

VÁLASZ OPPONENSI VÉLEMÉNYRE

OPPONENS:

Prof. Dr. Magyar János, D.Sc.

SZERZŐ:

Dr. Czirják Gábor

AZ MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS CÍME:

A TRESK háttér kálium csatorna molekuláris szabályozási mechanizmusainak vizsgálata

(dc_1744_20)

Mindenekelőtt szeretném megköszönni Magyar János professzor Úrnak, hogy elvállalta értekezésem bírálatát és a munkámról pozitív véleményt alkotott. Köszönöm a doktori értekezés alapos áttanulmányozását és az építő jellegű, részletes értékelést.

Az elsőként megfogalmazott kritika a dolgozatban található hibákra vonatkozik. Azt olvashatjuk, hogy "elírás, értelmi hiba csupán néhány helyen fordul elő az értekezésben". Köszönöm ezt az alapvetően pozitív megállapítást. Mindazonáltal, az Opponens megad három példát is az értelmi hibákra. Először ezekre szeretnék reflektálni.

A 26. oldalon írtakkal kapcsolatban a Bíráló felhívja a figyelmet arra, hogy a befelé rektifikáló kálium csatorna árama, az I_{K1} a repolarizációhoz is hozzájárul a kamrai szívizomsejtekben. Ez kétségtelen, azonban a K_{2P} csatornák élettani jelentőségéről szóló tízoldalas bevezetés egyéb K^+ -csatorna típusokat megemlítő első nyolc sorában, a befelé rektifikáló csatornák ilyen részletes tárgyalása nem lehetett cél. Fiziológiás ionmegoszlás esetén, a depolarizáció fokozódásával a K_{2P} csatornák árama meredeken növekszik, a befelé rektifikáló csatornáké viszont nem. Emiatt a háttér K^+ -csatornák sokkal erőteljesebb repolarizáló hatást fejtenek ki, mint a befelé rektifikáló csatornák. Ennek említését nem érzem hibának, még akkor sem, ha bizonyos sejt típusokban a befelé rektifikáló csatornák élettani szempontból számottevő repolarizációt is okoznak. Hasonló módon, egyes sejt típusokban a feszültségfüggő K^+ -csatornák hozzájárulnak a nyugalmi membránpotenciál fenntartásához, azonban a kifogásolt nyolc sorban ezt sem ismerttettem. Úgy vélem, csak a legjellemzőbb működést röviden kiemelve, általában véve nem kifejezett hiba azt állítani, hogy a feszültségfüggő K^+ -csatornák repolarizálnak, a befelé rektifikáló csatornák a nyugalmi membránpotenciált stabilizálják, a háttér csatornák viszont mindkét hatást kifejtik. Semmiképp nem szerettem volna ezzel a tömör összefoglalással kizárni, hogy egyes speciális esetekben átfedések előfordulhatnak.

Az Opponens hiányolja, hogy a 66. oldalon, a 16. ábrán nem szerepel, vajon a világos vagy sötét részek számítanak specifikus jelölődésnek. Szerepel viszont, hogy a szem jelölődött specifikusan és úgy gondoltam, hogy ez könnyen azonosítható az A panelen. A sötét számított jelölődésnek a radioaktivitás hatására exponálódott röntgen filmen, a halvány szürke valószínűleg nem specifikus jel az A panelen. A B panel ábraszövegében szerepel, hogy autoradiogramról van szó és "a külső sejt mag réteg (ONL) mutat nagy szemcsesűrűséget".

A 72. oldal 20. ábra A panel kapcsán a Bíráló kijelenti, hogy "az áram inaktíválódik és nem deaktiválódik". A klasszikus, feszültségfüggő csatornák működésére vonatkozó nevezéktan

szerint deaktivációról beszélünk például, ha hiperpolarizáló feszültséglépés során a csatorna a nyitottból a zárt állapotba megy át. Ezzel szemben inaktivációt említünk, ha fenntartott depolarizáció közben a csatorna a nyitott állapotból inaktív, nem vezető állapotba jut.

