

Először is nagy tisztelettel szeretném köszönetemet kifejezni Professor Úr alapos munkájáért és a részletes értékelő véleményéért!

Kérdéseit illetően az alábbi válaszokat adom:

1. „Az ismertetett neuronális és neurohumoralis stressz utak mellett a volume transmissioval közvetített lehetőségek egyre nagyobb figyelmet kapnak. Jelölt eredményei összefüggésbe hozhatók-e ilyen mechanizmusokkal?”

Válasz:

A volume transmission alatt ma összefoglalóan olyan mechanizmusok összességét értjük, amelyben a klasszikus szinaptikus jelátvitelnél jóval kevésbé helyspecifikus módon történik kémiai hírvivők útján kommunikáció pl. az extracelluláris mátrixon, a perivaszkuláris terekben vagy a liquor útján. Neuropeptiderg rendszerekben gondolkodva, ez a célsejtek felszínén, de nem a posztzinaptikus denzitások területén lokalizált receptorok, elsősorban G protein kapcsolt receptorok jelenlétét feltételezi, szemben a szinaptikus jelátvitelben nagyobb szereppel bíró ioncsatorna receptorokkal. Professor úr felvetését olvasva eszembe jutott nemrégiben megjelent közleménye (Alpár és mtsai. 2018), ahol a paraventricularis mag (PVN) corticotropin releasing hormon (CRH) tartalmú sejtjeinek a harmadik kamra ependyma sejtjeiből induló ciliáris növekedési faktor felszabadításán és a liquoron keresztül zajló volume transzmisszió alapuló jelátvitelét írták le a locus ceruleus területén. Az ott leírt jelenség a mi munkánk során alkalmazott akut stressz modellekben lejátszódhatott a PVN-CRH rendszereiben. Mi a munkánk során azonban nem vizsgáltuk a volume transmission-t, így ezt a lehőséget sem.

A munka másik fő területen, a centrális projekciójú Edinger-Westphal mag (EWcp) vizsgálata kapcsán e machanizmust kevésbé tartom valószínűnek, mert nem láttunk UCN1 tartalmú rostokat, amelyek az emendymát megközelítették volna az aqueductus cerebri mentén. Ezen kívül, sem az elérhető publikus adatbázisok, mint az Allen mouse brain atlas (Lein és mtsai. 2007) sem professor úr (Zahola és mtsai. 2019) közleménye nem utal arra, hogy secretagodin lenne jelen az EWcp idegsejtjeiben.

A kérdésre adott válaszom mégis az, hogy közvetett adatok alapján összefüggésbe hozhatók eredményeink a volume transmission jelenségével. Egy a kutatási területünk régiójában leírt lehetséges példát szeretnék erre felhozni, mely önmagában is egy meglehetősen komplex szabályozási mechanizmust sejtet, melyben a receptorok hozzáférhetősége is szerepet játszik.

A CRH rendszerek kapcsán Waselus és munkatársai (2009) mutatták ki, hogy a CRH receptorok eloszlása a nucleus raphe dorsalis (DR) szerotonin neuronjaiban szabályozott. Kontroll körülmények között a CRH1-es típusú receptor van a sejtmembránban, tehát elérhető a ligandumok számára. A CRH2-es típusú receptor ezzel ellentétben ekkor citoplazmatikus elhelyezkedést mutat. Stresszexpozíciót követően a receptorok eloszlása ezzel ellentétes lesz, vagyis a CRH2 receptor válik elérhetővé a membránban. A szerzők immun elektronmikroszkópiával is kimutatták a receptorok eloszlását, és jól látható, hogy a receptorok eloszlása nem korlátozódik a membránban a szinaptikus területekre. Mások, és saját megfigyeléseink is alátámasztják, hogy CRH és UCN1 tartalmú axon terminálisok is

megtalálhatók a DR mag területén. Az UCN1 tartalmú axonok esetében saját megfigyeléseink is alátámasztják azt, hogy fénymikroszkópos szinten gyakran varikózus megjelenésűek. Elektronmikroszkópos vizsgálatok lennének szükségesek annak bizonyítására, hogy vannak-e olyan neuropeptid tartalmú vezikulumok ezekben varikozitásokban, amelyekből esetleg nem szinaptikus release történhet, és hogy vannak-e CRH receptort hordozó sejtmembrán elemek a közelben. Mivel azonban ismert, hogy a DR területébe injektált UCN1-nek az ide injektált CRH-val ellentétben van hatása (Turek és Ryabinin, 2005), azt feltételezzük, hogy az UCN1 hatása legalább részben a szinaptikus résen kívül elhelyezkedő CRH2 receptorokon is végbe mehet.

Idézett irodalom:

Alpár A, Zahola P, Hanics J, Hevesi Z, Korchynska S, Benevento M, Pifl C, Zachar G, Perugini J, Severi I, Leitgeb P, Bakker J, Miklosi AG, Tretiakov E, Keimpema E, Arque G, Tasan RO, Sperk G, Malenczyk K, Máté Z, Erdélyi F, Szabó G, Lubec G, Palkovits M, Giordano A, Hökfelt TG, Romanov RA, Horvath TL, Harkany T. Hypothalamic CNTF volume transmission shapes cortical noradrenergic excitability upon acute stress. *EMBO J.* 2018 Nov 2;37(21):e100087. doi: 10.15252/embj.2018100087. Epub 2018 Sep 12. PMID: 30209240; PMCID: PMC6213283.

Lein ES, Hawrylycz MJ, Ao N, Ayres M, Bensinger A, Bernard A, Boe AF, Boguski MS, Brockway KS, Byrnes EJ, Chen L, Chen L, Chen TM, Chin MC, Chong J, Crook BE, Czaplinska A, et al. Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature.* 2007 Jan 11;445(7124):168-76. doi: 10.1038/nature05453. Epub 2006 Dec 6. PMID: 17151600.

Turek VF, Ryabinin AE. Ethanol versus lipopolysaccharide-induced hypothermia: involvement of urocortin. *Neuroscience.* 2005;133(4):1021-8. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.03.037. PMID: 15964490.

Zahola P, Hanics J, Pintér A, Máté Z, Gáspárdy A, Hevesi Z, Echevarria D, Adori C, Barde S, Töröcsik B, Erdélyi F, Szabó G, Wagner L, Kovacs GG, Hökfelt T, Harkany T, Alpár A. Secretagogin expression in the vertebrate brainstem with focus on the noradrenergic system and implications for Alzheimer's disease. *Brain Struct Funct.* 2019 Jul;224(6):2061-2078. doi: 10.1007/s00429-019-01886-w. Epub 2019 May 29. PMID: 31144035; PMCID: PMC6591208.

Waselus M, Nazzaro C, Valentino RJ, Van Bockstaele EJ. Stress-induced redistribution of corticotropin-releasing factor receptor subtypes in the dorsal raphe nucleus. *Biol Psychiatry.* 2009 Jul 1;66(1):76-83. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.02.014. Epub 2009 Apr 11. PMID: 19362706; PMCID: PMC2728006.

2. A vizsgálatok csak hím egyedeken történtek. Van-e adat arra nézve, hogy nőstények stressz adaptációs válaszai kifejezetten a vizsgált rendszerben a hímektől eltérően alakulnának? A vizsgált területek receptor mintázata eltér-e hímekben és nőstényekben?

Válasz:

Professzor úr kérdésében nem utalt arra, hogy melyik stresszadaptációval foglalkozó kísérleti modellünk esetében, melyik agyterülettel és melyik vizsgált peptiderg rendszer receptoraival kapcsolatban merült fel ez a kérdés. Az összes stresszmodellben minden vizsgált agyterületre

és tanulmányozott peptiderg rendszerre valamint ezek receptorára illetve receptoraira vonatkozóan erre a kérdésre részletes választ adni nagyon összetett és hosszadalmas lenne. A választ ezért az EWcp-t illetően adom meg, mert itt a kérdést munkacsoportunk is vizsgálta, és van rá saját adatunk. A legfőbb CRH rendszereket illetően néhány irodalmi adatot mutatok be ezzel kapcsolatban.

Vizsgálataink során valóban a hím állatokkal dolgoztunk. Ennek oka elsősorban az a megfigyelésünk volt, hogy ösztrogén béta receptorokat (ERb) találtunk az Edinger-Westphal mag peptiderg idegsejtjeiben (Derks és mtsai. 2007). Az *Erb* mRNS kifejeződése jelentős nemi különbséget mutatott patkányban (Derks és mtsai. 2010), másrészt, felmerült annak a lehetősége is, hogy az ösztrogénszint ciklikus változásai nőstény állatoknál befolyásolhatják a mag működését. A nemi különbségeket illetően az EWcp-ban humán szövetminták vizsgálata is alátámasztja, mivel öngyilkos férfiak mintáiban 11-szer több *UCN1* mRNS-t találtunk, mind szuicid nők mintáiban (Kozicz és mtsai. 2008). Vizsgálataink során azt találtuk, hogy hím patkányokban a diösztrusz fázisban leölt nőstényekénél ötször magasabb *Ucn1* mRNS expresszió jellemző. Amikor a nőstényekben vizsgáltuk a mag működését a ciklus fázisaiban, azt figyeltük meg, hogy az *Ucn1* mRNS kifejeződése csökken diösztruszban a proösztruszhoz képest (Derks és mtsai. 2010). Ezekben a tesztekben az állatok ciklusfázisát egyetlen hüvelykenet mintavétel alapján határoztuk meg *post mortem*, hogy az állatokat ne tegyük ki akut stressznek, melyre a mag különösen érzékeny. Mivel a mag működése kontroll körülmények között is ilyen jelentős ciklusfüggést mutatott, azt feltételeztük, hogy a stresszexpozió során is eltérő reakciókat várhatunk. Ennek vizsgálatára technikai megfontolások miatt végül nem került sor. E döntésünk egyik szempontja az volt, hogy ahhoz, hogy egyenlő elemszámú csoportokat alakítsunk ki a ciklusfázis szerint, igen sok állat bevonására és ciklusfázis monitorozására lett volna szükség hüvelykenet készítés útján, melyre az állatházi kapacitás korlátai miatt nem voltunk felkészülve. Másrészt, a kenetkészítés az állat számára legalább egy alkalommal akut stresszt jelent, ami a mag működésében mélyreható változást okoz, és nehéz lett volna az akut stressz hatását, a ciklusfázis hatását, esetleg a kettő interakcióját megfelelő kontrollok hiányában elkülöníteni. Mivel patkányok esetében 4 és 5 napos ciklusú állatok is előfordulnak, a fázisok vizsgálatát úgy kell elvégezni, hogy az legalább két ciklust végig kövessen. Ez már egy krónikus stresszhatást is jelent egyben, melyhez az állatok egyénileg változó mértékben adaptálódhatnak. Felmerült a kérdés, hogy a nemi különbségeket vizsgáljuk a krónikus stresszmodellek kapcsán is, de végül ezekben a modellekben is lemondunk a nőstény egyedek vizsgálatáról, mert a krónikus stresszexpozió gyakran az ösztruszciklus zavarát, vagy megszűnését okozza (Casillas és mtsai. 2021).

