



Bírálat dr. Párdutz Árpád „A szenzitizáció migrénben és állatkísérletes modelljeiben” című
MTA-doktori értekezéséről

Formai értékelés és megjegyzések

A doktori mű 159 oldal terjedelmű: 11 oldalas bevezetés, 1 oldalas célkitűzések, 96 oldalas eredményleírás, 2 oldalas összegzés, 9 oldalas rövidített módszertani leírás. Ehhez jön a doktori mű alapját képező saját közlemények listája (2 oldal) és a 664 tételt tartalmazó irodalomjegyzék. Az értekezés a tudományos disszertációk szokásos formai követelményeinek alapvetően megfelel. A szerző az eredmények leírásába illeszt be minden kísérletsorozat esetében egy rövid bevezetést, módszertani leírást és megbeszélést. Sajnálatos módon ebből adódóan a módszertani leírások sok esetben feleslegesen ismétlődnek. Az általános, az összes eredmény bemutatása utáni diszkusszió nagyon rövid, mindössze 2 oldalas, és ennek nagyobb része is pontokba szedett összefoglalása a főbb eredményeknek. Ebből adódóan hiányoltam egy folyó szövegben kifejtett, részletesebb megbeszélést.

A doktori mű témaválasztása, fontosabb eredményei és értékelése

Az értekezés témaválasztása korszerű. Bár a migrén farmakoterápiája látványosan fejlődött az utóbbi évtizedekben, sok olyan kérdés mindmáig tisztázatlan, amelyek megoldása tovább javíthatja a migrénkezelés hatékonyságát. Az értekezés állatkísérleteken alapul, amelyekben a migrénnel kapcsolatos trigeminális szenzibilizáció és aktiváció vizsgálata történt különböző állatkísérletes modellekben. A vizsgálatok fókuszában álló kaudális trigeminális mag (TNC) kritikus fontosságú elem a trigeminális afferenciában, így vizsgálata mindenképpen indokolt. A kísérletek zömében immunhisztokémiai módszerekkel, illetve western blot segítségével történt a TNC aktivációjának a vizsgálata.

Az értekezés elején a szerző 10 oldalas bevezetésben áttekintést ad a perifériás és centrális nociceptor-szenzibilizációról, valamint a migrén patomechanizmusáról és egyéb, klinikai aspektusairól. Ezt követi a célkitűzések felsorolása. A szerző által legrészletesebben vizsgált modell a patkányban s.c. adott nitroglicerinnel (NTG) értágító és trigeminális aktiváló/szenzibilizáló hatásain alapul. Ebben a modellben sikerült kimutatni, hogy NTG

hatására szelektíven fokozódik a TNC területén található másodlagos trigeminális neuronok nNOS expressziója. Ez egy helyi önerősítő folyamatot hozhat létre, mely magyarázatot adhat a NTG okozta migrénes fejfájás nagyobb latenciájára, és a rohamok kapcsán jelentkező centrális szenzibilizációs jelenségek modellje lehet. A NTG a CamKII expresszióját is megemelte a TNC területén, mely enzim kulcsszerepet játszik a glutamáterg neurotranszmisszió szabályozásában. Ezen túlmenően az NTG megemelte mind a TRPV1-receptor, a COX-2 enzim és a NF- κ B transzkripció faktor expresszióját a TNC területén, melyek mind a gyulladásos folyamatokban és nociceptív működésben szerepet játszó faktorok. A szisztémás NTG adás lecsökkentette a CGRP expresszióját, ami transzmitterfelszabadulás, és ezáltal a trigeminális rendszer aktivációjának jele lehet. Ezzel ellentétben az 5-HT- pozitív rostok mennyisége a TNC területén megemelkedett. A NTG lecsökkentette a kinurenin útvonal enzimeinek expresszióját a TNC-ben, mely összességében elsősorban a kinurénsav (KYNA) csökkenését okozta. Emiatt feltételezhető, hogy az endogén antiglutamáterg hatás mérséklődése is szerepet játszhat a trigeminális szenzibilizációs folyamatok felerősödésében. Összességükben ezek az adatok mint a trigeminális aktiváció, illetve szenzibilizáció következményei értékelhetők, megerősítve, hogy az NTG-adáson alapuló kísérletes migrénmodell jó validitású.

