

## Opponensi vélemény

**Dr. Garami András "A testhőmérséklet-szabályozás mechanizmusai egészségben és szisztémás gyulladásban: tranzien receptor potenciál ioncsatornák és endogén molekuláris mediátorok szerepe " című MTA Doktori értekezéséről**

Dr. Garami András MTA doktori értekezése közel két évtizedes kutatómunkájának összefoglalása a szervezet fiziológias és részben patológias hőszabályozásával összefüggő folyamatokról. A vizsgálatokban dominálnak a termoszenzitív TRP csatornák (elsősorban a TRPV1 és emellett a TRPM8 és TRPA1 receptorok szerepével kapcsolatos vizsgálatok). Mellettük a hőmérsékletszabályozás patológias körülményei között, fertőzésekben, lázas állapotban további tényezők szerepét is vizsgálta. „Melegvérű” állatoknál (és az embernél is) a testhőmérséklet igen fontos, önmagában is komplex homeosztatisz szabályozás alatt áll, emellett összefügg számos egyéb ugyancsak szabályozott paraméterrel, mint pl. a fizikai aktivitás, táplálékfelvétel (és tárolás) stb. A szabályozás köreinek afferens ágához számos perifériás és centrális érzékelő/mechanizmus járulhat hozzá, továbbá a termoeffektor folyamatok is sokrétűek: autonóm effektorok és viselkedési tényezők összehangolt működése biztosítja a maghőmérséklet állandóságát, adott esetben megváltozását.

Így érthető, hogy a kérdések tanulmányozása is komplex módszertani eszköztárat igényel, aminek kifejlesztése és átgondolt alkalmazása volt szükséges ahhoz, hogy a szabályozás egyes elemeinek szerepéről részletekbe menő pontos képet kapjunk különböző fiziológias és patológias állapotokban.

A dolgozat 15 eredeti tudományos közleményre épül, a jelölt ezek közül 10-ben szerepel kiemelt, első vagy utolsó helyen. Ezen kívül 3 metaanalízis, 2 összefoglaló közlemény és 2 könyvfejezet kapcsolódik a disszertáció anyagához. A jelölt hivatalos tudományometriai paraméterei jóval meghaladják az MTA doktori fokozat megszerzéséhez szükséges határokat: összesen 84 eredeti, idegennyelvű folyóiratban megjelent közleményt publikált (közülük 40 matanalízis). Összesített IF-a az utóbbiakkal együtt 376, melyekre 2500 független és összesen 2900 idézettséget kapott. H indexe 30-as.

Magára az értekezésre rátérve, az írásmű 216 számozott oldalból áll, az előírásoknak megfelelően tagolt, áttekinthető, gondolatmenete jól követhető. Formai szempontból kifogástalan, mindenben megfelel az MTA Doktori Értekezéssel szemben támasztott követelményeknek.

A *Bevezetés*ben röviden áttekinti és rendszerezi a hőháztartással kapcsolatos korábbi és jelenleg elfogadott fiziológias szabályozási mechanizmusokat. Bemutatja a hőmérsékletszabályozási folyamatok afferentációjában potenciálisan szerepet játszó TRP csatorna családot kiemelve elsősorban a TRPV1-et, emellett TRPM8-at és TRPA1-et. *Talán itt érdemes lett volna említést tenni olyan további mechanizmusokról (mint pl. a K<sub>2P</sub> csatornák néhány képviselője: TREK1, TRAAK), melyek szerepe ugyancsak felmerült a hőháztartás szabályozásának folyamatában.*

Felsorolja és összehasonlítja a szervezet különböző termoeffektor mechanizmusait/lehetőségeit és rámutatva arra, hogy ezek aktiválása gyakran szimultán történik, de esetenként a szabályozásban más regulációs körök dominálnak.

A fiziológias szabályozási mechanizmusok bemutatását követően egy olyan állapotot jellemez, a szisztémás gyulladást, melynek egyik fontos ismérve a hőháztartás zavara/megváltozása. A gyulladós folyamat számos olyan elemét bemutatja, melyeket -mint a hőháztartással is kapcsolatba kerülő tényezőket- a későbbi, kísérletes munkák során.

