

Dr. Garami András: A testhőmérséklet-szabályozás mechanizmusai egészségben és szisztémás gyulladásban:
tranzien receptor potenciál ioncsatornák és endogén molekuláris mediátorok szerepe
c. MTA doktori értekezésének bírálata

Dr. Garami András disszertációját a Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar, Transzlációs Medicina Intézet, Termofiziológia Tanszék Intézetéből nyújtotta be az MTA Orvosi Tudományok Osztályához. Tudományos kutatómunkáját nemzetközileg is magas szinten elismert kutató műhelyekben végezte neves professzorok és kutatókkal együttműködve, mint pl. Pintér Erika, Helyes Zsuzsanna és Reglődi Dóra professzor asszonyok, ill. Hegyi Péter és Andrej Romanovsky professzorok.

A disszertáció kiváló példa arra, hogy hogyan lehet transzlációs medicina szemlélettel magas szintű kutatómunkát végezni. A termoreguláció olyan molekuláris szintű és metaanalízissel kiegészített vizsgálatát mutatta be Jelölt, mely nem csak a vonatkozó betegségek/állapotok patomechanizmusának megismerését, hanem ezek terápiás lehetőségeit is felveti. A termoreguláció megértésének mind egészséges mind pedig szisztémás gyulladással esetekben kulcskérdése azon mechanizmusok feltárása, melyek sejt szinten képesek a fizikai ingert elektromos jellé alakítani, azaz a folyamatban részvevő termoszenzitív ioncsatornák működésének megértése. Ezt felismerve vizsgálták a különböző TRP (TRPV1, TRMP8, és TRPA1) csatornák szerepét a termoregulációban, ill ezek farmakológiai módosításának lehetőségét. Vizsgálataik kiterjedtek arra is, hogy a termoregulációt milyen módon lehet a központi idegrendszeren keresztül módosítani, pl CCK és PACAP központi idegrendszeri hatásain keresztül. A molekuláris farmakológiai, sejtbiológiai és KO állatok felhasználásával végzett állatkísérleteket kiegészítették metaanalízissel is, ahol érdekes összefüggéseket tártak fel pl. a testhőmérséklet és a szepszisben bekövetkező halálozás között. Megállapítható tehát, hogy modern technikák célzott és magas szintű alkalmazásával és ezek kombinálásával gyűjtötték az adatokat. Az alkalmazott módszerek up-to-date, nagy technikai ismeretek igénylő eljárások. Ezek közül is kiemelném a termoregulációs mérések sokoldalúan kivitelezett voltát (pl. termoelem termometria, respirometriás termometria, telemetriás termometria vagy termogradiens kísérleti rendszer) vagy pl. a lézeres folt interferencián alapuló áramlásmérés.

Összességében a témaválasztás időszerű, az alkalmazott módszerek megfelelőek és a következtetések orvosi szempontból is lényegesek.

A disszertáció összesen 15 eredeti közleményre, 3 metaanalízisre, 2 összefoglaló és 7 szerkesztőségi hozzászólásra lapszik (összesen 27 elem), melyek 13 év kutatómunkájából származnak (2011-2023). A közlemények összesített impakt faktora meghaladja a 100-at (101,673). A disszertáció alapjául származó közleményekre kapott független idézetek száma >700. E közlemények egy része magas impakt faktorú, a szakterület meghatározó lapjaiban közölt cikkeket jelentik. Ezek között kiemelkedők a Pharmacology and Therapeutics (IF:12.31) és több J Neurosci (IF 7.115) folyóiratokban publikált közleményei. Külön kiemelném, hogy disszertációban szereplő közleményeken felül még ~70, a PhD disszertáció megvédését követően publikált cikk szerzője, melyek a disszertációban bemutatottakhoz hasonlóan magas impakt faktorú folyóiratokban jelentek meg igen tekintélyes független idézettségi mutatóval. Hirsch indexe 30.

A termoregulációban résztvevő ioncsatornák és a termoreguláció molekuláris mechanizmusainak vizsgálata területén megítélésem szerint az alábbi önálló új tudományos eredményeket adta:

1. A Trpv1 KO egerek hipometabolizmust, a bőr fokozott vazokonstrikciónak, az alacsonyabb környezeti hőmérséklet (T_k) preferenciát és a fokozott lokomotoros aktivitást mutatnak
2. Hipotermizáló TRPV1 antagonisták (A-1165901 és AMG7905) potenciózzák a TRPV1 csatorna protonok általi aktivációját *in vitro*
3. TRPV1 antagonistával kivédtek az általános anesztézia-indukálta hipotermiát rágcsálókban.
4. A TRPM8 csatorna univerzális hidegszenzor a bőrben, és szabályozza az összes fő hidegellenes mechanizmust.
5. A TRPA1 csatornák nem töltenek be termoszenzor szerepet rágcsálók hőszabályozásában, viszont jelentős a központi idegrendszeri szerepük a H₂S-re adott termoregulációs válaszok közvetítésében.
6. Farmakológiai vagy genetikai TRPV1 csatorna gátlás életkor-függően módosítja a túlélési arányt szisztémás gyulladásban
7. Az agyi CCK₂ receptorok részt vesznek az LPS által kiváltott láz fenntartásában.
8. Humán adatok metaanalízise alapján egyértelmű negatív korrelációt mutatott ki a maghőmérséklet (T_m) és a szepszisben bekövetkező halálozás között: a láz kisebb, míg a hipotermia fokozott halálozási rátával jár együtt

A disszertáció magyar nyelven készült, 216 számozott oldalon. Az irodalomjegyzék 447 irodalmi hivatkozást tartalmaz, melyek között nagy számban találhatók 10 évnél régebbi hivatkozások. A disszertáció elején megtalálható a rövidítések jegyzéke is, mely elősegítette a leírtak megértését. A disszertáció megértését 70 db többpanel, többségében színes ábra könnyíti meg.

A disszertáció olvasását helyesírási hibák vagy szerkesztési hiányosságok nem nehezítik. Egy-két helyen található csak apró figyelmetlenségből adódó hiba vagy fogalmazási hiányosság, amelyek részletezésétől a hibák elhanyagolható volta miatt eltekintek.

Általános észrevételek:

A disszertáció rendkívül hosszú. A szokásos 80-120 oldal közötti terjedelem majdnem kétszerese, ami igen komoly feladat elé állítja az opponenst. Mindenesetre érdemes lenne a terjedelmi ajánlások figyelembevételére.

Tekintve a disszertáció hosszát, az irodalmi bevezetésben kevés kivétlnivalót talál a bíráló, részletesen bevezeti mind a TRP csatornákat mind pedig a szisztémás gyulladás hőszabályozási sajátosságait. Tekintve, hogy különböző aktivációs módokat és az azok közötti kölcsönhatást is elemezi később TRPV1-re vonatkozólag, jó lett volna szerkezetvizsgálattal kapott TRP csatorna modelleket bemutatni, kihangsúlyozva az egyes aktivációs mechanizmusok ismert molekuláris részleteit.

Az anyagok és módszerek fejezet kellő részletességgel mutatja be a használt módszereket, a megfelelő irodalmi hivatkozások beépítésével lehetőség nyílik a módszerek egyes speciális kérdéseinek tisztázására. Nagyon jónak tartottam, hogy a kísérleteink során vizsgált anyagok legfontosabb tulajdonságait táblázatos, nem pedig szöveges formában mutatta be a referenciákkal egyetemben. Néhány, a metodikákkal kapcsolatos kérdést lentebb fogalmaztam meg.

Az eredmények részben külön kiemelem, hogy az ábrák szövegében feltüntette a disszertáció alapjául szolgáló közleményt, amiből az ábra származik, ez nagyban segítette a disszertáció követését.

Az eredmények és megbeszélés fejezetek különválasztását sok esetben a folyóiratok kérik, itt azonban jobbnak láttam volna ezeket együtt tárgyalni. Különösen jó lett volna olyan esetekben, ahol az eredmények interpretációjához ismételni kellett az eredményeket a megbeszélésben, több téma összefoglalása miatt a diszkusszió messze került az eredmények bemutatásától.

A legfőbb új tudományos eredmények összefoglalása fejezet rendhagyóan hosszú, majdnem 4 oldal és 27 pontban ill. inkább paragrafusban állította össze a főbb eredményeket. Itt sokszor kis részletek kerültek meghatározásra szerintem, mint fő eredmény. Emiatt az új eredmények felsorolása nem segítette a bírálót a vélemény kialakításában.

Tekintve azt, hogy a disszertáció háttérét adó közlemények magas impakt faktorú, nemzetközi, referált folyóiratokban jelentek meg ahol a szigorú szttenderdeknek az eredmények már megfeleltek, a részletes tartalmi bírálatától el lehet és el is kell tekinteni. Ennek megfelelően csak a disszertáció olvasása közben felmerülő egyes kérdéseimre, észrevételeimre vonatkozóan kérem Jelölt válaszait:

Formai megjegyzések:

1. Talán szerencsésebb lett volna az eredmények első részében található grafikonok fekete/szürke/fehér kombinációját a később (pl. 31. ábra) használt színes megjelenítéssel elkészíteni. A 31-33 ábrák sokkal jobban követhetők. Az ezt követő ábrák megint fekete/szürke/fehér kombinációk, amik a 34. és 35. ábrákon bemutatott egymásra vetült görbék esetén nehezen követhetők.
2. A 29. ábra A paneljén is jó lett volna feltüntetni a kezeléseket (kapszaicin, proton, hő, amennyiben jól értem az ábrát)