Egészen röviden említem meg, mivel mi ezt nem vizsgáltuk, de a CRH rendszerek kapcsán jól ismert, hogy a nemi hormonok receptorai megtalálhatók a PVN területén, melyek nemi különbségeket és életkorfüggő változásokat mutatnak (Lagunas és mtsai. 2019, Contoreggi és mtsai. 2021). Az androgén receptorok hím állatokban a nucleus interstitialis striae terminalis (BNST) és nucleus centralis amygdalae (CeA) területén fejeződik ki nagyobb mértékben CRH neuronokban. Az ösztrogén alfa receptoráról pedig tudjuk, hogy hím állatok CRH neuronjaiban mind a PVN, mind a BNST területén nagyobb mennyiségben van jelen, mint nőstényekben (Rybka et al 2023). A receptorok jelenléte alapján tehát arra következtethetünk, hogy a nemi hormonok közvetlenül befolyásolhatják azokat az idegsejteket, amelyeknek szerepe van a stresszadaptációban. Mindazonáltal, a fenti néhány vizsgálatunk során, ahol nőstény állatokkal dolgoztunk, azt tapasztaltuk, hogy a vizsgált rendszerek nagyon érzékenyek a hormonális

változásokra. Ez nagy szórást eredményez, ami tovább emeli a vizsgálatokhoz szükséges elemszámot, ami a ciklusfázisokra tekintettel eleve legalább négyszeres.

Idézett irodalom:

Casillas F, Betancourt M, Juárez-Rojas L, Ducolomb Y, López A, Ávila-Quintero A, Zamora J, Ommati MM, Retana-Márquez S. Chronic Stress Detrimentally Affects In Vivo Maturation in Rat Oocytes and Oocyte Viability at All Phases of the Estrous Cycle. *Animals (Basel)*. 2021 Aug 24;11(9):2478. doi: 10.3390/ani11092478. PMID: 34573444; PMCID: PMC8465826.

Contoreggi NH, Mazid S, Goldstein LB, Park J, Ovalles AC, Waters EM, Glass MJ, Milner TA. Sex and age influence gonadal steroid hormone receptor distributions relative to estrogen receptor β -containing neurons in the mouse hypothalamic paraventricular nucleus. *J Comp Neurol*. 2021 Jun;529(9):2283-2310. doi: 10.1002/cne.25093. Epub 2021 Jan 14. PMID: 33341960; PMCID: PMC8053678.

Derks NM, Gaszner B, Roubos EW, Kozicz LT. Sex differences in urocortin 1 dynamics in the non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus of the rat. *Neurosci Res*. 2010 Jan;66(1):117-23. doi: 10.1016/j.neures.2009.10.003. Epub 2009 Oct 13. PMID: 19833156.

Derks NM, Roubos EW, Kozicz T. Presence of estrogen receptor beta in urocortin 1-neurons in the mouse non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus. *Gen Comp Endocrinol*. 2007 Aug-Sep;153(1-3):228-34. doi: 10.1016/j.ygcen.2007.04.009. Epub 2007 Apr 10. PMID: 17632108.

Kozicz T, Tilburg-Ouwens D, Faludi G, Palkovits M, Roubos E. Gender-related urocortin 1 and brain-derived neurotrophic factor expression in the adult human midbrain of suicide victims with major depression. *Neuroscience*. 2008 Apr 9;152(4):1015-23. doi: 10.1016/j.neuroscience.2007.12.050. Epub 2008 Jan 18. PMID: 18329817.

Lagunas N, Marraudino M, de Amorim M, Pinos H, Collado P, Panzica G, Garcia-Segura LM, Grassi D. Estrogen receptor beta and G protein-coupled estrogen receptor 1 are involved in the acute estrogenic regulation of arginine-vasopressin immunoreactive levels in the supraoptic and paraventricular hypothalamic nuclei of female rats. *Brain Res*. 2019 Jun 1;1712:93-100. doi: 10.1016/j.brainres.2019.02.002. Epub 2019 Feb 4. PMID: 30731078.

Rybka KA, Lafrican JJ, Rosinger ZJ, Ariyibi DO, Brooks MR, Jacobskind JS, Zuloaga DG. Sex differences in androgen receptor, estrogen receptor alpha, and c-Fos co-expression with corticotropin releasing factor expressing neurons in restrained adult mice. *Horm Behav*. 2023 Nov;156:105448. doi: 10.1016/j.yhbeh.2023.105448. Epub 2023 Oct 27. PMID: 38344954; PMCID: PMC10861933.

3. „Szokatlan megfogalmazás: „alpha-MSH és AgRP ir idegrostok közelítik meg az EWcp/UCN1 sejtjeit (49.o)”

Válasz:

Egyetérték Bíráló Úr véleményével, és elismerem, hogy „alpha-MSH és AgRP ir idegrostok kapcsolatba kerülnek EWcp/UCN1 sejtjeivel” megfogalmazás a tudományos nyelv szempontjait figyelembe véve, helyesebb lett volna. Mivel nem végeztünk elektronmikroszkópos vizsgálatokat, igyekeztem itt kellő óvatossággal fogalmazni.

4. „Miért az epididymalis zsírszövetből végez retrograd viralis jelölést?”

Válasz:

A fehér zsírszövet működését a hypothalamus a szimpatikus idegrendszeren keresztül befolyásolja, melyet az általunk is alkalmazott transzneurális vírusjelölési technika segítségével írták le, visceralis zsírdepók vizsgálata során (Stanley és mtsai. 2010). Mivel a visceralis zsírszövetlerakódásnak nagyobb jelentősége van az elhízással kapcsolatos metabolikus és egyéb kórállapotokban, mint a szubkután zsírszövetnek, gyakrabban vizsgálják a visceralis zsírszövetet. Ide tartozik az epididymalis zsírszövet is. Korábbi saját vizsgálataink azt már kimutatták, hogy az EWcp peptiderg sejtjei és a szimpatikus idegrendszer között kapcsolat van, mivel a mellékveséből sikerült retrográd vírusjelöléssel elérni az EWcp peptiderg sejtjeit (Shah és mtsai. 2013). Kézenfekvő volt ezért a visceralis zsírraktárak közül az epididymális zsírt választani, és megvizsgálni, hogy egy onnan indított retrográd transzneurális vírusjelölés elér-e az EWcp peptiderg sejtjeit. Az epididymális zsír vírusjelölése melletti döntést az is segítette, hogy ez a szövet műtétechnikai szempontból könnyebben hozzáférhető, előemelhető, kezelhető, így a vírusparticulumok hasúri szóródásának veszélye kisebb, mint a retroperitoneális zsírszövet esetében.

Idézett irodalom:

Stanley S, Pinto S, Segal J, Pérez CA, Viale A, DeFalco J, Cai X, Heisler LK, Friedman JM. Identification of neuronal subpopulations that project from hypothalamus to both liver and adipose tissue polysynaptically. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Apr 13;107(15):7024-9. doi: 10.1073/pnas.1002790107. Epub 2010 Mar 29. PMID: 20351287; PMCID: PMC2872469.

Shah NS, Pugh PC, Nam H, Rosenthal DT, van Wijk D, Gaszner B, Kozicz T, Kerman IA. A subset of presympathetic-premotor neurons within the centrally projecting Edinger-Westphal nucleus expresses urocortin-1. J Chem Neuroanat. 2013 Sep;52:25-35. doi: 10.1016/j.jchemneu.2013.04.004. Epub 2013 May 22. PMID: 23707488; PMCID: PMC3775998.

5. 65.o.: „SNpc dopaminerg neuronjait 6 darab egymástól 180µm-re elhelyezkedő reprezentatív metszési síkban számoltuk meg és a sejtszámok összegét adtuk meg.” – Miért nem területegységre történt a meghatározás? Az abszolút számok félrevezetőek lehetnek, vagy itt éppen ennek tulajdonított fontosságot a szerző?

