Viszont e betegcsoportokhoz képest az SND csoportban magasabb a VGLUT-1 szint, ezért az 'emelkedettebb VGLUT-1 szint' megfogalmazás. Noha a Bíráló véleménye ('Nem inkább arról van szó, hogy az utóbbiak esetében csökkent?') helytálló, az eltérő megfogalmazással azt is utaltam, hogy a glutamaterg szinapszisok és neurotransmisszió megőrzése stroke-ot követően endogén protektív mechanizmus lehet a demenciával szemben.

A 111. oldalon hivatkozik "korai tanulmányokra (Gottfries és munkatársai 1994)", melyek a "vasculáris demenciában jelentős kognitív deficitet írtak le". Ez annyira magától értetődő, - hiszen a demencia kognitív deficit, - hogy megnéztem mi is ez. (Az idézett forrás azonban a vasculáris demenciában talált neurokémiai eltéréseket írta le.) Ez után a fals gondolatmenet azzal folytatódik, hogy "egy évtizeddel később egy részletesebb tanulmány csak a vasculáris demencia Alzheimer-kórral szövődött eseteiben írta ezt le". Ezzel a hibás idézéssel állítja szembe a saját munkájukat, mely "neurokémiai, neuropatológiai vonatkozásokat egyaránt tartalmaz". A cholin acetyl transferase aktivitásának a csökkenését igazolták a vasculáris demencia és Alzheimer kór együttes előfordulásában. Post-stroke demencia esetén aktivitás emelkedést észleltek a frontális lebenyben. Nincs adat a disszertációban a tisztán vasculáris demencia vagy a tisztán Alzheimer betegségben előforduló változásokról. Leírták a serotonin receptor kötődés változásait is radioligand kötődéseinek a mérésével. A jelölt az eredmények akár egymondatos konkrét leírása helyett hivatkozik a közleményekre és felhívja a figyelmet a különböző vasculáris demencia típusok közötti különbségekre. Az általa kiválasztott szövetmintákban ELISA módszerrel különböző gyulladásos mediátorok szintjét határozták meg. A monocyta chemoattractant protein-1 (MCP-1)

szintjét drasztikusan csökkentnek találták vasculáris és kevert demenciában. Az IL-6 is csökkenést mutatott. A conclusio az, hogy vasculáris és kevert demenciákban a gyulladási reakció mérsékeltebb, mint Alzheimer kórban. Az Alzheimer kórban talált eredmények azokban nincsenek megadva.

A 111. oldalon 'cognitív' helyett 'kolinerg' a helyes szó.

Tisztán ('pure') Alzheimer kóros betegekben is csökkent a kolin-acetil-transzferáz (CAT) aktivitás. Ez nem meglepő az Alzheimer kórban közismert kolinerg deficit ismeretében, ami az időskori memóriazavar 25 éve leírt kolinerg hipotézisének is alapja (Bartus RT *et al.*, Science, 1982, 217: 408-414). Ma már tudjuk, hogy az agykérgi kolinerg deficit jelentős részben a mély szürkeállományi kolinerg magvak neurodegeneratív proteinopathia kapcsán létrejövő károsodásának következménye. A tisztán (nem stroke eredetű) vaszkuláris demenciában a kontroll csoporthoz hasonló értéket mutattunk ki. Erre nem tértem ki az értekezésben, mivel az adatbőség miatt a vaszkuláris demencia típusok közötti különbséget kívántam hangsúlyozni a CAT vonatkozásában (ami a közlemény fő újdonsága), valamint azt, hogy a post-stroke demenciában észlelt magasabb enzimérték regeneratív aktivitás következménye is lehet.

A szerotonin receptor vizsgálatok az agyi infarktus kapcsán emelkedett kötődést igazoltak (mind demencia esetén, mind annak hiányában) a kontroll csoporthoz képest, ami ezt a betegcsoportot megkülönbözteti mind a szubkortikális vaszkuláris elváltozásokat mutató demencia csoporttól mind az Alzheimer kórral szövődött (kevert) vaszkuláris demencia csoporttól.

A gyulladási mediátorok vizsgálatok vaszkuláris demencia és kevert vaszkuláris és Alzheimer demencia eseteket vizsgáltunk. A tisztán Alzheimer kóros esetek vonatkozásában irodalmi adatokra hivatkoztunk, azaz a vizsgálatokat nem ismételtük meg (noha mások eredményeinek saját vizsgálatokkal történő kontrollálása, az eredmények összehasonlítása valóban teljesebbé tette volna a kísérletsorozatot).

A következő három oldal arról számol be, hogy az amyloid prekursor protein mint az acut axonális károsodás szövettani markere az agyból készült metszeteken immunohisztokémiai módszerekkel legkorábban a traumát követően 35 perc túlélés után mutatható ki. Ezekben az esetekben nincs szó sem neurocognitív zavarról, sem betegségről. Miért került ez a munka be a neurocognitív zavarral járó betegségek közé?

