

Vélemény Tóth Péter József 'Az agyi vérkeringés szabályozó mechanizmusainak celluláris kórfolyamatai' című MTA doktori értekezéséről

Az értekezésben a szerző az agyi autoreguláció, valamint neurovaszkuláris kapcsolás kóros megváltozásait, s ezek celluláris kórfolyamatait vizsgálja, döntően állatkísérletekben. Az agyi autoregulációs diszfunkció következményeit hipertóniában, öregedésben és traumás agykárosodásban tanulmányozta. Vizsgálta az öregedés agyi autoregulációra kifejtett hatását, valamint az agyi erek myogén autoregulációs működését és a szabadgyökök diszregulációban betöltött szerepét hipertóniában és koponya-agy sérülés után. A neurovaszkuláris szétkapcsolás kognitív funkciókra kifejtett hatását egy farmakológiai modellben tanulmányozta, majd az öregedéssel járó fokozott oxidatív stressz hatását és annak lehetséges kezelését ismertette. Végül az inzulinszerű növekedési faktor neurovaszkuláris kapcsolásra gyakorolt hatását mutatta be, s vont párhuzamot az öregedés és az öregedés során csökkenő inzulinszerű növekedési faktor következményei között, immár humán vizsgálatban.

A doktori értekezés alapjául 4 D1 és 5 Q1 közlemény szolgált, melyek közül a jelölt 4 közleményben első szerző, 5 közleményben utolsó szerző volt. Az értekezés alapjául szolgált közlemények összes citációja 683.

Az értekezés 114 oldalt tartalmaz, a doktori mű megírásához a szerző 299 irodalmi hivatkozást használ. A Bevezetés fejezetben a jelölt az agyi véráramlás autoregulációját, valamint a neurovaszkuláris kapcsolást és annak celluláris mechanizmusait ismerteti. Ezt követi a Célkitűzések, majd az Eredmények fejezet. Az autoreguláció és a neurovaszkuláris kapcsolás megértését, illetve az eredmények bemutatását összesen 36, döntően szépen megszerkesztett, többségében angol nyelvű ábra segíti. A könnyebb követhetőség érdekében a szerző az alkalmazott módszereket az Eredmények fejezet után ismerteti, majd ezt követi az Irodalomjegyzék.

A doktori értekezés olvasmányos, jól követhető, az egyes fejezetek jól elkülönülnek, ugyanakkor egymásra épülnek. A dolgozat stílusa kifejezetten jónak mondható. Elütés, nyelvtani hiba elvétve fordul elő, elsősorban az egybeírás-különírás szabályai sérültek (túl hangsúlyoz, hozzá adása, hozzá járulhat, vissza fordítása, ugyan akkor), máskor elütés, egy-egy betű hiánya említhető (vizsgálatink, mellet, IFG-1 hiány), vagy a magyaros és latinos írásmód keveredése érhető tetten (hyperprúzió), de ezek a dolgozat érthetőségét nem befolyásolták.

Észrevételek, megjegyzések:

A 8. oldalon a 2. ábra nehezen érthető. Négy görbe különíthető el, de nem világos melyik-melyik, a háromszög szimbólummal jelölt görbe nyilván a myogén reguláció hatását demonstráló görbe, de erre egyértelmű utalás nincs, csak kikövetkeztetni lehet.

12. oldal: Többször említi az ATP szerepét a neurovaszkuláris kapcsolás regulációjában, de utalásokat tesz arra is, hogy ennek metabolitjai (ADP, adenzin) okozzák a reaktív hiperémiát. Ezt szerencsés lett volna egyértelműbben jelezni.

A 11-13. oldalakon az aktív agyi területek vérellátásáról ír, megemlítve számos, a neuronális aktivitás okozta hiperémia kialakulásáért felelős folyamatot. Korábban erős szabályozó hatást tulajdonítottak az anyagcsere során felszabaduló CO₂-nak, laktátnak. Mi a szerző véleménye ezek vazodilatációt okozó hatásáról a neurovaszkuláris kapcsolatban?