Egy másik, az orofaciális formalin alkalmazásán alapuló migrénmodellben a szerző a TNC területén c-fos és nNOS emelkedést detektált, ami releváns az aktivációs és szenzibilizációs jelenségek szempontjából. A harmadik modellben a trigeminális ganglion elektromos ingerlését követően is c-fos emelkedést talált az ipsilaterális TNC területén, ami szintén jelzi a trigeminális aktivációt. A negyedik modellben a dura mater nociceptorainak „inflammatory soup” (IS) révén történő kémiai ingerlését követően szintén fokozódott a c-fos expresszió a másodlagos trigeminális nociceptorokban. Ezen kívül a TNC-ben a CGRP, TRPV1 és nNOS kifejeződése is növekedett, jelezve az aktivációs és szenzibilizációs folyamatokat. A fenti eredmények egybehangzóan mutatják, hogy a különböző módokon kiváltott trigeminális aktiváció számos olyan marker expressziójának a változását eredményezi, amelyek mai tudásunk szerint fontos játszhatnak a migrénes fejfájás kialakulásában.

A szerző a továbbiakban a fent említett migrénmodellekben modulációs hatásokat vizsgált. Az NTG-modellben igazolta a COX-2 enzim, de nem a COX-1 enzim, közvetítő szerepét. A gonadális hatások vizsgálata során a krónikus ösztadiolkezelés kivédte a NTG okozta változásokat a 5HT, a CGRP és a CamKII tekintetében. Ezzel ellentétben az orofaciális formalin tesztben az ösztadiol fokozta a TNC c-fos expresszióját és a nociceptív viselkedésmintázatot. Ez alapján arra lehet következtetni, hogy az ösztadiol hatása a trigeminális fájdalomra jelentősen függ a stimulus jellegétől.

A glutamátantagonista KYNA magasabb koncentrációja a központi idegrendszerben vagy a KYNA-analógok alkalmazása kivédte a NTG okozta változásokat, ami arra utal, hogy befolyásolja az aktivációs és szenzibilizációs mechanizmusokat a trigeminális rendszerben. A KYNA képes a migrénben fontos szerepet játszó kérgi kúszó depresszió (CSD) kialakulását fékezni. A szerző ezt a hatást nőstény állatokban kifejezettebbnek találta, ami a nemi hormonok szerepére utal. Mind a KYNA, mind a szumatriptán kivédte a durális IS-kezelés okozta változásokat az aktivációs és szenzitivációs markerek tekintetében (CGRP, TRPV1 és nNOS). A kannabinoidok modulációs hatását illetően a kannabinoid CB-receptor-agonista anandamid csökkentette a NTG okozta szenzibilizációs marker (TRPV1, nNOS, NF- κ B, COX2 és KATII) változásokat a TNC-ben. Az anandamid képes modulálni a szerotonintranszporter expresszióját a NTG modellben: önmagában adva megemeli a transzporter expresszióját, de a NTG-el kombinált kezelés érdekes módon csökkent transzporter-expressziót eredményezett.

Összességében elmondható, hogy a szerző értékes adatokat szolgáltatott a trigeminovaskuláris rendszer aktivációjára és szenzibilizációjára vonatkozóan. Megítélésem szerint Párdutz Árpád fentiekben összefoglalt eredményei jelentősek, és érdemben gyarapítják ismereteinket a trigeminovaskuláris rendszer működéséről. Kísérleti eredményeinek gyógyszerfejlesztési szempontból is lehet relevanciája új típusú migrénelenes szerek fejlesztésének vonatkozásában. A doktori mű szövege jól követhető, de egyben olvasmányos is. Kiemelendő a szerző rendkívül precíz fogalmazásmódja. A doktori mű ábraanyaga bőséges, az ábrák jó minőségűek. Kiemelendő pozitívum, hogy a szerző az összes ábra feliratát magyarosította, ami igen jelentős többletmunka volt. Hasonlóan kiemelendő a szerző kiváló szakirodalmi tájékozottsága, amit a 664 irodalmi hivatkozás is igazol. Helyesírási hiba alig fordul elő a szövegben.