Válasz:

Az alkalmazott rotenon modellben szükséges annak ellenőrzése, hogy valóban megtörtént-e a dopaminerg sejtek pusztulása a substantia nigra területén. Professzor Úrnak teljes mértékben igaza van abban, hogy az abszolút sejtszámok félrevezetőek lehetnek. A közlemény eredeti verzióban mi is területegységre, metszetekre vonatkozott átlagokat adtunk meg. A cikk bírálati fázisában azonban az egyik bíráló felhívta a figyelmünket egy lehetséges torzító faktorra, amit az átlagolás esetleg nem tud hatékonyan kiszűrni. A rotenon modell esetében ismert, hogy a sejtek pusztulása lehet diffúz kisebb mértékű, de esetenként lehet fokális is, és ilyenkor, jellemzően lokálisan nagyarányú. (Ez egyben a striatum területén fokális dopaminrost vesztést eredményez, ahogy azt be is mutattam az 5.70B ábrán.) Ilyen fokális lézió esetén előfordul, hogy az egy sűrűbb dopamin sejtársulást érint, és ezzel egy viszonylag kis területet érintő, mégis nagyobb arányú sejtvesztés lép fel. Egy ilyen metszet esetében ez a területegységre vonatkoztatott sejtszámot kisebb arányban befolyásolja, mivel ilyenkor a

dopaminerg terület határának kijelölése a sejtek hiányában nehéz, és a néhány megmaradt sejt által elfoglalt régió kisebb. Vagyis, a kelleténél kisebb területegységet határolunk körül, ahol a számlálás történik, és itt sokszor alig marad 1-1 detektálható sejt. Más állatok vagy síkok esetében egy diffúz sejtvesztést látunk, fokális léziók nélkül, ahol jól látjuk a dopaminerg terület méretét, azzal együtt, hogy ritkává válik a sejtek eloszlása. Ezért a cikk bírálójának javaslatára és annak érdekében, hogy a lehető megbízhatóbb legyen a sejtcsökkenés meghatározása, amellet döntöttünk, hogy a sorozatokból 6 metszetet elemzünk, ahol szigorúan a legpontosabban anatómiai síkokat meghatározva számoltuk meg sejteket. Azt láttuk, hogy amennyiben az összsejtszámot és nem a területegységre vonatkoztatott sejtyszámot vettük alapul, kisebb szórás mellett, és ezzel erősebb statisztikai szignifikancia mellett tudtuk a sejtcsökkenést bemutatni.

6. 68. o.: „A PACAP KO állatok szignifikánsan hosszabb immobilitási ideje (5.1.A ábra) FST-ben depressziószerű viselkedésre utalt, mely nagyobb OFT aktivitással (5.1.B-C ábra) járt.” Nem ellentétes értelműek ezek a kijelentések?

Válasz:

A forced swim teszt immobilitási ideje a legtöbb szakértő által elfogadottan az állat depresszió szintjére enged következtetni. Az állat feladja a kilátástalannak tűnő küzdelmet, nem próbál szabadulni, várja sorsa beteljesülését. A munkánk során használt CD1 alapon tenyésztett PACAP KO állat esetében több modellben több laboratórium azt találta, hogy az állatokra egy depresszió-szerű viselkedésmintázat jellemző. Az open field tesztben (OFT) az állatok szorongási szintjét határozzuk meg a lokomotoros aktivitással együtt, mivel ezek értékelése együtt kell, hogy történjen. A rejtőzködő életmódú rágcsálók ugyanis a sarkokban, a fal mellett explorálnak. Ha ezt nagyon aktívan teszik, hosszabb időt töltenek a falak mellett. Ha az állat lokomotoros aktivitása kisebb és inaktív, helyet foglalhat a fal mellett is, de leülhet attól távolabb, és esetleg azért mérünk rövidebb falnál töltött időt, mert nem explorál, kevesebb időt tölt a fal mellett. Mi azt találtuk, hogy PACAP KO állatokra OFT-ben egy, a vad típusúakkal összehasonlítva megnövekedett lokomotoros aktivitás mellett az állatok több időt töltenek a fal mellett. Utóbbi fokozott szorongásra utalhat, de a fokozott lokomotoros aktivitás árnyalja ezt a képet. Ez lényeges abban a tekintetben is, hogy a marble burying teszt és a light-dark bokszt teszt eredményei ezzel ellentétes, csökkent szorongási szintre utaltak. A megnövekedett lokomotoros aktivitást mindhárom teszt egybehangzóan mutatta, a kompartmentek közti áthaladások száma, a megtett út, és a mozgással töltött időtartam alapján. Az OFT-ben látott fenotípus ezen kívül esetleg azzal is magyarázható, hogy Hashimoto és mtsai. (2001) az állatot 30 percig vizsgálták OFT-ben, és az időtartam második felében látták a csökkent szorongást. Saját munkánk során az OFT konvencionális, 5 perces tesztelést végeztük el.

Amennyiben Bíráló Úr kérdésében arra utal, hogy a depresszió és a csökkent szorongás ellentétben állnak egymással, ennek a felvetésnek igazat kell adnom. Teszem ezt azzal a megjegyzéssel, hogy bár a depresszió és a szorongásos állapot gyakran komorbid állapotok, a klinikai adatok azt mutatják, hogy ez az esetek mintegy felében jellemző ez (Hirschfeld és mtsai. 2001 Milić és mrsai 2024), tehát, messze nem minden esetben. Ezért, én ebben a két megfigyelésben nem látok kibékíthetetlen ellentétet.

Idézett irodalom:

Hirschfeld RM. The Comorbidity of Major Depression and Anxiety Disorders: Recognition and Management in Primary Care. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*. 2001 Dec;3(6):244-254. doi: 10.4088/pcc.v03n0609. PMID: 15014592; PMCID: PMC181193.

Milić J, Skitarelić N, Majstorović D, Zoranić S, Čivljak M, Ivanišević K, Marenić M, Mesarić J, Puharić Z, Neuberg M, Čukljek S, Racz A, Puljak L. Levels of depression, anxiety and subjective happiness among health sciences students in Croatia: a multi-centric cross-sectional study. *BMC Psychiatry*. 2024 Jan 13;24(1):50. doi: 10.1186/s12888-024-05498-5. PMID: 38218757; PMCID: PMC10787412.

7. „Mi az oka, hogy a PACAP KO állatok stresszmentes helyzetben a különböző agyterületeken nagyobb cFos aktivációt mutatnak - míg ugyanakkor stresszben a növekedés elmarad a vad típusú egerekben találtakhoz képest? Ugyanígy: magasabb Ucn1 RNS tartalmat figyelt meg TRPA1 KO egerekben, melynek növekedése CVMS-ben – a vad típusú állatoktól eltérően – elmarad”

Válasz:

Erre a kérdésre nem tudok egészen pontos választ adni, de van néhány lehetséges magyarázat a jelenségre. A FOS fehérje, mint aktivációs marker esetében sok tanulmányt végeztünk és a kontrolljaink vizsgálata során megállapítottuk, hogy számos agyterületen van jelen különböző mértékű bazális aktivitás, mely életkorfüggő módon változik. Ez a jelenség 1-3 hónapos, tehát fiatal patkányok esetében egy-egy agyterületen olyan mértékű volt, hogy az alkalmazott stressz az eleve jelentős bazális aktivitást már nem emelt olyan mértékben, hogy az szignifikáns mértékű legyen. Ebben az életszakaszban a stresszadaptációs rendszerek érése, és egy fokozott plaszticitás jellemző, és úgy gondolom, hogy a sejtek fokozott bazális aktivitása ezzel függ össze. Ehhez hasonlóan, az az álláspontom, hogy a PACAP KO állatok esetében megfigyelt magasabb bazális FOS aktivitás a PVN-ben és a periaqueductalis szürkeállományban (PAG) egyfajta kompenzációs mechanizmust mutathat, mely olyan gének aktivációját is feltételezi, amelyeket az AP1 transzkripciós faktor szabályoz. Mivel a PACAP jelentős hatással bír a PVN területén (Agarwal és mtsai. 2005, Norrholm és mtsai. 2005), feltételezhető, hogy hiánya kompenzációs mechanizmusok beindulását okozza, ami a FOS fehérje megjelenéséhez vezet. Jól ismert azonban, hogy a HPA tengely aktivációja a PACAP KO állatokban zavart szenved, és a stresszre adott FOS válasz nagymértékben csökkent. A PAG a másik régió, a PACAP KO állatok magasabb bazális aktivitást mutattak. A dorzális PAG esetében ez arra utal, hogy e terület megnövekedett aktivitása magyarázhatja a szorongási szint zavarát (Graeff és Zangrossi 2010) ebben a KO törzsben. A laterális PAG a leszálló antinociceptív rendszer központja. Mivel tudjuk, hogy a PACAP KO állatnak csökkent a fájdalomelhárító magatartása (Sándor és mtsai. 2010), feltételezhető a PAG eredetű leszálló antinociceptív pálya nagyobb aktivitása PACAP KO állatokban (Gaszner és mtsai. 2012).

A kontroll TRPA1 KO állatok esetében látott magasabb *Ucn1* mRNS tartalom arra utalhat, hogy az állatok csökkent szorongási szintjét egy megnövekedett UCN1 aktivitás okozhatja a CRH2 receptorok aktiválása útján (Vetter és mtsai. 2002).

Idézett irodalom:

Agarwal A, Halvorson LM, Legradi G. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) mimics neuroendocrine and behavioral manifestations of stress: Evidence for PKA-

mediated expression of the corticotropin-releasing hormone (CRH) gene. *Brain Res Mol Brain Res.* 2005 Jul 29;138(1):45-57. doi: 10.1016/j.molbrainres.2005.03.016. PMID: 15882914; PMCID: PMC1950324.

Gaszner B, Kormos V, Kozicz T, Hashimoto H, Reglodi D, Helyes Z. The behavioral phenotype of pituitary adenylate-cyclase activating polypeptide-deficient mice in anxiety and depression tests is accompanied by blunted c-Fos expression in the bed nucleus of the stria terminalis, central projecting Edinger-Westphal nucleus, ventral lateral septum, and dorsal raphe nucleus. *Neuroscience.* 2012 Jan 27;202:283-99. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.11.046. Epub 2011 Dec 9. PMID: 22178610.