A 20. ábra A panelen 171 másodpercnél a hiperpolarizáló feszültséglépés során mért lecsengő áram komponenst láthatjuk. A teljes feszültséglépés sorozat emellett tartalmazott 0 és +20 mV-os lépést is (amelyeket az értekezésben nem mutattam). Ezeknél világosan látszik a depolarizáció hatására létrejövő aktiváció, azonban inaktiváció nem tűnik fel. Depolarizáció hatására nyílik a csatorna, hiperpolarizációra záródik. Ez ismétlődik a feszültséglépés sorozat újra és újra futtatásakor, amíg a kalcium jel a kalcium-aktivált klorid áramot serkenti. A kalcium-aktivált klorid áramért *Xenopus* petesejtekben főként a TMEM16, más néven anoctamin csatornák felelősek [1]. A TMEM16A kalcium-kötő helye a 702-es és 705-ös glutamát (az egér csatorna számozás szerint) [2], a kötőhely a transzmembrán elektromos térben helyezkedik el [3]. A depolarizáció hatására időben növekvő áramért a kalcium fokozódó kötődése, a hiperpolarizáció hatására csökkenő áramért pedig a kalcium disszociációja felelős elsősorban. Erre a jelenségre a szakirodalomban az aktiváció és deaktiváció kifejezéseket használják [4]. A TMEM16 esetében az irodalomban bevezetik az inaktiváció fogalmát is, ez azonban jóval lassabb áram lecsengést jelöl a kb. 10-30 s időtartományban, általában magas (10 μM -nál nagyobb) $[\text{Ca}^{2+}]$ jelenlétében [5]. Az inaktiváció feltételezett oka a csatornához kötött kalmodulinon keresztül létrejövő szabályozás [6] vagy a csatorna foszforilációja [7]. Összefoglalva tehát, valószínűleg nem tévedtem, mikor a 20. ábra A panelen az áram deaktiválódását jelöltem, inaktiválódás helyett. A *Xenopus* petesejtekben csakúgy, mint a heterolog expressziós rendszerekben vizsgált TMEM16 esetén, nem jön létre az a gyors klorid áram inaktiváció, amelyet Magyar professzor és munkatársai kutya izolált szívizomsejteken megfigyeltek.

1. Schroeder, B. C., Cheng, T., Jan, Y. N., Jan, L. Y. (2008) Expression cloning of TMEM16A as a calcium-activated chloride channel subunit. *Cell* **134**, 1019-1029
2. Yu, K., Duran, C., Qu, Z., Cui, Y. Y., Hartzell, H. C. (2012) Explaining calcium-dependent gating of anoctamin-1 chloride channels requires a revised topology. *Circ Res* **110**, 990-999
3. Hawn, M. B., Akin, E., Hartzell, H. C., Greenwood, I. A., Leblanc, N. (2021) Molecular mechanisms of activation and regulation of ANO1-Encoded Ca^{2+} -Activated Cl^{-} channels. *Channels (Austin)* **15**, 569-603
4. Xiao, Q., Yu, K., Perez-Cornejo, P., Cui, Y., Arreola, J., Hartzell, H. C. (2011) Voltage- and calcium-dependent gating of TMEM16A/Ano1 chloride channels are physically coupled by the first intracellular loop. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 8891-8896
5. Vocke, K., Dauner, K., Hahn, A., Ulbrich, A., Broecker, J., Keller, S., Frings, S., Mohrlen, F. (2013) Calmodulin-dependent activation and inactivation of anoctamin calcium-gated chloride channels. *J Gen Physiol* **142**, 381-404
6. Yang, T., Hendrickson, W. A., Colecraft, H. M. (2014) Preassociated apocalmodulin mediates Ca^{2+} -dependent sensitization of activation and inactivation of TMEM16A/16B Ca^{2+} -gated Cl^{-} channels. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 18213-18218
7. Wang, Y. X., Kotlikoff, M. I. (1997) Inactivation of calcium-activated chloride channels in smooth muscle by calcium/calmodulin-dependent protein kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A* **94**, 14918-14923

Egy közel kétszáz oldal terjedelmű írásban szinte elkerülhetetlenül maradnak hibák. Azonban amennyiben lehetséges, mégis szeretném tisztelettel kérni a Bírálót, hogy az "értelmi hiba" megjegyzéstől tekintsen el a vitatott három ponttal kapcsolatban a munkám megítélése során.

