



SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Intézetigazgató
Dr. Alpár Alán
egyetemi tanár

Bírálat

Dénes Ádám, MTA doktori mű

Dénes Ádám doktori műve a mikroglia egészségben és kóros elváltozásokban betöltött szerepét vizsgálja. A szerző akkor kezdte el vizsgálódásait a témában, amikor ezen sejtes elemek szerepéről keveset tudtunk; eredményei mindazóta nemcsak a felfedező kutatást szolgálják, de a klinikai alkalmazást is segítik. A műben említett eredmények nem fedik le a jelölt teljes munkásságát. Utóbbi egy alapos, logikusan építkező, masszív eredményeken alapuló tevékenységet fed le, melyben induló témavezetőből egy tehetséggel teli, kiválóan és nagy odafigyeléssel gondozott labor vezetőjét, a téma vezető nemzetközi szakértőjét ismerjük fel. A szerző tudományometriai adatai messze felülmúlják az MTA doktori mű elfogadásához szükséges feltételeket.

Jelölt a társadalmi teherré kinőtt krónikus neurodegeneratív betegségekre összpontosít azzal a hitvallással, hogy a sérülés mechanizmusának célpontként való megjelölése önmagában elégtelen. Az immunrendszer és központi idegrendszer kölcsönhatását vizsgálja, az idegrendszer működését ennek tükrében értelmezi. A különböző gliasejtek funkciójának megértésével kapcsolatban számtalan ismeret felgyűlt; az immunsejtként nyilvántartott mikroglia védekezésben és homeostasisban betöltött szerepén túl – melyek változása neurodegeneratív betegségeknél tükröződik vissza -, ugyanakkor keveset tudtunk. A bevezető alaposan tárgyalja előbbi ismeretanyagokat, bemutatva a mikroglia sejtek fenotípusban is megmutatkozó heterogenitását, dinamikus funkciófüggő átalakulását. Felvezeti, hogyan idézheti elő maga a mikroglia az idegszövet károsodását gyulladásban, illetve a fejlődésben az idegszövet átrendezését (így pl. dendrittüskék számának csökkentése) élettani jelenségként; mindezen folyamatok kiváltójaként immunfolyamatokat és releváns molekulákat/rendszereket (így pl. komplementeket, interleukinokat) jelöl meg. Részletezi mindazon ismereteket, melyek a mikroglia és azok funkciójának kísérletes és klinikai megváltoztatására irányulnak, a releváns sejtszintű/receptorális mechanizmusokat, a sejtek betegségben és kezeléseknél jelentkező sérülékenységét és azok okait. Külön felhívja a figyelmet és ismerteti a rendszerszintű gyulladás központi idegrendszerre tett

Cím: 1094 Budapest, Tűzoltó utca 58.

Postacím: 1085 Budapest, Üllői út. 26.; 1428 Budapest, Pf. 2.

E-mail: titkarsag.ana@med.semmelweis-univ.hu

Tel.: (06-1) 459-1500/53600

semmelweis.hu/anatomia





SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Intézetigazgató

Dr. Alpár Alán
egyetemi tanár

hatását, bemutatja a legfontosabb mikrogliahoz kapcsolható molekuláris és sejtszintű mechanizmusokat, beleértve az epigenetikai változásokat. Kiemeli ugyanakkor, hogy a felhalmozódott tudás ellenére nem ismerjük, mely rendszerszintű gyulladásos változás indítja el az idegszövet bántalmát. A megértést a bevezetőben több szemléltető ábra segíti. A mű több mint 200 hivatkozást tartalmaz, köztük a közelmúltban megjelentek közleményeket is.

A célok megjelölése világos. Több mint 20 év munkájával, a legmodernebb eszközöket és módszereket használva (i) azonosítja a mikroglia beavatkozási pontjait/mechanizmusait gyulladásban, (ii) megvizsgálja, hogyan hat a rendszerszintű gyulladás a mikroglia működésére, végül (iii) legújabb eredményeit ismerteti, ahol a mikroglia és a neuron közötti kapcsolatot részletezi, melyben az egészséges illetve beteg idegrendszeri működés lehetséges okát jelöli meg.