A *Célkitűzések*, fejezet röviden összefoglalja a kutatás kérdéscéljait

az *Anyagok és Módszerek* fejezet igen hasznosan részletezi az alkalmazott technikákat, rámutat az egyes mérési felállások közötti eltérésekre, amik az eredmények

bemutatásánál és értelmezésénél fontos szerephez is jutnak. *Mindazonáltal az eredmények fejezetben néhol nem éreztem megfelelően megindokoltnak pl. a Tm meghatározásra alkalmazott módszer típusának kiválasztását. Hacsak nem arról volt szó, hogy pl. a -nyilván- eszközigenyesebb telemetriás mérési lehetőség az adott vizsgálatok elvégzésének idején nem állt rendelkezésre.*

A dolgozatot az **Összefoglalás**, a 447 közleményt tartalmazó Irodalomjegyzék, a **Saját közlemények** listája végül a **Köszönetnyilvánítás** zárja.

**A disszertációban összegzett munkák a szervezet** hőszabályozásával kapcsolatos ismereteinket számos vonatkozásban jelentősen bővítették. Az **Eredmények** rész egyes alfejezeteinek megfelelően sorolnám fel a jelölt véleményem szerint a legfontosabb új eredményeit.

1. A TRPV1 szerepet játszik fiziológus környezeti körülmények között a testhőmérséklet beállításában. Ezt mind farmakológias, mind gén-deletált állatokon folytatott kísérletekkel alátámasztották. A TRPV1 farmakológias aktiválása csökkenti hiánya vagy gátlása növeli a lokomotoros aktivitást. E hatások fiatal korban jellemzőek, de idős/nagyobb testtömegű állatban ellentétjére változnak. Ugyancsak korfüggőnek bizonyult hipotermiát eredményező súlyos szisztémás gyulladási reakcióban a TRPV1 hiánya vagy gátlása a túlélésre.

2. Kimutatta, hogy a hőszabályozási folyamatokban az abdominális terület lévő TRPV1 csatornák vesznek részt. Hipertermizáló TRPV1 antagonistákról kimutatták, hogy e hatásuk a hasizmokat beidegző afferensek területen érvényesül és az információ továbbításáért gerincvelő dorsolateralis funicululusában futó pályák a felelősek.

3. Igen fontos eredménynek tartom, annak kimutatását, hogy a TRPV1 antagonisták kisebb hányadát képviselő hipotermiát okozók drogok (AMG7905 és A-1165901) gátolják ugyan a vanilloid típusú aktivációt, de potenciózzák a proton aktivációt, tehát hatásuk disszociál a csatorna aktivációs módjaitól függően.

4. A TRPV1 hiánya nem befolyásolja a hőterhelésre adott korrekciós választ, ellenben extrém hidegterhelés esetén a TRPV1 gén-deletált állatok ellenregulációja hatékonyabb.

5. Kimutatta, hogy hipertermizáló TRPV1 antagonisták az O<sub>2</sub> fogyasztás fokozásával mérséklék az alvás során kialakuló hipertermiát. *Kérdésesnek tartom azonban ennek -az eredmények megbeszélésében felvetett- transzlációs jelentőségét, az anesztézia okozta Tm csökkenés talán egyszerűbben kivédhető a test megfelelő hőmérsékleten tartásával.*

6. Farmakológiai (gátlószeres) és KO állatok felhasználásával bizonyította, hogy a TRPA1 receptorok még nagyfokú hidegexpozíció esetén sem járulnak hozzá a termoregulációs válaszhoz. Ezzel szemben centrálisan elhelyezkedő TRPA1 receptorok szerepet játszanak a H<sub>2</sub>S hipotermizáló hatásában.