Válaszaim az Opponens kérdéseire a következők:

1. **Kérdés:**

Megállapították, hogy a Kv8.2 mRNS nagy mennyiségben kifejeződik a retinaóban. Ez még nem jelenti azt, hogy a csatorna fehérje is jelen. Vizsgálták-e közvetlenül a csatornafehérjék expresszióját a retina sejtjein? Ismer-e olyan mikro-RNS-eket, amelyek befolyásolhatják a Kv8.2 mRNS kifejeződését?

Válasz: A Kv8.2 csatornafehérje jelenlétét nem vizsgáltuk a retina sejtjeiben. Azonban a közelmúltban, vizsgálatainkat több mint 10 évvel követően, két munkacsoport is megerősítette a Kv2.1 és Kv8.2 fehérjék koexpresszióját retina fotoreceptor sejtjeiben immunhisztológiai módszerekkel [8,9]. Két közleményünkben a Kv2.1/Kv8.2 heteromer csatornára vonatkozó funkcionális eredményeinket bekezdésenként többszöri (3-, illetve 8-szoros) hivatkozással idézik [8,10].

Nem ismerek olyan tudományos közleményt, amely a Kv8.2 (KCNV2 gén) expresszió mikro-RNS-ek általi poszttranszkripciós regulációját vizsgálná. A KCNV2 szekvenciával keresve, a miRDB (MicroRNA Target Prediction Database) 21 potenciális mikro-RNS listáját adja meg, azonban ez a predikció kísérletes igazolást kíván. Munkacsoportunkban mikro-RNS-ekkel kapcsolatos vizsgálatokat nem végeztünk.

8. Gayet-Primo, J., Yaeger, D. B., Khanjian, R. A., Puthussery, T. (2018) Heteromeric KV2/KV8.2 Channels Mediate Delayed Rectifier Potassium Currents in Primate Photoreceptors. *J Neurosci* **38**, 3414-3427
9. Jiang, X., Rashwan, R., Voigt, V., Nerbonne, J., Hunt, D. M., Carvalho, L. S. (2021) Molecular, Cellular and Functional Changes in the Retinas of Young Adult Mice Lacking the Voltage-Gated K(+) Channel Subunits Kv8.2 and K2.1. *Int J Mol Sci* **22**, 4877
10. Hart, N. S., Mountford, J. K., Voigt, V., Fuller-Carter, P., Barth, M., Nerbonne, J. M., Hunt, D. M., Carvalho, L. S. (2019) The Role of the Voltage-Gated Potassium Channel Proteins Kv8.2 and Kv2.1 in Vision and Retinal Disease: Insights from the Study of Mouse Gene Knock-Out Mutations. *eNeuro* **6**

2. **Kérdés:**

A 20. ábrán bemutatott kísérletben angiotenzin II jelenlétében mérte a *Xenopus* petesejten expresszált TRESK csatornák ionáramát és a kalcium aktivált klorid áramot. Az angiotenzin II milyen mértékű, kinetikájú kalciumválaszt idéz elő natív *Xenopus* petesejteken? A natív *Xenopus* petesejten milyen ionáramok mérhetőek, ezek mennyire befolyásolhatják a TRESK áramok mérését?

Válasz: A *Xenopus* petesejtek kalcium jeleinek kiterjedt irodalma van, ennek megfelelően mi nem is vizsgáltuk közvetlenül a citoplazma kalcium koncentráció változásait. A kalcium jelre közvetett módon következtettünk a hatására megjelenő kalcium-aktivált klorid áram alapján, ahogy az a 20. ábrán látható az értekezésben. Ez a megközelítés általánosan használt az irodalomban. Alacsony agonista koncentrációra sokszor oszcilláló kalcium-aktivált klorid áram választ kaptunk. Az értekezésben használt magas (pl. 10 nM angiotenzin II) hatására pedig kifejezett elnyújtott áram csúcsot, a Gq-fehérje kapcsolt receptorok ingerlésének *Xenopus* petesejtben kifejtett hatására vonatkozó irodalmi adatokkal jó összhangban [11]. Nem injektált petesejtben, a kalcium-aktivált klorid áram nagysága -100 mV-on általában több μ A-es. Meglepő módon, ennek ellenére a kalcium-aktivált klorid áram kevésbé befolyásolja a háttér K^+ -áramok mérését. A valószínű magyarázat, hogy a magas K_{2P} csatorna expressziót mutató sejtben a membránpotenciál napokig erősen negatív a mérés előtt, akár -90 mV körüli, emiatt a klorid egyensúlyi