Az eredmények fejezet ennek megfelelően három nagyobb egységből áll, melyek döntően első- és utolsószerzős közleményeken alapulnak. Valamennyi közlemény vezető szaklapban jelent meg, több ezek közül a legkiválóbbakban (Science, Nat Comm, PNAS, Acta Neuropathologica). Az eredmények fejezet ábrákat nem tartalmaz, azokat a közleményekben találjuk, melyeket az egybefűzött mű részeként megtalálunk. Az eredmények leírása a műben tömör, érthető, lényegre törő. Általában megállapítható, hogy egyszerű s egyúttal elemi fontosságú, jól definiálható kérdéscsoportokra ötletesen használ fel bármiféle eszközt, ami kérdését igényesen és biztonsággal megválaszolhatja. Az olvasó benyomása az, hogy könnyedén épülnek egymásra az eredmények, melyek mögött ugyanakkor gondosan megtervezett munka, széles eszköztár bevonása és megszervezése áll.

Megállapítja, hogy a vérellátás elégtelensége okozta agyszövet károsodásakor mikroglialis reakció már a peripherias macrophagok betörése előtt kimutatható, mely a sejtnyúlványok morfológiájának és több marker expressziójának megváltozásában manifesztálódik. Bizonyítja, hogy a szaporodó mikroglia neutrophil granulocytákat phagocytálnak, hogy az immunsejt-mediálta választ fékezze. Azonosítja a legkorábbi sejtválaszt kiváltó gyulladásos történéseket/faktorokat, a különböző IL-1 isoformák szintjén elemzi az időbeli történéseket. A proinflammatorikus faktorok szerepét vizsgálva megállapítja, hogy a véragygyáton áttörő serumfehérjék az agyszövet károsodása okán felszabaduló molekulákkal (DAMPs) a mikroglia aktivatio fontos okozói. Csontvelőtranszplantációt, kísérletes infarktust is alkalmazva vizsgálja az

Cím: 1094 Budapest, Tűzoltó utca 58.

Postacím: 1085 Budapest, Üllői út. 26.; 1428 Budapest, Pf. 2.

E-mail: titkarsag.ana@med.semmelweis-univ.hu

Tel.: (06-1) 459-1500/53600

semmelweis.hu/anatomia





SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Intézetigazgató

Dr. Alpár Alán
egyetemi tanár

IL-1 (vér illetve agyi mikroglialis) forrását, neurogenetikai módszereket alkalmaz, hogy megértse a hatás mechanizmusát és (neuronális és vascularis) helyét, majd azonosítja az aktivált sejtspecifikus mechanizmusokat, különös tekintettel az IL-1 függő leukocita recrutatoria. Új transzgenicus egértörzset hozott létre (már meglévő transzgenicus törzsek keresztezésével), hogy a membránvezetési (conductantia) tulajdonság megváltozását előidéző NKCC1 co-transporter nyúlvány morfológiában betöltött szerepét gyulladásban vizsgálhassa.

Ugyancsak a mikroglia szerepét veszi górcső alá, amikor a rendszerszintű gyulladás okozta központi idegrendszeri gyulladást és annak következményét vizsgálja. Parazita fertőzéssel – majd más módszerrel is - indukált rendszerszintű gyulladásban vizsgálja a kísérletes infarktus okozta gyulladás során fellépő mechanizmusokat. Megállapítja, hogy a megelőző rendszerszintű gyulladás a perifériás szerveken túl az agyvelőben is számos gyulladásos faktor (így CXCL-1, IL-6, G-CSF) megemelkedését okozza, melyet az IL-1 indukál. Kimutatja, hogy a megelőző rendszerszintű gyulladás agyi infarktus után agyi oedema kialakulásának nagyobb kockázatával jár, függetlenül attól, ha más mechanizmussal (így hypothermia) a focalis agyi károsodást csökkentik. A következőkben megvizsgálja, milyen immunfolyamatokat képes elindítani az idegszövet károsodása aktivált mikroglia a periférián. Kimutatja, hogy agyi infarktus után a keringésben és a csontvelőben rövid latenciával mérhető elváltozások lépnek fel; a megnövekedett CXCL-1 és G-CSF, kulcsfontosságú citokin, expressziót egy specifikus (CXCR-2⁺) granulocita szaporulat tükrében vizsgálja. Kimutatja, hogy utóbbi jelenséget/rendszerszintű gyulladást az aneesthesia és a sebészi beavatkozás egyaránt befolyásolja. Kiemeli, hogy az agyi történés okozta autonóm idegrendszeri activatio során a bélcsatornában a microbiota összetétel – az activatio mértékével arányosan – megváltozik, és leírja ennek neuroanatómiai hátterét. További szervi elváltozások (pneumonia, ileus) hátterében a célra kifejlesztett SPECT módszerekkel bizonyít kritikus folyamatokat, így perfusios és vér-agy-gát elváltozásokat. Összességében megállapítja, hogy a neuroimmun folyamatok hátterében a mikroglia kritikus szerepet tölt be, annak kiváltásában és közvetítésében egyaránt.