A vizsgálatok a traumás agykárosodás (TBI) témaköréhez tartoznak. A TBI járhat neurocognitív zavarral. A vizsgált esetekben valóban nem állt fenn demenciának megfelelő krónikus kognitív zavar (a szintén gyakran diffúz axonális károsodással járó krónikus traumás encefalopátia (CTE) viszont jellegzetesen kognitív zavarral járó kórkép). Másrészt, az Alzheimer kór egyik fő kórjelző fehérjéjének az előanyagát (amiloid prekursor protein (APP)-t), vizsgáltuk és mutattuk ki, ami szintén kapcsolja a vizsgálatokat a demencia témaköréhez.

A poly(ADP-ribóze) polymerase gátlásának neuroprotektív szerepét a Klatzo által 1958-ban leírt hideg léziós kísérlettel igazolták. A PARP gátlása csökkentette a lézió nagyságát. A chronicus neurocognitív zavarral járó betegségekben nem vizsgálták a PARP szerepét.

A PARP-gátlásos kísérlet is azért került az értekezésbe, mert a fokális agyi trauma modellként (is) jellemezhető agykérgi hideg lézió kapcsán vizsgáltuk. Megjegyezzük, hogy a modell és a humán traumás agykárosodás közötti hasonlóság vitatott kérdés.

A MEGBESZÉLÉS ÉS ÖSSZEGZÉS fejezet sok általánosságot tartalmaz, mivel az eredmények részfejezetben már értékelte legtöbbször a szerző az eredményeket. Sőt gyakran csak értékelés van, de az eredmények nincsenek bemutatva. Mivel munkák sem a címhez, sokszor egymáshoz sincsenek illesztve, nincs egy logikus vezérfonal melyre felfűzhető a disszertáció gondolati tartalma, nehéz hozzá összegzést írni. A szerző megismétli a neuronális sejtcyclus zavarának a jelentőségét Alzheimer kórban, a microglia sejtek kiemelt funkciójáról értekezik (bár erre minimális vizsgálat utal csak), a synaptikus dysfunctió szerepét újra hangsúlyozza, discutálja az endocannabinoid rendszer szerepét az Alzheimer kórban (bár erről eddig nem esett szó), és hivatkozik más, a disszertációban nem szereplő közleményeire, próbálja bemutatni őket ebben a részben.

A neurokognitív zavarral járó betegségeket vizsgáló több, mint egy évtizedes munka nem egyetlen jól definiálható tudományos kérdés feldolgozása. Ezért a megbeszélés és összegzés is szerteágazó.

A magam összegzése a disszertációról.

A disszertáció olyan, mint egy nagy mozaik, melynek számos darabja hiányzik, a meglévő darabokat pedig mintha más és más rendelte volna. A disszertáció feladata az, hogy segítse a jelölt munkájának értékelését. Erről a disszertációról ez nem mondható el. Az egész munkát úgy kellene bemutatni, hogy önmagában egy tudományos közlemény legyen. Tartsa azokat a standardokat, amelyeket megkívánunk egy tudományos közléstől. Nincs benne helye anekdótális írásmódnak, az objektív adatokhoz fűzött érzelmi megnyilvánulásoknak. Legfőképpen nem lehetnek benne tartalmi hibák, melyekre utaltam, hibás mondatok, melyek a megértést nehezítik. És nem lehet ilyen nagy számú gépelési hiba. Az akadémiai doktori disszertációt általában egyszer védünk, különleges, felemelő alkalom. Azzal is meg kell tisztelnünk, hogy igyekszünk a tudományos közlés tradíciói szerint megírni, lehetőleg hibátlanul. A munka tartósan megmarad, bármikor elővehető, bárki által megnézhető, s a bíráló nem compromittálhatja magát azzal, hogy a hibákra nem hívja fel a figyelmet.

A doktori mű alapjául szolgáló munka tudományos eredményei jelentősek, újak, hiteles adatokat tartalmaznak. Új tudományos eredménynek fogadom el a KÖVETKEZTETÉSEK ÉS MEGÁLLAPÍTÁSOK 1-29, valamint a 35-40. pontjait. Elfogadom új eredménynek a neurológiai konszenzus kritériumokat is (30-34.), de ezeket nem tekinthetem a jelölt kizárólagos munkájának. A munkát nyilvános vitára alkalmasnak tartom.

Köszönöm a tisztelt Bíráló minden részletre kiterjedő, alapos munkáját, előre mutató, gondolatébresztő véleményét, kritikai megjegyzéseit és kérdéseit! Ez lehetőséget adott azokra reflektálnom, teljesebbé téve MTA doktori pályázati anyagom.

Köszönöm támogatását az értekezés nyilvános vitára tűzését illetően. Bízom benne, hogy opponensi véleményére adott válaszaim kielégítőek.

Debrecen, 2017. július 15.

Hortobágyi Tibor