Új, fontos eredményként a szerző alábbi téziseit fogadom el.

1. A NTG szisztémás adása patkányokban szelektíven fokozza a TNC területén található másodlagos trigeminális neuronokban az nNOS, a CamKII, a TRPV1, a COX-2 és NF- κ B expresszióját. Ezen túlmenően lecsökkenti a CGRP-expressziót mutató rostok által fedett területet és a boutonok méretét a TNC területén, illetve gátolja a kinurenin útvonal enzimeinek expresszióját a TNC-ben, mely összességében elsősorban KYNA-csökkenést okoz.
2. Az orofaciális formalinmodelben a TNC területén fokozódik a c-fos és nNOS expressziója.
3. A TG elektromos ingerlését követően is fokozódik a c-fos expressziója az ipszilaterális TNC területén.

4. A dura mater nociceptorainak IS-sel történő kémiai ingerlése fokozza a c-fos expresszióját a TNC-ben. Ezen kívül növeli a CGRP, TRPV1 és nNOS kifejeződését is.
5. A COX-2 gátlása kivédi a NTG okozta nNOS és CamKII változásokat a TNC-ben, míg a COX-1 gátlása és a szumatriptán-előkezelés nem.
6. A TNC expressziós mintázat változásai alapján az ösztadiol hatása modelfüggőnek bizonyult: kivédi a NTG okozta változásokat a 5-HT, a CGRP és a CamKII vonatkozásában, de az orofaciális formalintesztenben fokozza a c-fos expresszióját.
7. A glutamátantagonista hatású KYNA magasabb koncentrációja a központi idegrendszerben vagy a KYNA-analógok alkalmazása kivédi a NTG okozta expressziós változásokat.
8. A glutamátantagonista KYNA képes a migrénben lényeges szerepet játszó CSD kialakulását – nőstény állatokban kifejezettebben – mérsékelni. Mind a KYNA, mind a szumatriptán sikeresen kivédi a durális IS-kezelés okozta változásokat a CGRP, TRPV1 és nNOS vonatkozásában.
9. A CB-receptoragonista anandamid gátolja a NTG okozta szenzibilizációs marker (TRPV1, nNOS, NF- κ B, COX-2 és KATII) változásokat a TNC-ben. Az anandamid önmagában adva megemeli az 5HTT expresszióját, de a NTG-vel kombinálva ellenkező hatású.

Kritikai megjegyzések és kérdések

- 1./ A doktori mű címe két szempontból sem szerencsés. Egyrészt indirekt módon humán vizsgálatokra utal (A szenzitizáció migrénben (*ami humán betegség*) és állatkísérletes modelljeiben), holott ilyenek nem történtek. Másrészt a cím csak a szenzibilizációra korlátozódik, noha a szerző trigeminális aktivációs folyamatokat is vizsgált. Amúgy a szerző által konzekvensen használt „szenzitizáció” szó – bár nagyon elterjedt fordítás a hazai szóhasználatban – nem hivatalos: „szenzibilizáció” a helyes az Akadémiai szótár szerint. Jobb cím lehetett volna pl.: A nociceptív szenzibilizáció és aktiváció vizsgálata a migrén állatkísérletes modelljeiben.
- 2./ Az értekezés jelentős részét képező immunhisztokémiai vizsgálatok leírása kisse redundáns, főleg a metodika vonatkozásában. Célravezetőbb lett volna, ha a szerző az adatokat integratívabban, egy egységként kezelve mutatta volna be. Hasznos lett volna egy összefoglaló táblázat a vizsgált migrénmodellek okozta expressziós mintázatváltozásokról.
- 3./ A szerző szerint az elsőként azonosított receptor, amely algogén ágensek hatását közvetíti, a TRPV1 (7. oldal, 3. bekezdés). Számos más receptort, pl. a potens fájdalomkeltő bradikinin receptorait már jóval korábban klónozták.