A mű harmadik nagy egységében a szerző a mikroglia-neuron kapcsolatot, annak agyi történésben és sejtaktivitásban betöltött szerepét a kompartment szintjén elemzi. A mikroglia dysfunctiot specifikus genetikai törzsből (CX3CR1 KO egér) szelektíven vizsgálva megállapítja, hogy

Cím: 1094 Budapest, Tűzoltó utca 58.

Postacím: 1085 Budapest, Üllői út. 26.; 1428 Budapest, Pf. 2.

E-mail: titkarsag.ana@med.semmelweis-univ.hu

Tel.: (06-1) 459-1500/53600

semmelweis.hu/anatomia





SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Intézetigazgató
Dr. Alpár Alán
egyetemi tanár

a mikroglia idegsejtekre kifejtett hatása nem vizsgálható az adott kórélettani folyamatától függetlenül. Elsőként alkalmazott CSF1R inhibitorokat, hogy a mikroglia akut agyi történésben betöltött szerepét szelektíven vizsgálhassa; megállapítja, hogy a mikroglia kiiktatása jelentősen növeli a károsodás mértékét. Rendkívül igényes *in vivo* funkcionális képalkotással bizonyítja, hogy a mikroglia nyúlványokon keresztül kialakított mikroglia-neuron kapcsolat, annak dinamizmusának hiánya kórosan befolyásolja az idegsejt hálózatok aktivitási mintázatát. Az érintett, de még életképes neuron a penumbra zónában rászorul a mikroglia kapcsolatra, mely repetitív módon, a neuron testén keresztül – a synapsisoktól távol – dinamikus alakuló mikroglia nyúlványokon keresztül valósul meg. *In vitro* expressziós kísérletekkel, molekuláris szinten bizonyítja, hogy a kapcsolat a somaticus exocytosis szolgáló Kv2.1 és Kv2.2 csatorna cluster helyén jön létre. Superresolútiós és elektronmikroszkópos, valamint *ex vivo* és *in vivo* vizsgálatokkal igazolja, hogy ez a *locus* a purinerg (P2Y12R) jelátvitel specifikus helye. Megállapítja, hogy a penumbra sérült, de életképes idegsejtjeiben a kritikus *locus* körül a mitokondriumok fragmentálódnak, a Kv2.1 fehérjék a clusterből disszociálódnak, a mikroglia P2Y12-közvetített gátlása pedig az agyszövet károsodását fokozza. A mikroglia-idegsejt kapcsolat utóbbi funkciójának, aktivitásának, „egészségének” függvényében alapul, a szerző pedig további vizsgálatokkal (spreading depolarization) igazolja, hogy annak kialakulása/változása nemcsak akut agyi történésben, hanem pl. migrénben és további központi idegrendszeri kóros állapotban is jelentős. A P2Y12R-dependens folyamat nemcsak az életképes idegsejtek támogatásában, de a már nem megmenthető idegsejtek eliminációjában is szerepet játszik, így vírus fertőzésben, mely a fertőzés terjedését akadályozza meg. Ezzel kapcsolatban a szerző emberi *post mortem* mintán is megfigyeléseket tesz. További igényes kísérletekkel, széles eszköztárat használva igazolja, hogy a mikroglia közvetlen purinerg kapcsolaton keresztül képes az agyi véráramlást befolyásolni, elérve az endothel, az astrocyta, a pericyta és simaizomsejteket is.