A 16. oldalon szerepel: Fiatal, normotenziós kontroll egerekből izolált arteria cerebri mediaban (MCA) az intravaszkuláris nyomás növekedése, kb. 60 Hgmm-nél kezdődve, myogén összehúzódást váltott ki, majd a myogén konstriktió közel azonos szinten maradt ~120 Hgmm-ig, átfedve az in vivo látott autoregulációs tartománnyal. Sajnos nem szerepel, hogy ez szisztolés vérnyomás, vagy artériás középvérnyomás? Ugyanígy az 5. ábra vérnyomást jelző tengelyein sincs jelölve, hogy mely vérnyomásértéket látjuk, bár az 5. ábra A és B részét magyarázó ábraalíráásban már szerepel a szisztolés vérnyomás megjelölés.

A 20. oldal utolsó és 21. oldal első fejezetében hiányoltam a pericyták számának, a kapillárisűrűségnek, s a mikroglia aktivációnak a változását bemutató számszerű eredményeket, esetleg azok ábrákon történő bemutatását. Szokatlan, hogy az Eredmények fejezetben szereplő állítások mögött nem látunk számszerű adatokat.

A 22. oldalon írja, hogy hipertóniás állatokban az autoregulációs görbe jobbra tolódik. Ez jelenti-e azt, hogy a kisebb nyomástartományokban károsodik az autoreguláció? Más szóval, jobbra tolódás, vagy kiszélesedés történik? A III.1. fejezetben, melyben a hipertónia és öregedés autoregulációra gyakorolt hatását vizsgálták, mértek-e a relatív véráramlás mellett abszolút vérátáramlást? Ha igen, a kapilláris denzitás csökkenés együtt járt-e agyi vérátáramlás csökkenéssel?

26. oldal, 11. ábra, ábraalírási: '...ha a perfúziós nyomás növekszik, az autoregulációs diszfunkció agyi hyperperfúziót eredményez, ami megnövekedett koponyaűri nyomáshoz, citotoxikus és vazogén ödéma kialakulásához vezet. Az oxigén- és tápanyagellátás ebből eredő csökkenése hozzájárul az agyszövet másodlagos károsodásához.' Kérdés: hogyan okoz a hiperperfúzió citotoxikus ödémát?

A 31. oldalon szerepel: 'Mind a megnövekedett térfogat, mind a vazogén ödéma hozzájárul a koponyaűri nyomás emelkedéséhez, különösen akkor, ha az intracranialis compliance a citotoxikus ödéma miatt eleve csökkent.' Mit ért az alatt, hogy az „intracranialis compliance a citotoxikus ödéma miatt eleve csökkent”. A citotoxikus ödéma az IC tér megnövekedését jelenti az EC tér rovására. Miért csökken emiatt az intracranialis compliance?

A 35. oldalon írja: 'Az SHR-ek vérnyomása szignifikánsan magasabb volt, mint a normotenzív patkányoknak (Wistar: 109±3 Hgmm, SHR:183±3 Hgmm).' Nem szerepel, hogy milyen vérnyomásértékről van szó. Szisztolés vérnyomás? Minden bizonnyal!

Ugyancsak a 35. oldalon: 'Két héttel az mTBI után a hipertóniás patkányok agyi ereinek simaizom és endothel rétegében egyaránt fokozott DHE festődés oxidatív stressz jelenlétére utalt.' Miért pont 2 héttel a trauma után vizsgálták az oxidatív stressz hatását?

A 36. oldalon írtak szerint 'A spontán hipertóniás patkányok izolált agyi artériáinak simaizom- és endotheliális rétegeiben a DHE és MitoSox fluoreszcenciával jelzett, enyhe TBI által

kiváltott cerebrovaszkuláris oxidatív stressz szignifikánsan csökkent a NADPH-oxidáz inhibitor apocinin jelenlétében.' Valójában ez csak az endothelium esetén volt igaz, a simaizomsejtekben nem, legalábbis a 18/A ábráról ez olvasható le.

Általános kérdés: ROS scavenger-ek-kel van-e pozitív tapasztalat human vizsgálatokban?