Graeff FG, Zangrossi H Jr. The dual role of serotonin in defense and the mode of action of antidepressants on generalized anxiety and panic disorders. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* 2010 Sep 1;10(3):207-17. doi: 10.2174/1871524911006030207. PMID: 20528764.

Norrholm SD, Das M, Légrádi G. Behavioral effects of local microinfusion of pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) into the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN). *Regul Pept.* 2005 May 15;128(1):33-41. doi: 10.1016/j.regpep.2004.12.023. PMID: 15721485; PMCID: PMC1950325.

Sándor K, Kormos V, Botz B, Imreh A, Bölcskei K, Gaszner B, Markovics A, Szolcsányi J, Shintani N, Hashimoto H, Baba A, Reglodi D, Helyes Z. Impaired nocifensive behaviours and mechanical hyperalgesia, but enhanced thermal allodynia in pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide deficient mice. *Neuropeptides.* 2010 Oct;44(5):363-71. doi: 10.1016/j.npep.2010.06.004. PMID: 20621353.

Vetter DE, Li C, Zhao L, Contarino A, Liberman MC, Smith GW, Marchuk Y, Koob GF, Heinemann SF, Vale W, Lee KF. Urocortin-deficient mice show hearing impairment and increased anxiety-like behavior. *Nat Genet.* 2002 Aug;31(4):363-9. doi: 10.1038/ng914. Epub 2002 Jul 1. PMID: 12091910.

8. „79.o.: A centralis amygdala területén vad típusú egerekben CVMS hatására mintegy kétszeresére nőtt a FOSB/ Δ FOSB ir sejtek száma, míg a basolateralis amygdalában ilyen hatást nem azonosítottak. Mi az oka ennek?”

Válasz:

A basolateralis amygdala (BLA) területén a kontroll csoportok esetében is jelentős FOSB/ Δ FOSB aktivitást láttunk, függetlenül attól, hogy kaptak-e az állatok injekciós kezelést vagy sem. Mivel ezen a területen egy magas bazális aktivitás volt jellemző, a CVMS expozíciónak nem volt tere tovább emelni az aktivitást. Az imipramin terápia némileg tovább tudta emelni a FOSB/ Δ FOSB sejtek számát, de ez a hatás sem bizonyult szignifikánsnak. Történt ez annak ellenére, hogy az antidepresszáns terápia a plaszticitást befolyásolva FOSB immunreaktivitás emelkedést szokott előidézni. Ezt láttuk a kombinált három találat elmélet modellünkben is, ahol a BLA-ban elsősorban maternális deprivációt követően láttunk megnövekedett FOSB/ Δ FOSB immunreaktivitást, és ebben a modellben nem imipramint, hanem fluoxetint alkalmaztunk, mely e tekintetben hatékonyabbnak bizonyult az imipraminnál, az irodalommal összhangban (Vialou és mtsai. 2015). (Ez az eredmény nem került be a közleményeinkbe, de tervezzük a további adatsorok publikálását is.)

Idézett irodalom:

Vialou V, Thibault M, Kaska S, Cooper S, Gajewski P, Eagle A, Mazei-Robison M, Nestler EJ, Robison AJ. Differential induction of FosB isoforms throughout the brain by fluoxetine and chronic stress. *Neuropharmacology*. 2015 Dec;99:28-37. doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.07.005. Epub 2015 Jul 9. PMID: 26164345; PMCID: PMC4655122.

9. „90.o.: Milyen a TRPA1 KO egerek fenotípusa?”

A TRPA1 ioncsatornák széles körben kifejeződnek a szervezetben, de elsősorban a perifériás idegrendszer szenzoros területein található meg. A TRPA1 itt multimodális szenzorként szolgál, amely részt vesz a kémiai, hőmérsékleti és mechanikai ingerek érzékelésében, valamint kulcsszerepet játszik a fájdalomérzetben, a gyulladásban és az irritáló anyagokra adott válaszokban. Ennek megfelelően, a TRPA1 KO egerek a vad típusú egerekhez képest csökkent érzékenységet mutatnak a hidegexpozícióra és taktilis ingerekre. Az állatok magasabb nociceptív hőmérsékleti küszöbvel rendelkeznek. (Kwan és mtsai. , 2006, Bautista és mtsai. 2006).

Idézett irodalom

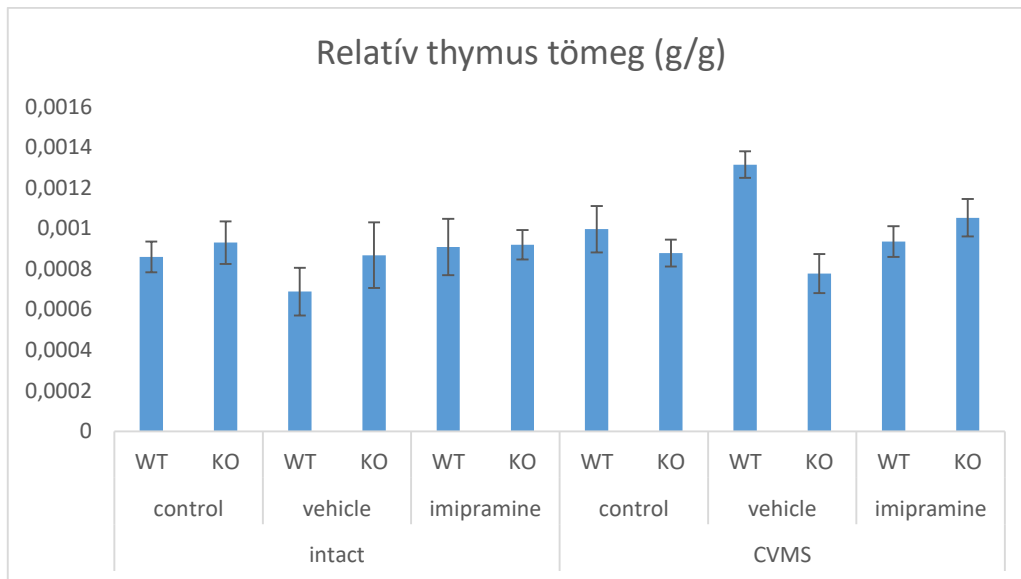
Kwan KY, Allchorne AJ, Vollrath MA, et al. TRPA1 contributes to cold, mechanical, and chemical nociception but is not essential for hair-cell transduction. *Neuron*. 2006;50(2):277-289. doi:10.1016/j.neuron.2006.03.042

Bautista DM, Jordt SE, Nikai T, Tsuruda PR, Read AJ, Poblete J, Yamoah EN, Basbaum AI, Julius D. TRPA1 mediates the inflammatory actions of environmental irritants and proalgesic agents. *Cell*. 2006 Mar 24;124(6):1269-82. doi: 10.1016/j.cell.2006.02.023. PMID: 16564016.

10. „93.o.: A TRPA1 KO egerek CVMS vizsgálatokor thymus tömeget is mér. Miért? Ezt a vizsgálatot miért nem végezte el a PACAP KO egereken? Volt külön indikációja ebben az egértörzsben?”

Válasz:

A PACAP KO egerek esetében is elvégeztük a thymus tömegének elemzését a HPA tengely aktivációjának megítélése céljából. A statisztikai kiértékelés során azonban a stressz főhatásán, valamint stressz x genotípus, továbbá stressz x genotípus x kezelés interakcióin túl, a *post hoc* tesztek nem találtak jelentős szignifikáns különbséget a csoportok között, ezért úgy határoztunk, hogy nem mutatjuk be ezeket az eredményeket közleményünkben, de ide alább beilleszttem a grafikont:



1. ábra: Relatív thymus tömeg adatok a PACAP KO egereket (KO) krónikus stresszben (CVMS) vizsgáló modellben, ahol az állatok nem kaptak injekciós kezelést (control) vagy oldószer injekciót (vehicle) illetve imipramin kezelést is kaptak. MANOVA: a stressz főhatása: $F=3,15$; $p=0,032$; genotípus x kezelés interakció: $F=5,06$; $p=0,028$, stressz x genotípus x kezelés interakció: $F=4,09$; $p=0,022$. $N=4-6$.

Mivel a thymustömeg eredmények statisztikai ereje nem volt meggyőző, és mert a többi endokrin, fizikai és viselkedési paraméter megbízhatóbban mutatta a stressz hatékonyságát, úgy döntöttünk, hogy ezeket az adatokat nem publikáljuk.

A TRPA1 KO egerek esetében a thymust részben ugyanezen célból vizsgáltunk, de egyúttal ezt a paramétert azért is teszteltük, mert ismert, hogy a lymphocyták differenciálódásában a TRPA1-nek szerepe van (Zhu és mtsai. 2020) és a Farmakológiai Intézettel kollaborációban történt a kutatás, ahol egy külön projektet indítottak a *Trpa1* vizsgálatára a nyirokszervek, nyiroksejtek területén (Szabó és mtsai. 2024).

Idézett irodalom:

Zhu T, Zhou D, Zhang Z, Long L, Liu Y, Fan Q, Chen F, Zhang X, Wu Y, Zeng H, Verkhatsky A, Zhao J, Nie H. Analgesic and antipruritic effects of oxymatrine sustained-release microgel cream in a mouse model of inflammatory itch and pain. *Eur J Pharm Sci.* 2020 Jan 1;141:105110. doi: 10.1016/j.ejps.2019.105110. Epub 2019 Oct 22. PMID: 31654757.

Szabó K, Makkai G, Konkoly J, Kormos V, Gaszner B, Berki T, Pintér E. TRPA1 Covalent Ligand JT010 Modifies T Lymphocyte Activation. *Biomolecules.* 2024 May 28;14(6):632. doi: 10.3390/biom14060632. PMID: 38927036; PMCID: PMC11202300.