potenciál eltolódik a negatív tartományba. Így -100 mV-on sokkal kisebb kalcium-aktivált klorid áram jelentkezik a K⁺-csatornákat kifejező, mint a nem injektált sejtekben, amelyekben a nyugalmi membránpotenciál inkább -20 mV-hoz közelebb. Az expresszált K⁺-áramhoz képest az egyéb endogén áramok hozzájárulása elhanyagolható -100 mV-on. Nem injektált sejtekben a bazális áram legtöbbször 50-200 nA (a 80 mM K⁺-ot tartalmazó extracelluláris oldatban), ennél a TRESK alapáram mintegy 10-szer, az aktivált csatorna árama akár 100-szor nagyobb.

11. Weiss, S., Doan, T., Bernstein, K. E., Dascal, N. (2004) Modulation of cardiac Ca²⁺ channel by Gq-activating neurotransmitters reconstituted in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* **279**, 12503-12510

3. **Kérdés:**

Mi lehet a magyarázata annak, hogy a sejtekbe injektált kalciumionok millimólos koncentrációja nem aktiválta a TRESK csatornákat, ugyanakkor, a mikromólos szabad kalcium szint változás, amit kalciummal telített EGTA pufferrel, vagy az M₁ receptorok stimulálásával ért el, hatékonyan növelte a TRESK áramot?

Válasz: Az injektált mM-os koncentrációjú kalcium hatástalansága elsősorban engem is meglepett. Erre a legvalószínűbb magyarázat, hogy a kalcium nem jut el az injektálás helyéről a plazmamembránhoz. A petesejtben ilyenkor a kalciumnak akár több száz μm-t kellene diffundálnia. A citoplazma nagy kalcium pufferkapacitása és a hatékony kalcium-eltávolítási mechanizmusok ezt megakadályozhatják. A szabad kalciumtól eltérően, az EGTA-kalcium komplexet sem a pufferelés, sem az eltávolítás nem befolyásolja, a plazmamembránhoz diffundálva helyben leadhatja a kalciumot. Az M₁ receptor ingerlésénél inozitol-triszfoszfát (IP₃) keletkezik, amely a plazmamembrán közelében lokális kalcium felszabadulást okozhat, vagyis a kalciumnak ebben az esetben sem kell messzire diffundálnia a citoplazmában. Az elképzelésnek megfelelően, ha IP₃-at mikroinjektáltunk, akkor az létrehozta a TRESK aktivációt, szemben a mM-os koncentrációjú Ca²⁺-mal.

4. **Kérdés:**

Kísérleteik során, a *Xenopus* petesejteken, expresszálták a TRESK csatornát és az AT_{1a} receptort vagy a TRESK csatornát és a M₁ receptort. Az ilyen körülmények között tapasztalt TRESK szabályozás mennyire hasonlíthat a natív sejtekben tapasztalható szabályozásra?

Válasz: A *Xenopus* petesejtben heterolog módon kifejezett receptorok sok esetben kiválóan együttműködnek a sejt saját jelátviteli mechanizmusaival. Mindazonáltal, kísérleteinkben nemcsak az expresszált M₁ muszkarinos és AT_{1a} angiotenzin receptoron keresztül aktiváltuk a TRESK csatornát, hanem a petesejt endogén, szintén Gq-fehérje kapcsolt lizofoszfátidsav (LPA) receptorain keresztül is. LPA-val hasonló K⁺-áram növekedést kaptunk, mint a túlexpresszált M₁ és AT_{1a} receptorokon keresztül. Ez azt sugallja, hogy endogén receptor ingerlésekor is létrejön a TRESK-et közel maximális mértékben aktiváló intracelluláris jelátvitel, ehhez a receptor túlexpresszálása nem szükséges.