#### **A disszertációval kapcsolatos alapvetően elméleti kérdéseim:**

1/ A jelölt -az irodalom jelentős részével egyetértésben- TRPV1 csatorna aktivációjának alapvetően 3 fő módját különbözteti meg, a vanilloid, a hő(>42°C) proton (pH<6.1). E három legfontosabbnak tekintett szabályozás molekuláris mechanizmusára is vannak egyértelmű adatok. Ezekon kívül nagyszámú endogén ligandról mutatták ki, hogy befolyásolhatják a csatorna működését. Lehet-e tudni, hogy az endogén ligandok (pl. anadamid, LPA, 20 HETE

stb.), a fenti mechanizmusok melyikével, vagy esetleg más támadásponttal aktiválják-e a csatornát?

2/ A jelölt TRPV1 antagonistákkal kapcsolatos eredményei arra utalnak, hogy a hőmérsékleti egyensúlyban és nyugalomban lévő állatok (feltehetőleg abdominális izmok területén elhelyezkedő) TRPV1 csatornái (részlegesen) aktivált állapotban vannak. A TRPV1 gátlószereinek T<sub>m</sub>-re gyakorolt hatását a protonaktivációs mechanizmus gátlásával (hipertermizáló antagonisták esetében), ill. potenciózásával (hipotermizáló antagonistáknál) hozza kapcsolatba. A TRPV1 csatornát pH<6 protonkoncentráció aktiválja. Feltételezhető-e, hogy az abdominális területen nyugalmi körülmények között ilyen mértékű acidózis legyen? Ha nem, felmerül-e esetleg a „protonaktivációs” tekintett mechanizmus más, alternatív úton történő fiziológias szabályozása?

További kérdéseim, megjegyzéseim:

1 Az TRPV1 endogén aktivátoraként egy endokannabinoidot, anandamidot alkalmazott IP adással. E kísérletek során a kontroll állatoknál nem jött létre az elvárt, a kezelés által okozott stressz által indukált T<sub>m</sub> emelkedés. Ennek elmaradását a beadott nagy térfogatú szobahőmérsékletű oldattal magyarázza. Szerintem indokolt lett volna 37°C-os oldattal kezelni az állatokat e feltételezett műtermék elkerülésére.

2/ A 10. ábrán a termográdiens rendszerben mért a TRPV1 KO egereknél hiperaktivitást, alacsonyabb preferált hőmérsékletet és jelentős mértékben csökkent O<sub>2</sub> fogyasztást tapasztaltak. csökken testhőmérséklet mellett. Amennyiben itt a T<sub>m</sub>-et eltérő irányba módosító hatások eredőjét látjuk, meg lehet-e nevezni az elsődleges és a kompenzatórikus változást?

3/ A TRP csatornák vazomotoros vonatkozásainak tanulmányozásánál az alkalmazott savi 4-es 3-as 2-es, ill. alkalikus 10-es, 11-es, 12-es pH-k olyan messze vannak a fiziológias, de még a legdurvább patológiás értékektől is, hogy alkalmazásuk számomra nem tűnik indokoltnak.

4/ A hipertermiát okozó TRPV1 antagonisták esetében (a 21. ábrán) bemutatja, hogy a kapszaicinnal kiváltott <sup>45</sup>Ca izotóp felvételt csökkentik, míg a protonokkal serkentett transzportot potenciózzák a drogok. A dolgozatból azonban nem derül ki, hogy milyen [kapszaicin]-nál, ill. pH-n történtek a Ca<sup>2+</sup> felvételi mérések! Az utóbbi különösen fontosnak tűnik, ugyanis az a hivatkozott (ref 31.-ban elemzett) vizsgálat, melyben a hipotermizáló antagonisták protonaktivációra kifejtett potenciózó hatását kimutatták pH:5,0-6,2-n történtek.

5/ A 9. ábrán a TRPV1 receptor szerepét elemzi WT és KO állatok összehasonlításával, termográdiens, telemetriás és respirometriás módszerekkel. Szembetűnő a jelentős eltérés a T<sub>m</sub> tekintetében egy adott állatcsoporton belül, az inaktív (világos) periódus ideje alatt a T<sub>m</sub> (abdominális hőmérséklet) folyamatosan emelkedik termográdiens módszerrel mérve, míg respirometriás kísérleti felállásban a kolonhőmérséklet jelentősen csökken. Mi lehet az eltérés hátterében?