11. »94.o.: Mit jelent a szemikvantifikáció? („szemikvantitáció kimutatta, hogy a CVMS 40%-kal csökkentette a *Trpa1* transzkriptumok számát az UCN1 neuronokban”) «

Válasz:

A szemikvantifikáció esetében nem határozzuk meg az adott paraméter pontos mennyiségét abszolút értékben, hanem az adott változó esetében bekövetkező változás mértékét adjuk meg. Bíráló Úr kérdése itt abban a kontextusban merülhetett fel, hogy miért szemikvantifikációról beszélünk az adott ábrában, amikor ott megadtuk a *Trpa1* transzkriptumok számát abszolút

értékben. Ennek egyik oka, hogy az adott vizsgált sík a sejteknek csak egy 3,5µm vastag optikai szeletének felel meg. Mivel az UCN1 tartalmú neuronok ennél rétegvastagságnál lényegesen nagyobbak, (coronális síkban metszve gyakran orsó alakú sejtestjük rövidebb átmérője mintegy 20-25 µm), a sejtekben ennél több transzkriptum lehetett. Mivel az adott értékelésnél nem végeztünk z-stack leképezést z projekcióval, nem határoztuk meg a sejtekben a transzkriptumok teljes számát. Ezért, elismerem, hogy helyesebb lett volna az ábrában nem a sejtekben, hanem azok egy adott optikailag leképezett síkjában található transzkriptumszámra hivatkozni, és ebben az esetben a kvantifikálás fogalmát használni. A másik ok, ami miatt ezt a megfogalmazást használtuk egyébként az volt, hogy a magasabb kópiaszámú mRNS-ek detektálása esetén, amikor a jel konfluens, denzitometriát végeztünk a transzkriptumok számlálása helyett. Ez a módszer nem teszi lehetővé az mRNS molekulák pontos számlálását, mert bár az RNAscope technika egyetlen mRNS molekula detekciójára is képes, ha azok a leképezés során összefolyó pontok képében jelennek meg, nem tudjuk megmondani azok egészen pontos számát. Az ábra további részében az Ucn1 mRNS jelenség meghatározása pedig ilyen megfontolásból készült, ami egyértelműen szemikvantitív.

12. „96.o.: Miért a POP4-t választotta referencia génnek a humán minták vizsgálatokor?”

Válasz:

Korábban végeztünk vizsgálatokat azzal kapcsolatban, hogy a PCR tesztek során referenciagénként használt transzkriptumok kifejeződése mennyire stabil különféle agyterületeken különféle stresszhatások után. Azt találtuk, hogy a gyakran használt housekeeping gének kifejeződése stresszhatásra agyterület-specifikus módon változik meg (Derks és mtsai. 2008). Ezért, amennyiben a vizsgált gén egy olyan konstansnak gondolt expressziójú génhez viszonyítunk, ami valójában változik, hibás következtetésre juthatunk. De előfordulhat ebből kifolyólag az is, hogy valós változások a vizsgálni kívánt gén esetében nem kerülhetnek felismerésre, vagy éppen ellenkezőleg, álpozitív eredményeket kaphatunk, ha a referenciagén expressziója változik, míg a célgéné változatlan marad.

A vizsgálatunkban az indokolta a POP4 mint belső kontroll használatát, hogy egyéb kísérletekben és az adott esetben is, kifejeződése állandó volt. Ebben a kísérleti elrendezésben az IPO8 és a POP4 előtesztelését végeztük el, és azt láttuk, hogy a POP4 mRNS mennyisége stabilabb volt, és kisebb szórást mutattak az adatok a csoportokon belül, mint az IPO8 gén egyedüli, illetve a POP4-gyel együtt történő felhasználás esetén. Ezért úgy határoztunk, hogy a POP4 gént használjuk.

Derks NM, Müller M, Gaszner B, Tilburg-Ouwens DT, Roubos EW, Kozicz LT. Housekeeping genes revisited: different expressions depending on gender, brain area and stressor. *Neuroscience*. 2008 Oct 2;156(2):305-9. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.07.047. Epub 2008 Aug 3. PMID: 18722514.

13. „110.o.: A három találat hipotézis vizsgálatokban a prefrontális kérget is vizsgálja; korábban ezt a területet nem elemezte. Mi ennek az oka?”

Válasz:

Munkánk kezdetén elsősorban a neuropeptiderg rendszerek stresszben betöltött szerepét vizsgáljuk és elsősorban a CRH és UCN1 rendszerrel foglalkoztunk. A három találat elmélet alapján felépített komplex modellben olyan más, nem peptiderg területeket is vizsgáltunk, amelyeknek szerepe van a depresszió kialakításában általánosan elfogadott. A prefrontális

kéreg és a hippocampus két olyan agyterület, amelyeket a hangulatzavarok szempontjából leggyakrabban vizsgáltak. Úgy gondoltuk, hogy amennyiben bizonyítani tudjuk, hogy a modellben ezeken a területeken olyan változások állnak be, melyek alátámasztják a Willneri (1984) konstrukciós, prediktív és fenomenológiai validitási kritériumokat, akkor az ebben a régióban gyűjtött megfigyelések további adatot szolgáltat a modell megbízhatóságára.

Bíráló Úr kérdésében burkoltan azt fogalmazta meg, hogy a három találat elméletben a prefrontális kéreg területén tett megfigyeléseinket érdemes lenne összevetni azokkal a változásokkal, amelyek korábbi, kevésbé komplex kísérleti elrendezésekben megfigyelhettünk, vagy megfigyelhettünk volna. Ezzel teljes mértékben egyet tudok érteni, de ezt a munkát csak a kísérletek megismétlése esetén tudnánk elvégezni, mert az eredeti kísérletekből származó szövetmintákból a gyűjtésük óta eltelt 10 év miatt már nehéz lenne megbízható következtetéseket levonni.

Idézett irodalom:

Willner P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology* (Berl). 1984;83(1):1-16. doi: 10.1007/BF00427414. PMID: 6429692

14. „127.o.: A stresszadaptáció életkorfüggő változásainak vizsgálatával kapcsolatban „nem találtunk szisztematikus vizsgálatokat, melyek a patkány teljes élettartamát felölelték volna”. Milyen adatok álltak rendelkezésre korábbi munkákból?”

Válasz:

Az életkorfüggő változások vizsgálata során, ahol az idegsejtek aktivációjának FOS és FOSB markerek segítségével mérhető aktivitását tesztelték, olyan kísérleti elrendezés kell, ahol a különböző életkorú állatok egyidőben állnak rendelkezésre. Ez két korcsoport, többnyire fiatal (4 hetes kölyök) és fiatal felnőtt (7-9 hetes adolescens) valamint felnőtt állatok (12 hét) esetén még reális lehet egy állatházban, de 24 hónapos patkányok vizsgálata esetén számolni kell a hosszú tartás magas költségeivel, és a természetes elhullásból adódó, ebben a korcsoportban jellemző nagy veszteséggel is. Fontos egy ilyen kísérlet tervezésekor, hogy a tenyésztést úgy kell végezni, hogy az állatok leölésekor egyidőben legyen elérhető az összes szükséges korcsoport. Vagyis, legalább két évre előre kell gondolkodni. Előfordulhat persze, hogy egy állatházban rendelkezésre áll néhány fel nem használt tenyésztésből kiöregedett másfél-kétéves állat, de ezekhez minden korcsoportból kontrollt találni előre tervezett tenyésztés nélkül már nem reális. Valószínűleg ez az oka annak, hogy nem volt az irodalomban olyan munka, ahol 1, 1,5, 2, 3, 6, 12, 18, és 24 hónapos állatokat vizsgáltak volna ugyanabban a kísérletben. Mint ahogy hivatkoztam is a dolgozatban rájuk, három közleményt említenék példaként, Kellogg és mtsai. (1998), 28 és 60 napos állatokat vizsgáltak, Romeo és mtsai. (2006), 28 és 77 napos patkányokkal dolgoztak, Meyza és mtsai. (2007) pedig 3 és 21-23 hónapos patkányokat hasonlítottak össze. Az ilyen, két időpontban végzett mérések nem adnak lehetőséget arra, hogy lássuk, mi történik a teljes élettartam során. A korcsoportok kiválasztása pedig meglehetősen véletlenszerű, ezért az adatok nem összehasonlíthatók közvetlenül.

Kellogg CK, Awatramani GB, Piekut DT. Adolescent development alters stressor-induced Fos immunoreactivity in rat brain. *Neuroscience*. 1998 Apr;83(3):681-9. doi: 10.1016/s0306-4522(97)00408-9. PMID: 9483552.

Meyza KZ, Boguszewski PM, Nikolaev E, Zagrodzka J. The effect of age on the dynamics and the level of c-Fos activation in response to acute restraint in Lewis rats. *Behav Brain Res*. 2007 Jun 18;180(2):183-9. doi: 10.1016/j.bbr.2007.03.007. Epub 2007 Mar 14. PMID: 17452054.

Romeo RD, Bellani R, Karatsoreos IN, Chhua N, Vernov M, Conrad CD, McEwen BS. Stress history and pubertal development interact to shape hypothalamic-pituitary-adrenal axis plasticity. *Endocrinology*. 2006 Apr;147(4):1664-74. doi: 10.1210/en.2005-1432. Epub 2006 Jan 12. PMID: 16410296.

15. „156. o.: Az alpha-MSH-, és AgRP-immunoreaktivitás specifikus jelzenítés növekedését mihez hasonlította? A kontroll állathoz? Ez bizonytalan, valamilyen belső kontrollt kell ilyenkor alkalmazni (ugyanazon állat egy olyan agyterületén, ahol immunoreaktivitás növekedés nem várható az adott kísérletben). Túlzónak érzem a jelzenítés növekedésének mérését „funkcionális-morfológiai értékelésként” azonosítani.”