A szerző nem diszkusszió, hanem konklúzióval zárja művét, mely részletesen, ábrákat is tartalmazva taglalja munkásságának jelentőségét. Tudatosan csoportosította tudományos munkáját a neuroinflammatio témája köré, melynek ösztönzőjét az eddigi neurodegeneratív betegségek és agyi laesiók ellen tett kutatások más, a gyulladások folyamatokat figyelmen kívül hagyó vagy hibásan/hiányosan/ rossz targetet megjelölő megközelítésében, így következményes



SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Intézetigazgató
Dr. Alpár Alán
egyetemi tanár

kudarcában jelöli meg. A mikroglia összehangoló (integráló) és befolyásoló (moduláló) szerepét felfedve új therapias reményt támaszt, melyet a közelmúlt és jelen GWAS és snRNA szekvenálási adatai is támogatnak. A mikroglia aktivitása a neurodegeneratív, ischaemias és epilepticus kórképek legkorábbi elváltozása, jóval a korábban klasszikusan fel- és elismert fehérje elváltozások/lerakódások előtt fellép, melyet a modern képalkotás a klinikai beteganyagon nemcsak bizonyít, de prediktorként megbízhatóan használ is. Kísérleteiben a mikroglia helyi és rendszerszintű gyulladásban betöltött szerepét, reaktivitását bizonyítva komplex, de elemeire bontott és vizsgálható/befolyásolható neuroanatomiai és molekuláris támadáspontokat azonosított a szerző. Kitekintésében felhívja a figyelmet arra, hogy az úttörő megfigyelések, a purinerg transzmisszió szerepének és kompartmentalizációnak azonosítása ellenére sok a még bizonyítandó és vizsgálandó pont, melyet a mikroglia többféle cellularis kapcsolata okoz. Öregedéssel ezen mikroglia-neuron/endothel/simaizomsejt/astrocyta/pericyta sejtek kapcsolatok funkciója különbözőképp válhatnak elégtelenné, ezen reakcióutak megértését a szerző kritikus lépésként jelöli meg az elkövetkezendő kutatásokban.

Dénes Ádám tudományos munkássága kiemelkedő, a jövőt nézve is ígéretes. Kiváló kutató, ragyogóan szervezi a felnövő tudományos közösséget, utánpótlást.

Kérdések

A szerző bemutatja, honnan származnak egérben a mikroglia sejtek. Honnan származnak emberben a mikroglia?

Miért fordulnak elő eltérő számban mikroglia sejtek a különböző agyi területeken? Kolonizációs kérdés ez, vagy későbbi változás? Megfigyelhető-e ennek kapcsán az agyi területek különböző sérülékenysége/reaktivitása sérülésben?

A rendszerszintű gyulladás káros, általánosan súlyosbító hatása idegrendszeri sérülésben (így agyi infarctusban) különösen fontos, egyszersmind aggasztó megfigyelés. Mit tudunk a nosocomialis infekciók hatásáról infarctus után? Történt-e erre irányuló kísérlet, klinikai megfigyelés, molekuláris szintű vizsgálat/elemzés, hosszútávú követés (longitudinal study)?

A CX3CR1 KO egér megteremti a lehetőséget, hogy a mikroglia dysfunctiót a szerző szelektíven



SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar
Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Intézetigazgató

Dr. Alpár Alán
egyetemi tanár

vizsgálja. Legtöbb esetben full KO állapotban alternatív kompenzatoros folyamatok lépnek fel, melyek a funkciót, ha csökkent szinten is, betölteni képesek. Nem zavarta a kísérletet itt ez a jelenség?

Bizonyították-e a szerzők az adott kísérletben, hogy a mikroglia-neuron kapcsolatban a Kv2.1 és Kv2.2 csatorna clusterek helyén az ADP ligand forrása a neuronális ATP, vagy itt irodalmi adatokra támaszkodnak? Lehetséges-e más ligand szerepe a folyamatban? Milyen klinikai beavatkozási lehetőséget lát a szerző ezen a ponton?

A szerző munkáiban kitér a mikroglia vírusfertőzésben betöltött szerepére, valamint arra, hogy a CIVOD-19 fertőzéssel kapcsolatban is tett vizsgálatokat. Amennyiben megosztható, milyen eredményeket/perspektívát tud bemutatni ebben az irányban?

Kelt Budapesten, 2023. április 17.