- 4./ A szerző sok helyen említ molekulát (pl. a 16, 17. oldalon), ahol a vegyület szó helyesebb lenne.
- 5./ A 17. oldalon a 2. bekezdésben a guanilat-cikláz mint az NO receptora kerül említésre. Helyesen az NO célmolekulájáról van szó (az enzimeken levő kötőhelyeket nem tekintik receptoroknak; lásd „The concise guide to pharmacology”, rendszeresen aktualizálva a British Journal of Pharmacology folyóiratban).
- 6./ Több állatkísérlet leírásában a szolvenssel történő kezelést placebónak nevezi a szerző. Ismereteim szerint a placebo csak a humán vizsgálatok terminológiájában használatos. A szolvens vagy a vehikulum szó helyesebb lett volna.
- 7./ A 22. oldalon a 2. bekezdésben a szerző nNOS felszabadulásáról beszél. Nem inkább a lebontásáról van szó?
- 8./ A 20. oldalon a 3.1.1 pontban 2000-es saját publikáció adatait említi a szerző. Ezen pont általános bevezetőjében a 19. oldalon azonban 2000 utáni, más szerzők által közölt adatokat találunk, amelyek értelemszerűen „lerontják” a saját adatok jelentőségét. Helyesebb lett volna csak annyit említeni előzetesen, ami a vizsgálatok idején (azaz 2000 előtt) már ismert volt, és az újabb, támogató adatokat a saját eredmények diszkussziójában megemlíteni.
- 9./ Mit ért a szerző azon, hogy a glutamát gyorsan felszabaduló transzmitter (8. oldal utolsó bekezdés)? Más transzmitterek lassabban szabadulnak fel?
- 10./ A bradikinin nem tárolódik, így nem tud felszabadulni. A 9. oldal alján a „képződő” bradikinin lenne a helyes szó.
- 11./ A PGE2 helyes írásmódja PGE₂.
- 12./ A szerző nem definiálja a cluster típusú fejfájást.
- 13./ A 23., illetve a 39. ábra nem hisztogram, hanem oszlopgrafikon.
- 14./ A 24. ábrán (40. oldal) a kétféle szimbólum leírása nem helyes (kontroll versus injekció), hiszen a sóoldatot is injekcióban adták.
- 15./ Nem világos az olvasó számára, hogy a 41. oldal alján levő hosszas eszmefuttatás a különböző agyi struktúrákról milyen kapcsolatban van a trigeminális ingerléssel. Akár egy mondat beiktatásával, akár a fejezetcím kiegészítésével az elkerülhető lett volna.
- 16./ Az 57. oldalon az anyagok között említett lizil-ASA hatásmódja nincs megemlítve.
- 17./ A COX-gátlókkal végzett kísérletek eredményeinek az újdonságát csökkenti az a tény, hogy az NSAID-ok régóta használatosak a migrénes fejfájás kezelésére, igazolva a prosztaglandinok közvetítő szerepét. Helyesebb lett volna ezeket az adatokat a NTG modell validációjaként diszkutálni.
- 18./ Miért a koleszterol volt a béta-ösztadiol kontrollja?

19./ A 79. oldalon a 2. bekezdésben az áll, hogy „a tartósan magas ösztrogénszint, a többi nemi hormon hatását kiiktatva, pronociceptív az orofaciális formalin modelljében”. Mire alapozza a szerző ezen állítását, mivel más hormonok vizsgálata nem történt? Ugyanezen a helyen említi a szerző az anocetamint, de nem említi mibenlétét.

20./ A szerző több helyen mechanikus hiperalgéziát említi a mechanikai helyett. Hasonlóképpen a termikus hiperalgéria helyett a termális hiperalgéria kifejezés helyesebb lett volna.

21./ A 4.8. pont címében kétszeresen is pontatlan a fogalmazás: egyfelől a „kialakulásában” szó helyett „kialakulására” írandó, másrészt nemi hormonok adása nem történt, csak a nemek összehasonlítása. Így csak indirekt módon lehet következtetni a nemi hormonok szerepére.