Válasz:

Professzor Úr véleményét nagyon köszönöm, megértettem, de álláspontját, kellő tisztelettel, jelen kísérleti kontextusban vitatnám az alábbi érvrendszer szerint:

Ebben a kísérletben azt szeretttük volna bemutatni, hogy koplaltatott állatban a melanocortin rendszer peptidjei az éhezésben jól ismert funkcionális változásokat mutatják. Ez az anorexigén peptidek (pl. az alphaMSH) csökkent mennyiségét, orexigén peptidek esetében (AgRP) emelkedett mennyiséget jelent a fő termelőési helyük, a nucleus arcuatus területén (Biebermann és mtsai. 2012). Bíráló Úr által kritizált megállapítás, arra a mérésünkre vonatkozik, ahol azt vizsgáltuk, vajon ez a változás az EWcp sejteit elérő idegrostokban is fennáll-e az alphaMSH és az AgRP immunreaktivitásban. Ami a „funkcionális-morfológiai értékelés” megfogalmazást illeti, a funkcionális változás, vagyis a sejtek illetve idegrostok megváltozott neuropeptid termelése olyan morfológiai változásban nyilvánul meg, ami a rostokban a neuropeptidek megnövekedett mennyiségét, azaz erősebb immunfluoreszcenciáját, mint morfológiai változás képezzük le. Én a funkcionális-morfológiai értékelést erre értettem. A funkcionalitás szempontjából jó lett volna megmérni a felszabaduló peptidek mennyiségét, de sajnos, nincs a kezünkben olyan módszer, amivel azt lokálisan mérni tudnánk.

Ami a megfelelő belső kontroll kérdését illeti, bár a Professzor Úr javaslata szerinti megközelítés általában célravezető lehet, ebben a konkrét kérdésben nem látom ezt alkalmas módszernek. A központi idegrendszerben csupán két területen fejeződik ki a *Pomc* gén és így két helyen található meg az alphaMSH az idegsejtek perikaryonjában. Ezek a nucleus arcuatus és a nucleus tractus solitarii. Mindkét terület esetében tudjuk, hogy az energiaegyensúly megváltozása esetén megváltozik az idegsejtek alphaMSH tartalma. Éhezés során a nucleus arcuatus területén csökken a neuronok *Pomc* mRNS, és alphaMSH peptid tartalma. Ezzel ellentétben, de egyidőben, a nucleus tractus solitarii-ban a neuronok alphaMSH tartalma megnő (Perello és mtsai. 2007). Vagyis, nincsen olyan referencia terület, amit megbízható, konstans alphaMSH tartalmú belső kontrollnak lehetne használni. Az AgRP esetében a belső kontroll keresésére egyáltalán nincsen lehetőség, mivel az *agrp* gén egyetlen központi kifejeződési helye a nucleus arcuatus, ahol az *Agrp* mRNS és AgRP peptid mennyisége is megnő éhezés során.

Fenti érvek alapján úgy ítélem, meg, hogy megbízható belső referenciaterületek hiányában a normál tápláltsági állapot és az éhezett állatokból származó minták összehasonlítása volt a legmegfelelőbb módszer arra, hogy bemutassuk, miként változik e két peptid mennyisége az EWcp-ba érkező terminálisokban.

Idézett irodalom:

Perello M, Stuart RC, Nillni EA. Differential effects of fasting and leptin on proopiomelanocortin peptides in the arcuate nucleus and in the nucleus of the solitary tract. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007 May;292(5):E1348-57. doi: 10.1152/ajpendo.00466.2006. Epub 2007 Jan 16. PMID: 17227963.

Biebermann H, Kühnen P, Kleinau G, Krude H. The neuroendocrine circuitry controlled by POMC, MSH, and AGRP. *Handb Exp Pharmacol.* 2012;(209):47-75. doi: 10.1007/978-3-642-24716-3_3. PMID: 22249810.

16. „167. o.: Mit jelent a „az EWcp/UCN1 neuronok fehér zsírszöveti preszimpatikus innervációja”? Nem találtam kísérletet, mely bizonyítaná, hogy a zsírszövet aktivációja a sympathicus idegrendszeren keresztül történne.”

Válasz:

Professzor Úr kérdése összefügg a korábban megválaszolt, 4. számú felvetéssel. A fehér zsírszövet működését a hypothalamus a szimpatikus idegrendszer útján szabályozza, mely a visceralis zsírraktárak vizsgálata kapcsán került feltérképezésre transzneurális vírusjelölési technika segítségével (Stanley és mtsai. 2010). Egy korábbi saját kollaborációs munkánkban, mely nem képezte e disszertáció alapját (Shah és mtsai. 2013), bizonyítottuk, hogy kapcsolat van az EWcp és a szimpatikus idegrendszer között, ahol retrográd transzneurális vírusjelöléssel a mellékverese velőből sikerült az EWcp sejteit elérni. Az mellékhere mellett található zsírszövet jelölése során, Stanley és mtsai. (2010) által megfigyeltekhez hasonlóan, azt láttuk, hogy a központi idegrendszer számos területén jelölődtek az idegsejtek a retrográd úton, így a gerincvelőben és a ventrolateralis medulla valamint a hypothalamus területén. Mivel a korábbi publikációk fényében ezek nem jelentettek volna tudományos újdonságot, ezek az adatok nem kerültek be a közleménybe, így a disszertációba sem.

Idézett irodalom:

Stanley S, Pinto S, Segal J, Pérez CA, Viale A, DeFalco J, Cai X, Heisler LK, Friedman JM. Identification of neuronal subpopulations that project from hypothalamus to both liver and adipose tissue polysynaptically. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Apr 13;107(15):7024-9. doi: 10.1073/pnas.1002790107. Epub 2010 Mar 29. PMID: 20351287; PMCID: PMC2872469.

Shah NS, Pugh PC, Nam H, Rosenthal DT, van Wijk D, Gaszner B, Kozicz T, Kerman IA. A subset of presympathetic-premotor neurons within the centrally projecting Edinger-Westphal nucleus expresses urocortin-1. *J Chem Neuroanat.* 2013 Sep;52:25-35. doi: 10.1016/j.jchemneu.2013.04.004. Epub 2013 May 22. PMID: 23707488; PMCID: PMC3775998.

17. „173. o.: Miért károsítja a szisztémás rotenon kezelés a SNpc dopaminerg sejtjei mellett az EWcp peptiderg neuronjait is? Az agy más biogén aminerg magjaiban nem talált változást (VTA, raphe-magok).”

Válasz:

A rotenonról ismert, hogy elsősorban a nagy energiaigényű szövetekben, sejtekben okoz károsodást a komplex I gátlás, szabadgyökképződés, következményes mitochondrium károsodás és energiadeficit miatt. A központi idegrendszeren belül, a substantia nigra idegsejtjei különösen érzékenyek erre a toxinra. A substantia nigra dopaminerg sejtjei egy jelentős pacemaker-szerű spontán elektromos aktivitást mutatnak, mely hozzájárul magas

energiaszükségletükhöz (Lee és Tepper 2009). Mivel más laboratóriumok (Topilko és mtsai. 2021) és magunk is (Al-Omari és mtsai. 2023) azt láttuk, hogy az Edinger-Westphal mag peptiderg sejtjeire is jellemző a magas spontán tüzelési frekvencia, úgy gondoljuk, hasonló okból, mint a SNpc ezek a sejtek is érzékenyek. A két sejtípus érzékenységének hasonlóságát korrelációanalízissel is sikerült alátámasztanunk a rotenon modellben. Ezen túlmenően, az sem mellékes körülmény, hogy a SNpc dopaminerg neuronjai és az EWcp idegsejtjei között fejlődéstani szempontból közeli rokonság áll fenn (Joksimovic és mtsai. 2009), mely szintén magyarázhatja a hasonlóságot e két sejtípus érzékenységében.

A raphe magok szerotonerg sejtjeire nem jellemző a gyors spontán tüzelés. Ezek a sejtek jórészt lassú reguláris spontán tüzelést mutatnak (Mlinar és mtsai. 2016) feltételezhetően alacsonyabb energiaigény mellett. Hasonlóan, a VTA dopaminerg neuronjaira egy a SNpc neuronjainál jóval alacsonyabb frekvenciájú spontán tüzelés jellemző (Ksarhia és mtsai. 2017).

Lee CR, Tepper JM. Basal ganglia control of substantia nigra dopaminergic neurons. J Neural Transm Suppl. 2009;(73):71-90. doi: 10.1007/978-3-211-92660-4_6. PMID: 20411769.

Topilko T, Diaz SL, Pacheco CM, Verny F, Rousseau CV, Kirst C, Deleuze C, Gaspar P, Renier N. Edinger-Westphal peptidergic neurons enable maternal preparatory nesting. Neuron. 2022 Apr 20;110(8):1385-1399.e8. doi: 10.1016/j.neuron.2022.01.012. Epub 2022 Feb 4. PMID: 35123655; PMCID: PMC9090132.

Mlinar B, Montalbano A, Piszczek L, Gross C, Corradetti R. Firing Properties of Genetically Identified Dorsal Raphe Serotonergic Neurons in Brain Slices. Front Cell Neurosci. 2016 Aug 3;10:195. doi: 10.3389/fncel.2016.00195. PMID: 27536220; PMCID: PMC4971071.

Krashia P, Martini A, Nobili A, Aversa D, D'Amelio M, Berretta N, Guatteo E, Mercuri NB. On the properties of identified dopaminergic neurons in the mouse substantia nigra and ventral tegmental area. Eur J Neurosci. 2017 Jan;45(1):92-105. doi: 10.1111/ejn.13364. Epub 2016 Sep 11. PMID: 27519559.