Az általunk elsőként leírt kalcineurin-függő TRESK aktiváció mechanizmusa általános. A szabályozást más munkacsoportok nemcsak heterolog expressziós rendszerekben reprodukálták, hanem kimutatták hátsó gyöki ganglion primer szenzoros neuronokban pl. Gq-kapcsolt LPA receptor ingerlés hatására [12], nucleus suprachiasmaticus neuronokban [13] és újabban hippocampus CA3 piramisneuronokban is egér epilepszia modellben [14]. A közleményekben eredményeinket megfelelően idézik.

12. Kollert, S., Dombert, B., Doring, F., Wischmeyer, E. (2015) Activation of TRESK channels by the inflammatory mediator lysophosphatidic acid balances nociceptive signalling. *Sci Rep* **5**, 12548
13. Lalic, T., Steponenaite, A., Wei, L., Vasudevan, S. R., Mathie, A., Peirson, S. N., Lall, G. S., Cader, M. Z. (2020) TRESK is a key regulator of nocturnal suprachiasmatic nucleus dynamics and light adaptive responses. *Nat Commun* **11**, 4614
14. Huang, W., Ke, Y., Zhu, J., Liu, S., Cong, J., Ye, H., Guo, Y., Wang, K., Zhang, Z., Meng, W., Gao, T. M., Luhmann, H. J., Kilb, W., Chen, R. (2021) TRESK channel contributes to depolarization-induced shunting inhibition and modulates epileptic seizures. *Cell Rep* **36**, 109404

5. **Kérdés:**

Ismer-e olyan patológiás állapotot — a mutációkat kivéve — ami összeköthető a TRESK csatornák aktivitásának, vagy expresszójának a növekedésével, vagy csökkenésével? pl. a csípős ételek rendszeres fogyasztása okozhatja-e a TRESK/TREK csatornák aktivitásának a növekedését?

Válasz: Állatkísérletes modellben, a patkány nervus ischiadicus átmetszése csökkenti a TRESK expressziót az L4-L5 szegmentumhoz tartozó hátsógyöki ganglion primer szenzoros neuronokban és együtt jár a sejtek fokozott ingerlékenységével [15]. Hasonlóan leírták a TRESK expresszió csökkenését csont metasztázis egér modellben és felvetődött a csatorna hiányának szerepe az állapotra jellemző spontán fájdalom fenntartásában [16,17]. Ezek a kezdeti eredmények arra utalnak, hogy a TRESK kifejeződésének változásai hozzájárulhatnak patológiás folyamatokhoz, azonban a kérdés nyilvánvalóan további vizsgálatot igényel. Néhány hónappal ezelőtt írtak le a TRESK expresszióról egy izgalmas új hipotézist [14]. Eszerint, epilepszia modellben, a neuronok kórosan fokozott aktivitása a hippocampus területén növeli a TRESK kifejeződését, és a csatorna kalcium-aktivált hiperpolarizáló árama ellensúlyozza a kórfolyamattal járó hiperexcitabilitást. Érdekes kérdés, hogy ez a mechanizmus mennyire lehet általános és vajon kiterjeszhető-e pl. a migrén patomechanizmusában fontos CSD (cortical spreading depression) fokozott idegsejt ingerlékenységgel járó fázisára is.

A csatorna aktivitás patológiás vonatkozásairól kevesebb adat áll rendelkezésre, hiszen az expressziónál nehezebben vizsgálható kérdésről van szó. Korábban Kollert és munkatársai kimutatták, hogy nemcsak Gq-kapcsolt receptor ingerlés, hanem a TRPV1 csatorna működése is kiválthatja a TRESK aktivációját. Ilyenkor a kalcium a TRPV1 csatornán keresztül az extracelluláris térből áramlik a primer szenzoros neuron citoplazmájába és a calcineurin aktiválja a TRESK csatornát [12]. Ez az eredmény egybehangzó a Bíráló ötletes felvetésével, a TRPV1 csatornák aktivációja a csípős paprika kapszaicin hatóanyagával létrehozhat olyan kalcium jelet, amely TRESK aktivációhoz vezet. Kollert és munkatársai valóban használták is a kapszaicint a TRPV1 ingerlésére, azonban ezt *in vitro*, az izolált érzőneuronok sejttestjén alkalmazták. Egyelőre nyitott kérdés marad, hogy a csípős paprika fogyasztásakor hasonló módon aktiválódik-e a TRESK csatorna a szenzoros neuronok perifériás végződésében. Érdekes módon, a szechuáni bors csípős hatóanyaga, az α -sanshool, közvetlen TRESK-gátlást hoz létre és ez hozzájárulhat az erős paprikától eltérő bizsergetően csípős karakter kialakulásához [18].