22./ A 102. oldalon a szerző a címben említi az anandamidot, de csak jóval lejjebb definiálja ezt az ágenst. Ebben a részben a szerző azt állítja, hogy a kannabinoidreceptorok a központi idegrendszerben találhatóak meg, de pár sorral lejjebb lehetséges lokalizációként említi a ganglion trigeminalet.

23./ A szerző nem említi, hogy az anandamid a TRPV1-et csak magasabb koncentrációban képes aktiválni. Ennek megfelelően a TRPV1 ionotróp kannabinoidreceptorként való említése nem teljesen elfogadott a szakirodalomban. Továbbá mit jelent az a mondat, hogy „az anandamid gátolja a CGRP és az NO indukált durális vazodilatációt pre- és posztzinaptikus támadásponttal?

További kérdések a doktori művel kapcsolatban

1./ Az endotelfüggő vazodilatációt közvetítő receptorok általában G_q-proteinhez kapcsolódnak. Pl. az acetilkolin M₃ receptora, a bradikinin B₁ és B₂ receptora, a H₁ hisztaminreceptor. Ezeknél az endoteliális Ca²⁺-koncentráció növekedése vezet a NOS aktivációjához. Milyen endoteliális jelátviteli út lehet a CGRP G_s-proteinhez kapcsoló receptor által közvetítette értágulat hátterében?

2./ A 7. oldal utolsó bekezdésében a szerző komoly szerepet tulajdonít a szerotoninnak a fájdalom kialakulásában és fenntartásában. Milyen adatok támasztják alá ezt, figyelembe véve, hogy a szerotoninantagonistákat nem használják analgetikumként.

3./ Miért nem történt meg a guanilat-cikláz gátlójának vizsgálata a nitroglicerint alkalmazó kísérletekben annak bizonyítására, hogy tényleg az NO felelős a nitroglicerinnel történő hatásaiért?

4./ A c-fos fehérje mint neuronális aktivációs marker szerepe jól ismert. Van-e adat a nNOS hasonló funkciójára vonatkozóan a trigeminovazodilatációs rendszeren kívül?

5./ A CGRP-re vonatkozóan miért nem volt vizsgálat korábbi időpontban a formalin adása után?

6./ A szerző több esetben ANOVA-t használt a statisztikai analízishez. Egyes kísérletsorozatokban valamely post hoc teszttel történt a páronkénti összehasonlítás, máskor t-próbával. Mi indokolja ezt a különbséget?

7./ Mi a mechanizmusa a kérgi kúszó depresszióknak (CSD)? Mi magyarázhatja, hogy kiváltásához extrém magas, 1 mólos (!) K-koncentráció szükséges? Hogyan aktiválja a CSD a trigeminális nociceptorokat?

8./ Az open-field teszt tekinthető-e a nocicepció vizsgálati módszerének?

9./ Előfordulnak-e kannabinoidreceptorok a trigeminális neuronok perifériás végződéseiben? Lehet-e szerepük az anandamid kimutatott hatásaiban?

10./ A szerző által használt módszerek valamelyikében lehetséges-e a trigeminális aktiváció és szenzibilizáció elkülönítése?

11./ A 64. oldalon a szerző említi, hogy a szumatriptán hatástalansága (az NTG-modellben az nNOS expresszió tekintetében) annak is lehet a következménye, hogy a szer rosszul penetrál a központi idegrendszerbe. Nem szólnak ezen hipotézis ellen a szerző 66. oldalon bemutatott saját eredményei, miszerint az IS-modellben a szumatriptán-előkezelés gátolta a CGRP, TRPV1 és nNOS expressziót a TNC területén?

A fentiekben felsorolt kritikai megjegyzéseim nem érintik a dolgozat fő állításainak és következtetéseinek a validitását. A számos megjegyzés ellenére meg vagyok győződve arról, hogy a jelölt értékes munkássággal rendelkezik, és az írásmű megfelel az MTA doktori disszertáció formai és tartalmi követelményeinek. A doktori műben felsorolt eredményeket hitelesnek és az MTA doktora cím megszerzéséhez elegendőnek tartom, a doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak tartom.

Pécs, 2024. augusztus 6.



Dr. Pethő Gábor

egyetemi tanár

az MTA doktora