18. „188. o.: A FST kiváltotta FOS aktiváció a PACAP KO egerekben 8 területen (BNSTov, BNSTdl, BNSTv, vLS, EWcp, DR, dPAG, lPAG) elmaradt a vad csoporttól, de négy esetben (CeA, MeA, BNSTdm, dLS) nem. Feltűnő, hogy a BNST különböző részei máshogyan reagáltak a stresszhelyzetre. Milyen különbségeket ismer a BNST különböző részeinek hodológiájában, szerkezetében vagy más tulajdonságában, mely indokolja ezt a különbséget?”

Válasz:

Bíráló úr kérdését olvasva felmerült bennem, hogy talán félreérthetően fogalmaztam a megállapítás leírásakor. A kérdésben idézett megállapítás azt fejezi ki, hogy egyes agyterületeken az akut stressz expozíció hatására megjelenő FOS reakció elmarad abban az esetben, ha az állat nem rendelkezik funkcionáló PACAP gén alléllal. Ebben a kísérletben és megállapításban nem a magokat hasonlítottuk össze egymással, hogy azok milyen mértékben reagálnak akut stresszre, hanem azt, hogy miként változik a stresszre adott FOS immunreaktivitás növekedésének mértéke PACAP hiányában az adott magvakban. A kérdésben idézett csoportosítás tehát arra vonatkozik, hogy melyik magokban kisebb a FOS aktiváció PACAP hiányában.

A kérdésre válaszolva, valóban, a BNST dorsomedialis divíziója a mag többi vizsgált divíziójával ellentétben abba a csoportba került, ahol nem jellemző a FOS immunreaktivitás csökkenése a KO állatokban. Ez arra utal, hogy a BNST dorsomedialis divíziójában az

idegsejtek FOS aktivációjára PACAP hiányában is lehetőség van, vagyis, ezen a területen e neuromodulátor szerepe ebben a tekintetben nem jelentős. Ez jól egybevághat azzal, hogy a dorsolaterális területtel ellentétben, ahol egy jelentős PACAP tartalmú rostálózat végződik, a dorsomedialis BNST nem kap jelentős PACAP tartalmú afferenciát (Kozicz és mtsai. 1997), és a PACAP mRNS kifejeződése sem jellemző itt (Lein és mtsai. 2007). A BNST többi vizsgált almagjában a PACAP KO állatokban elmaradt a FOS immunreaktivitás attól, mint amit vad típusú állatoknál figyeltünk meg, ami arra utal, hogy ezekben az idegsejt csoportokban a PACAP szükséges az akut stresszexpozíció után fellépő FOS válasz kialakulásához. Az, hogy e területeken jelentős PAC1 receptor mRNS (*Adcyap1r1*) expresszió van (Lein et al 2007), arra utal, hogy a PACAP moduláló hatásának lehetősége fennáll. További adat ennek alátámasztására az, hogy a BNST ovális, dorsolaterális és ventrális divíziójában sok PACAP tartalmú idegrost végződik (Hannibal et al 2002).

Idézett irodalom:

Lein ES, Hawrylycz MJ, Ao N, Ayres M, Bensinger A, Bernard A, Boe AF, Boguski MS, Brockway KS, Byrnes EJ, Chen L, Chen L, Chen TM, Chin MC, Chong J, Crook BE, Czaplinska A, et al. Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature*. 2007 Jan 11;445(7124):168-76. doi: 10.1038/nature05453. Epub 2006 Dec 6. PMID: 17151600.

19. „189. o.: „Csak a BLA területén volt a FOS jel kismértékben alacsonyabb KO állatokban. Ezek alapján arra következtethetünk, hogy a CeA és a MeA nem játszhat döntő szerepet a megfigyelt viselkedéssel és funkcionális-morfológiai változásokban a PACAP mutáns egerekben.” A centralis amygdala bemenetét legnagyobb részben a BLA jelenti; a centromedialis amygdala pedig az amygdala komplex kimeneti területe. Mivel magyarázza, hogy az afferens információt összegző terület aktiválódik, míg a „válaszó” efferens terület nem?”

Válasz:

Professzor úr által a diszkusszióból idézett megállapításom a disszertáció 72. oldalán található 5.2. számú komplex ábráján alapszik, ahol a szövettani képeken látható, hogy a basolaterális amygdala aktiválódik stressz hatására, hasonlóan a mediális és a centrális magokhoz. A megállapítás itt arra vonatkozott, hogy az aktiváció mértéke némileg kisebb a basolaterális amygdalában endogén PACAP hiányában, ami azt mutatja, hogy a peptid befolyással bír a rendszer kimeneti magjának aktivációjára. Mivel a mediális és a centrális mag aktivitása megtartott, azt feltételezem, hogy a moduláció a BLA területén léphet fel. Ezt támasztja alá, hogy e területen kifejeződik a PAC1 receptor mRNS (Lein és mtsai. 2007), és PACAP tartalmú idegrostok jelenlétét is megfigyelték itt (Hannibal és mtsai. 2002).

Idézett irodalom:

Hannibal J. Pituitary adenylate cyclase-activating peptide in the rat central nervous system: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *J Comp Neurol*. 2002 Nov 25;453(4):389-417. doi: 10.1002/cne.10418. PMID: 12389210.

Lein ES, Lein ES, Hawrylycz MJ, Ao N, Ayres M, Bensinger A, Bernard A, Boe AF, Boguski MS, Brockway KS, Byrnes EJ, Chen L, Chen L, Chen TM, Chin MC, Chong J, Crook BE, Czaplinska A, et al. Genome-wide atlas of gene expression in the adult mouse brain. *Nature*.

2007 Jan 11;445(7124):168-76. doi: 10.1038/nature05453. Epub 2006 Dec 6. PMID: 17151600.

20. „192. o.: Szerző megállapítja, hogy a szerotoninerg rendszert a PACAP hiány befolyásolja. Ismert, hogy a PACAP más biogén aminerg központok működését is befolyásolja?”

Válasz:

Saját eredményeikről ebben a kérdésben nem tudok beszámolni. Irodalmi adatok vannak arra, hogy vad típusú egerekkel összehasonlítva, PACAP KO egerekben kisebb az agy 5-hidroxi-indolecetsav tartalma, ami a szerotonin metabolitja. Az agyban PACAP KO állatban normális a dopamin és metabolitjainak 3,4, dihidroxifenilecetsav (DOPAC) és a homovanillinsav (VMA) mennyisége (Hashimoto 2001). Az agyi adrenalin illetve noradrenalin és metabolitjainak lehetséges változására PACAP hiányában nem találtam irodalmi adatot, de mivel az agyi noradrenerg rendszerben PACAP is található, kézenfekvő, hogy a PACAP modulálhatja e rendszer működését. Valóban, például PACAP tartalmú sejtek az anterior cinguláris kéregből PAC1 receptorok útján befolyásolják a noradrenerg locus coeruleus működését, mely szorongást idéz elő (Nguyen és mtsai. 2024). Egy további példát említenék arra, hogy a PACAP a periférián is befolyásolja a monoaminerg rendszerek működését: a mellékvesevelőben a PACAP mint hatékony pozitív modulátor közvetlenül hat a noradrenalin és adrenalin felszabadulására (Watanabe és mtsai. 1995).

Idézett irodalom:

Hashimoto H, Shintani N, Tanaka K, Mori W, Hirose M, Matsuda T, Sakaue M, Miyazaki J, Niwa H, Tashiro F, Yamamoto K, Koga K, Tomimoto S, Kunugi A, Suetake S, Baba A. Altered psychomotor behaviors in mice lacking pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP). Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Nov 6;98(23):13355-60. doi: 10.1073/pnas.231094498. Epub 2001 Oct 30. PMID: 11687615; PMCID: PMC60875

Nguyen TT, Hashiguchi K, Waschek JA, Miyata A, Kambe Y. The pivotal role of PACAP/PAC1R signaling from the anterior insular cortex to the locus coeruleus on anxiety-related behaviors of mice. Neurochem Int. 2024 Oct 11:105879. doi: 10.1016/j.neuint.2024.105879. Epub ahead of print. PMID: 39396708.

Watanabe T, Shimamoto N, Takahashi A, Fujino M. PACAP stimulates catecholamine release from adrenal medulla: a novel noncholinergic secretagogue. Am J Physiol. 1995 Nov;269(5 Pt 1):E903-9. doi: 10.1152/ajpendo.1995.269.5.E903. PMID: 7491942.

21. „193. o.: „A megnövekedett Ucn1 mRNS a változatlan EWcp/UCN1 peptidtartalommal társulva fokozott UCN1 felszabadulásra utalhat” – ez egy spekulatív kijelentés. Nem egyszerűen arról van szó, hogy fehérjeszinten metodikai korlátok miatt nem sikerült kimutatni változást?”

Válasz:

Elfogadom Professzor Úr álláspontját, hogy nem tudjuk egyértelműen bizonyítani azt, hogy több, vagy kevesebb UCN1 peptid ürül ki a sejtekből. Ezért is fogalmaztam feltételes módban. Valóban állhatnak metodikai korlátok a negatív adat hátterében, de az EWcp UCN1 immunreaktivitás értékelése kapcsán modelljeinkben sokszor sikerült a peptidtartalom

változását kimutatni. Ezek közül néhány példát hoznék, melyek láthatók a disszertációban az 5.13D, 5.23A, E, G, 5.33 BE, 5.54., 5.55, 5.62, 5.72A, B 5.74F ábrákon.

22. „200. o.: „A hangulatszabályozásban kiemelt jelentőségű PFC területén látott összetett, a fluoxetin terápia által modulált funkcionális-morfológiai változások bizonyítják a régió érintettségét és támogatják a modell megbízhatóságát”. Emberben a prefrontális kéreg mely területével vetné össze eredményeit? Miért?”