Szakmai kérdések:

1. A módszerek fejezetben írja, hogy lokális, hasüregre korlátozódó TRPV1 ioncsatorna deszenzitizáció elérésére patkányokban i.p. RTX kezelést alkalmaztak. Ebben az esetben mi gátolja meg az RTX szisztémás hatásait, miért nem szívódik fel a hasüregből? Ez az RTX fizikokémiai tulajdonságaival magyarázható?
2. Mi volt a motiváció abban, hogy bizonyos esetekben respirometriás, ill egyéb termometriás eljárásokat használtak a testhőmérséklet mérésére, míg máskor a bőr áramlásmérését használták a termoreguláció követésére?
3. 58. oldalon írja "...eredményeink alapján a Trpv1 KO egerek T_m -e kismértékben eltér a kontroll egerekétől a nap során, és ez az eltérés napszakra specifikus, továbbá bizonyos mértékben a kísérleti berendezéstől is függ". Ez utóbbi függésnek mi lehet az oka és hogyan lehet ezt a kísérleti rendszerben kezelni. A 9. ábra alapján a következtetés nagyban függ attól is, hogy milyen módszerrel történt a hőmérséklet mérés. Mi annak a magyarázata, hogy a három módszer három választ ad az éjszakai hőmérsékletváltozásra (9. ábra)?

4. A 3. ábra alapján a TRPV1 csatorna aktivitása 42 °C felett kezd emelkedni. A kísérleti állatokban ilyen hőmérsékletek korlátozottan, illetve inkább nem érhetőek el. A 6,1 alatti pH, ami az alternatív aktivációs mechanizmus lenne, szintén nehezen összeegyeztethető az étellel. Ezek alapján mit gondol, hogy a TRPV1 WT és KO állatokban kapott különbségek melyik endogén TRPV1 modulátor hatásának tudhatók be? Mi erről a véleménye? Pl. a termogradiens rendszerben melyik *fiziológiai aktivátor* aktiválja a WT állatokban a TRPV1-t, ami miatt kb. 3-szor lassabban mozognak mit a KO egerek? Hasonló a kérdés a hipotermia esetén is: ha a TRPV1 gátlószerek miatt TRPV1 specifikus hipotermia alakul ki (és ez hiányzik a KO állatokban, 20. ábra) akkor valamelyik endogén aktivátornak aktiválnia kell a csatornát, egyébként a gátlószerek hatása nem érvényesülne.
5. Kérem magyarázza el, hogy a 21. ábrán látható eredményeket hogyan kapták. Nem derül ki a sem a szövegből, sem pedig az ábraszövegből hogy a felső panelen milyen kapszaicin koncentrációt, ill. az alsó panelen pedig milyen pH-t használtak a proton aktiváció potencirozásának mérésekor.
6. Patkány esetén 19°C-os T_k -n, míg egerek esetén 26°C-os T_k -n végezték az M8-B TRPM8 antagonistával a kísérleteket. Mi volt ennek az oka? (89 és 80. oldal).
7. Mi lehet a magyarázata annak, hogy az i.c.v. Na₂S- re adott bőr vérátáramlás válasz karakterisztikusan két csúcst mutat, 2-5 perc között és egy elnyújtott választ 20 perccel a beadást követően (37. ábra)?
8. A 41. ábrához tartozó leírásban az szerepel, hogy HCl-t 10⁻² mol/l koncentrációban adtak az erekhez. A HCl erős sav, emiatt itt a pH-nak a fiziológiástól nagyon messze lévő értékre kell beállnia (akár pH2 is lehet 10⁻² mol/l HCl hatására). Mi volt a motiváció arra, hogy ennyire savas környezetet választott a mérésekhez? Ilyen savas pH mellett már számos nem specifikus hatásnak is elő kellett jönnie. Látott ilyeneket?

A fenti kérdések/megjegyzések érdemben nem befolyásolják Jelölt tudományos eredményeinek igen pozitív megítélését. Összefoglalásképp megállapítható, hogy az MTA doktori cím megszerzésének feltételeit a disszertáció alapján magasan teljesítette. Javasolom a disszertáció nyilvános vitára történő kitézését és sikeres védelem esetén az MTA doktori cím odaítélését.

Végezetül szeretnék gratulálni a példamutatóan magas szintű kutatómunkához, és további sikeres munkát kívánok!

Debrecen, 2024 október 14.



Panyi György
az MTA doktora