12. Kollert, S., Dombert, B., Doring, F., Wischmeyer, E. (2015) Activation of TRESK channels by the inflammatory mediator lysophosphatidic acid balances nociceptive signalling. *Sci Rep* **5**, 12548
14. Huang, W., Ke, Y., Zhu, J., Liu, S., Cong, J., Ye, H., Guo, Y., Wang, K., Zhang, Z., Meng, W., Gao, T. M., Luhmann, H. J., Kilb, W., Chen, R. (2021) TRESK channel contributes to depolarization-induced shunting inhibition and modulates epileptic seizures. *Cell Rep* **36**, 109404

15. Tulleuda, A., Cokic, B., Callejo, G., Saiani, B., Serra, J., Gasull, X. (2011) TRESK channel contribution to nociceptive sensory neurons excitability: modulation by nerve injury. *Mol. Pain* **7**, 30
16. Yang, Y., Li, S., Jin, Z. R., Jing, H. B., Zhao, H. Y., Liu, B. H., Liang, Y. J., Liu, L. Y., Cai, J., Wan, Y., Xing, G. G. (2018) Decreased abundance of TRESK two-pore domain potassium channels in sensory neurons underlies the pain associated with bone metastasis. *Sci Signal* **11**, aao5150
17. Liu, J. P., Jing, H. B., Xi, K., Zhang, Z. X., Jin, Z. R., Cai, S. Q., Tian, Y., Cai, J., Xing, G. G. (2021) Contribution of TRESK two-pore domain potassium channel to bone cancer-induced spontaneous pain and evoked cutaneous pain in rats. *Mol Pain* **17**, 17448069211023230
18. Bautista, D. M., Sigal, Y. M., Milstein, A. D., Garrison, J. L., Zorn, J. A., Tsuruda, P. R., Nicoll, R. A., Julius, D. (2008) Pungent agents from Szechuan peppers excite sensory neurons by inhibiting two-pore potassium channels. *Nat. Neurosci* **11**, 772-779

6. Kérdés:

Minden eddig ismert TRESK mutáció összeköthető a migrén kialakulásával? A TRESK aktivitásának növelésével csökkenthető-e a migrén kialakulása, illetve növelhető-e a fájdalomküszöb? Mi erről a véleménye?

Válasz: Nem okoz minden TRESK mutáció migrént. A mutációk és a migrén kapcsolata meglehetősen összetett és a mai napig sem egészen tisztázott, több mint 10 év intenzív vizsgálat ellenére. Szubjektív felosztásom szerint három alapvető csoportba sorolhatjuk a mutációkat a migrén szempontjából. Az első csoportba a legkorábban leírt frameshift mutáció tartozik (F139WfsX24), ennek szerepe az aurával járó migrén kialakulásában mára egyértelműen megalapozott [19]. A mechanizmust részletesen vizsgálták, egyes vélemények szerint a mutáció következtében kialakuló alternatív transláció iniciáció (ATI) helyről kiinduló csonkolt TRESK termék felelős a TREK csatornák gátlásáért és ez a migrén oka [20]. Azonban mások szerint a TRESK-re kifejtett domináns negatív hatás is elegendő a migrén kialakulásához [21]. A második csoportba azt a közelmúltban leírt két mutációt (W101R és a két allélt érintő Y163D+S252L) sorolom, amelyek a migrén mellett mentális retardációval együtt fordultak elő [22-24]. Ezek közül az S252L mutáció az egyik általunk vizsgált szabályozó foszforilációs helyet károsítja, amelyet normálisan a protein kináz A (PKA) foszforilál és a TRESK 14-3-3-kötéséért felelős. A harmadik csoportba azokat a mutációkat osztályozom (pl. C110R vagy A34V), amelyek heterolog rendszerben ugyan a TRESK funkciójának lényeges vagy teljes hiányát eredményezik, de mégsem okoznak migrént [25]. Mai napig sem egészen világos, miért vált ki az egyik funkcióvesztő mutáció migrént, amíg a másik nem. (Természetesen számos TRESK áramot nem befolyásoló mutáció is ismert, ezeket nem vettem be a csoportosításba.) Valószínűnek tartom, hogy a különböző mutációk a TRESK csatorna valamely jelenleg még nem ismert funkcióját eltérően befolyásolják.