Válasz:

A rágcsáló és emberi agy összevetése a homloklebény kapcsán nem könnyű, és az irodalomban is sok ellentmondásos leírás található ebben a kérdésben. A (dorso)laterális granuláris prefrontális kéreg, mely főemlősben, emberben a bonyolult kognitív funkciókhoz kötött, nem található meg rágcsálókban (Preuss, 1995), ezért az is felmerül, hogy egyáltalán nem is lehet az emberi prefrontális kéreg az egerekével érdemben párhuzamba állítani. Ennek ellenére, a prefrontális kéreg mediális részét, amely magában foglalja rágcsálókban a gyrus cingulinak megfelelő 1-es (Cg1) és 2-es (Cg2) áréákat, a prelimbikus (PrL) és infralimbikus (Il) területeket, gyakran tekintik az emberi elülső cinguláris kéregnek megfelelő régióknak, mely a genu corporis callosit veszi körül félkörívben. Vizsgálataink során, ahogy azt jelöltük a disszertáció 5.26. és 5.27. ábráján is, a rágcsálókban gyakran prelimbikus és infralimbikus régióknak nevezett területén végeztük el. Ezek a régiók, tekintettel a corpus callosum főemlősben erősebb görbületére, megfeleltethetők az angol terminológiában emberben pregenual anterior cingulate cortex-nek illetve a subgenual anterior cingulate cortex-nek, melyek a 32-es illetve a 25-ös számú Brodmann áréakkal is leírhatók (Laubach és mtsai. 2018).

Idézett irodalom:

Preuss T (1995) Do rats have prefrontal cortex? The Rose-Woolsey-Akert program reconsidered. J Cogn Neurosci 7:1–24. 10.1162/jocn.1995.7.1.1

Laubach M, Amarante LM, Swanson K, White SR. What, If Anything, Is Rodent Prefrontal Cortex? eNeuro. 2018 Oct 25;5(5):ENEURO.0315-18.2018. doi: 10.1523/ENEURO.0315-18.2018. PMID: 30406193; PMCID: PMC6220587.

23. „204. o.: „A modellben eddig nem vizsgált régiók tanulmányozása további olyan agyterületek vagy idegsejthálózatok azonosításához vezethet, amelyek hozzájárulnak a hangulatzavarok összetett neurobiológiájához.” Mire gondol itt a szerző? Mely idegsejthálózatban várna változásokat, mit vizsgálna először?”

Válasz:

A nucleus accumbens területén végeztünk néhány sejtszámlást, de nem volt arra lehetőségünk, hogy a cholinerg neuronok működését alaposan megvizsgáljuk a modellben. A locus coeruleus vizsgálata is érdekes lehet a noradrenerg rendszer működése szempontjából. Habár a szerotonerg rendszert vizsgáltuk, nem a DR az egyetlen, melynek szerepet tulajdonítanak a hangulatszabályozásban, mert érdekes lenne a nucleus raphe medianus vizsgálata is. A tágabb értelemben vett amygdala esetében a CRH rendszerekre koncentráltunk, de ott az enkephalinerg rendszer vizsgálata is érdekes lenne, mert sok irodalmi adat utal e sejtek szerepére a hangulatzavarok kialakulásában. Hasonlóan, a BNST területén is a CRH neuronokra koncentráltunk. Ott is vannak egyéb peptideket tartalmazó sejtcsoportok (enkephalin, CART), amelyek működését érdemes lenne vizsgálni.

A modellben fluoxetin terápiát alkalmaztunk, de felmerül az a kérdés is, hogyan működik a modell ketamin kezelés mellett, melynek gyors antidepresszáns hatást tulajdonítanak. A szer

hatásának vizsgálata segíthetne meghatározni, hogy mely funkcionális rendszerek működése változik meg ekkor, és hogy melyek vesznek részt a gyors antidepresszáns hatás kialakításában. A Parkinson-kór modellben láttuk a neuroinflammáció jelentőségét. Érdeemes lenne feltérképezni a három találat elmélet modellben az agyban a gliasejtaktivációt, az M1 és M2 típusú mikroglia arányát. Ez a megközelítés olyan területeken bekövetkező változásokat is felhívhatja a figyelmet, amelyre nem is gondolunk, hogy esetleg szerepet játszik a hangulatszabályozásban, vagy az eddig alkalmazott módszerekkel nem láthattuk meg, hogy változások lépnek fel itt.

24. „206. o.: „Ez arra utal, hogy bár a FOS és a CORT önmagukban megbízható indikátorai a stresszreakciónak, a FOS aktivitás önmagában nem informatív a HPA tengely aktivitásának tekintetében.” Ez egy erős kijelentés. Számos korábbi stresszel kapcsolatos munka a paraventricularis magban történt CRH/cFos sejtszám emelkedést a tengely aktiválódásaként értelmezte. Árnyalja/megkérdőjelezi szerző megfigyelése ezeket a korábbi eredményeket? Vagy arra gondol, hogy nem detektálható cFos mellett is lehet tengelyaktiváció? (ld. később: ” ... a hypophyseotrop CRH neuronok nem feltétlenül tartalmaznak kimutatható mennyiségű FOS-t, annak ellenére, hogy emelik a HPA tengely aktivitását”)”

Válasz:

Az a véleményem a FOS, mint aktivációs marker megbízhatóságáról a PVN esetében, hogy ha látjuk a sejtekben és az valóban a CRH neuronokban van, akkor az HPA tengely aktivációt jelenthet. Azt viszont fontos tekintetbe venni, hogy nem minden CRH neuron hypophyseotrop a PVN-ben, tehát más rendszerek aktivációját is láthatjuk, melyek a lateralis hypothalamus, a BNST-be vagy a törzsdúcokba vetülnek (Rajamanickam és Justice 2022). Abban az esetben, ha nem látjuk a PVN CRH neuronokban a FOS jelenlétét, az még nem feltétlenül jelenti azt, hogy a sejtek nem szabadítanak fel több CRH-t az eminentia mediana-ban (Aguilera és Liu 2012), és a HPA tengely inaktív marad.

Mivel mi nem találtunk korrelációt a kor előrehaladtával csökkenő akut stresszre adott PVN FOS válasz és a lényegében konstans CORT válasz között, az a véleményem, hogy főleg idősebb kísérleti állatok alkalmazása esetén nem elég megbízható indikátor a FOS. A FOSB-t (akut modellben a full length variáns) megbízhatóbb indikátornak gondolom, különösen, ha egy idősebb állatokat vizsgáló akut stresszkísérletet végzünk.

Idézett irodalom:

Rajamanickam S, Justice JN Hypothalamic corticotropin-releasing factor neurons modulate behavior, endocrine, and autonomic stress responses via direct synaptic projections Volume 26, October 2022, 100400 <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2022.100400>

Aguilera G, Liu Y. The molecular physiology of CRH neurons. Front Neuroendocrinol. 2012 Jan;33(1):67-84. doi: 10.1016/j.yfrne.2011.08.002. Epub 2011 Aug 18. PMID: 21871477; PMCID: PMC4341841.

25. „Ugyanitt: „Ezek közül három magban (CeA, BNSTfu, és PVNp) a korrelációanalízis is bizonyította a korfüggő sejtszámcsökkenést, mely azt sugallja, hogy a PVNp korfüggő FOS immunreaktivitás változását a CeA és BNSTfu FOS reaktivitásának hanyatlása is

magyarázhatja.” Nem látom az ok-okozati összefüggést ebben a mondatban; mire gondol itt a szerző, mivel látja igazoltnak ezt a feltételezést?”

Válasz:

A kritizált mondat tartalmát illetően nem látom az álláspontomat egyértelműen kísérletesen igazoltnak, ezért használtam a „sugallta” és „is magyarázhatja” megfogalmazást. A gondolatmenetet alátámasztják olyan adatok, amelyekre van bizonyíték, de az ok-okozati összefüggést nem vizsgáltuk. Azt viszont tudjuk, hogy a CeA, BNSTfu fontos afferens rendszerek a PVN felé, és amennyiben működésükben, aktivitásukban váltázás történik, akkor az a PVN aktivitás változásában is megnyilvánulhat. Mivel a három mag stresszre adott FOS válasza életkorfüggést mutat hasonló dinamikával, úgy tűnik, hogy köztük ez valamiféle funkcionális kapcsolatot állhat fenn.

26. „Ugyanitt: „Mindezek alapján arra következtethetünk, hogy a MeA, BNSTov, BNSTdl, BNSTdm, BNSTv kisebb mértékben járulnak hozzá a korral bekövetkező változásokhoz, így szerepük fontosabb lehet a HPA tengely válaszában fenntartásában, idősebb korban”. Milyen változáshoz? Az ok-okozati összefüggést, annak bizonyítottságát itt sem látom.”

Válasz:

Elismerem, hogy helyesebb lett volna ebbe a mondatba beleírni, hogy itt az életkor előrehaladtával csökkenő PVN FOS válaszról és annak a HPA tengely működésének megtartottságával való szembeállításáról van szó. Itt arra gondoltunk, hogy, mivel ezek a magok befolyásolják a PVN működését, végül hozzájárulhatnak a HPA tengely működésének megtartottságához, mert még idős korban is aktiválódnak. Ismét teljes mértékben egyetértek Bíráló Úrral, hogy nincs ok okozati összefüggés, de tudatosan a feltételes módot alkalmazva ezt nem is állítottam, hanem ennek lehetőségét vettem fel csupán.

Még egyszer nagyon köszönöm Professzor Úr munkáját!

Tisztelettel,

Pécs, 2024. október 26.



Gaszner Balázs

Anatómiai Intézet
Általános Orvostudományi Kar
Pécsi Tudományegyetem