6/ A TRPA1-et aktiváló Na<sub>2</sub>S adása esetén miért vártak hipotermiát, és állították be ennek megfelelően a kísérleti körülményeket?

7/ Ketamin altatást követően 1 órával az állatok felébrednek, de még 8 óra múlva sem áll helyre T<sub>m</sub>-jük (28. ábra). Ez mivel magyarázható, és egyébként nem jelenti-e azt, hogy az anesztézia hatása tulajdonképpen nem „csengett le” legalábbis a hőháztartás vonatkozásában ez idő alatt? Így az a megállapítás, hogy a TRPV1 antagonisták az anesztézia lecsengését követően nem okoz hipertermiát nem helytálló.

8/ Extrém hőmérsékleti kihívások esetén is vizsgálták a TRPV1 szerepét: A 11/b ábrán igen jelentős hidegterhelést alkalmaztak, melynek során a bőrhőmérséklet 12°C-ra, a maghőmérséklet is drasztikusan, 22°C-ra csökkent. A TRPV1<sup>-/-</sup> állatok ilyen körülmények között jobban/hatékonyabban tudták tartani a maghőmérsékletüket. Lehetséges-e, hogy e fájdalmat is nyilván okozó hideginger eredményeképpen a bőrben olyan endogén mediátorok szabadultak fel, melyek a TRPV1 receptorokat is aktiválva paradox módon gátolták az adekvát termoregulációt?

Ugyanezen az ábrán számomra meglepő volt a hidegben tartott KO állatok farokhőmérsékletének 100. perc környékén detektált átmeneti emelkedése. Nem lehet-e ez valamilyen méréstechnikai hiba következménye?

9/ Szisztémás gyulladással állapotban vizsgálta endogén mediátorok (a SP, kolecisztokinin és PACAP) hozzájárulását a termoregulációs változásokhoz. A disszerációban több helyen is utal arra, hogy ezek eredetét a perifériás TRPV1-et tartalmazó neuronoknak tulajdonítja. Mi több, eredményei szerint a jelátviteli lánc következő elemének, a PGE2 képződésének a fokozódására ugyancsak perifériás változás utal (a COX2 fehérje szintű expresszió a májban ill. a tüdőben). Mi indokolta ennek figyelembevételével a kísérletek többségében e mediátorok centrális ICV alkalmazását?

#### **A metaanalízisek eredményének értelmezésével kapcsolatban:**

1/ A szeptikus betegek testhőmérséklete és elhalálozási arányuk közötti összefüggéselemzése során nem volt nyilvánvaló, hogy a betegség mely fázisában mért T<sub>m</sub> értéket vettek figyelembe. Tekintettel arra, hogy a szeptikus állapot kezdetén mért T<sub>m</sub> jelentése más lehet, mint a betegség késői fázisában, e paraméter hiányában nehéz az analízis eredményét értelmezni. A 70. ábrán bemutatott összefüggés magyarázatánál a szürke pontozott görbe vonatkozásában a szerző a Megbeszélés szövegére utal, én azonban ott nem fedeztem fel a szerző metaanalízisével kapcsolatos összefüggést.

2/ A szeptikus betegek plazma- és vizelet MIF koncentrációival kapcsolatos metaanalízist diagnosztikus, ill. prognosztikus lehetőség céljából végezték. Az összehasonlítás során különböző szempontok szerint csoportosított betegek esetében kimutattak akár szignifikáns különbséget is például a plazma MIF koncentrációja és fertőzéses, illetve steril gyulladás esetén, a 4. napi MIF szint és a túlélés/elhalálozás összefüggése stb. Kérdésem, hogy ezen eredmények ismeretében perspektivikusnak érzi-e diagnosztikus, ill. prognosztikus célból meghatározni a plazma és/vagy vizelet MIF koncentrációját?

E kérdések, felvetések után megismétlem, hogy a disszertációt értékes, ismereteinket számos vonatkozásban gazdagító munkának tartom, sikeres védés esetén javaslom az MTA doktori címre való felterjesztését.

Budapest, 2024. október 2.



Dr. Enyedi Péter  
Az orvostudomány doktora