Az alap kutatási eredmények és állatkísérletes modellek tanúsága szerint minden feltétel adott ahhoz, hogy a TRESK aktivációja mérsékelje a migrén kialakulását vagy enyhítse a tüneteket. Azonban a Bíráló fontos gyakorlati kérdésének pontos megválaszolásához további célzott vizsgálatok szükségesek. Szükség lenne egy alacsony koncentrációban is hatékony, szelektív TRESK aktiválószer kifejlesztésére, és ennek tesztelésére állatkísérletes, majd humán vizsgálatokban. Csak ezen eredmények alapján állapítható meg tudományos igényességgel, hogy a TRESK aktiválásával lehet-e a migrént gyógyítani.

19. Lafreniere, R. G., Cader, M. Z., Poulin, J. F., Andres-Enguix, I., Simoneau, M., Gupta, N., Boisvert, K., Lafreniere, F., McLaughlan, S., Dube, M. P., Marcinkiewicz, M. M., Ramagopalan, S., Ansorge, O., Brais, B., Sequeiros, J., Pereira-Monteiro, J. M., Griffiths, L. R., Tucker, S. J.,

- Ebers, G., Rouleau, G. A. (2010) A dominant-negative mutation in the TRESK potassium channel is linked to familial migraine with aura. *Nat. Med* **16**, 1157-1160
20. Royal, P., Andres-Bilbe, A., Avalos Prado, P., Verkest, C., Wdziekonski, B., Schaub, S., Baron, A., Lesage, F., Gasull, X., Levitz, J., Sandoz, G. (2019) Migraine-Associated TRESK Mutations Increase Neuronal Excitability through Alternative Translation Initiation and Inhibition of TREK. *Neuron* **101**, 232-245 e236
21. Pettingill, P., Weir, G. A., Wei, T., Wu, Y., Flower, G., Lalic, T., Handel, A., Duggal, G., Chintawar, S., Cheung, J., Arunasalam, K., Couper, E., Haupt, L. M., Griffiths, L. R., Bassett, A., Cowley, S. A., Cader, M. Z. (2019) A causal role for TRESK loss of function in migraine mechanisms. *Brain* **142**, 3852-3867
22. Han, J. Y., Jang, J. H., Park, J., Lee, I. G. (2018) Targeted Next-Generation Sequencing of Korean Patients With Developmental Delay and/or Intellectual Disability. *Front Pediatr* **6**, 391
23. Imbrici, P., Nematian-Ardestani, E., Hasan, S., Pessia, M., Tucker, S. J., D'Adamo, M. C. (2020) Altered functional properties of a missense variant in the TRESK K(+) channel (KCNK18) associated with migraine and intellectual disability. *Pflugers Arch* **472**, 923-930
24. Pavinato, L., Nematian-Ardestani, E., Zonta, A., De Rubeis, S., Buxbaum, J., Mancini, C., Bruselles, A., Tartaglia, M., Pessia, M., Tucker, S. J., D'Adamo, M. C., Brusco, A. (2021) Biallelic Variants Associated with Intellectual Disability and Neurodevelopmental Disorders Alter TRESK Channel Activity. *Int J Mol Sci* **22**, 6064
25. Guo, Z., Liu, P., Ren, F., Cao, Y. Q. (2014) Nonmigraine-associated TRESK K+ channel variant C110R does not increase the excitability of trigeminal ganglion neurons. *J Neurophysiol* **112**, 568-579

Végezetül szeretném még egyszer megköszönni Prof. Magyar Jánosnak az értekezésem bírálatára fordított időt és energiát, és kérem szépen a kérdésekre adott válaszaim elfogadását.

Budapest, 2021. 12. 22.



Dr. Czirják Gábor
egyetemi docens
Semmelweis Egyetem, Élettani Intézet