Krónikus hipertóniában az autoregulációs görbe jobbra tolódik. Van-e adat arra, hogy sikeres hipertónia kezelést követően, visszaáll-e az eredeti vérnyomás-vérátáramlás autoregulációs kapcsolat?

47. oldal: Nem lát-e ellentmondást azon állítások között, hogy a farmakológiai kezelés nem befolyásolta a kérgi kiváltott válaszokat, ugyanakkor a neurovaszkuláris szétkapcsolás az agyi extracelluláris glükóz szint neuronális aktivációt követő csökkent növekedésével járt, mégha az oly kismértékű volt is. Másként fogalmazva, a normális neuronális aktivációhoz nem szükséges a standard körülmények közötti glükóz szint emelkedése?

53. oldal, 26. ábra: 'Az ábrán kontroll, festetlen sejtek is láthatók', írja. Az ábrán nem láthatók sejtek, csak azok számát tüntette fel a szerző.

58. oldal: Mi az a TBG-eGFP-AAV8?

59. oldal: Az IGF-1 hiány vizsgálatának Eredmények fejezetében írja: 'Mindez azt jelzi, hogy az IGF-1 hiány által kiváltott neurovaszkuláris szétkapcsolás a térbeli munkamemória károsodásával és az újdonságkereső magatartás csökkenésével is összefüggésbe hozható.' Ez a mondat nem az Eredmények, hanem a Megbeszélés fejezetbe illik. Továbbá, mivel az IGF-1 hiálynak egyéb hatásait nem vizsgálta, ez a megállapítás, legalábbis az ok-okozati kapcsolat megkérdőjelezhető.

Az 59. oldalon kezdődő 'Az IGF-1 hiány károsítja a cerebro-mikrovaszkuláris endothel funkciót, ami hozzájárul a neurovaszkuláris szétkapcsoláshoz' alfejezet egy része sem az Eredmények, hanem a Megbeszélés fejezetbe illik, hisz nem eredményekről szól, hanem magyarázatokról, feltevésekről. Pl.: 'Ez alátámasztja azt az elképzelést, hogy az IGF-1-hiány károsítja a cerebro-mikrovaszkuláris endothel funkciót. A perifériás keringés ereiben az IGF-1 csökkenti a vaszkuláris oxidatív stresszt és javítja az endothel funkciót [224].'

A 60. oldalon az A ábrarész, ha jól értem, a whisker stimuláció kiváltotta áramlási válasz csökkent (kisebb mértékű) csökkenését mutatja az IGF-1 hiányos állatokban. Direktebb lett volna, ha az L-NAME jelenlétében mutatja a CBF válasz nagyságát, s az is jól mutatta volna, hogy az L-NAME okozta áramlási válasz csökkenés kisebb volt az IGF-1 hiányos állatokban. Utána még meg lehetett volna mutatni ezt az A ábrarészt is, mint ezt teszi is a 32. ábrán. A 33. ábrán ismét elmarad majd az indomethacin, MS-PPOH és HET0016 jelenlétében mért relatív áramlási válasz bemutatása a kontroll és IGF-1 hiányos állatokban, s már csak a válaszok különbségét látjuk.

85.o A VI.4. alfejezetben a Módszereknél írja, hogy az MCA-k nyomás által kiváltott átmérő válaszait, valamint az a. basilaris összehúzódnási képességét vizsgálták a TXA2 receptor agonista U46616 vazokonstriktor adásával szemben. Mi az oka, hogy a kísérlet egyik részében MCA-t, másik részében a. basilarist használtak ó?

A 91.oldalon az arterial spin labeling módszerrel végzett perfúziós MR vizsgálatoknál írja, hogy 'Az állatokat izofluránnal, arcmaszk használatával altattuk, a légzésszám fiziológiás tartományban tartása mellett.' Hogyan tartották a légzésszámot fiziológiás tartományban?

Az ábrákon rendre nem szerepel, hogy milyen adatokat látunk. Átlag \pm SD, átlag \pm SE? A Módszerek fejezetében a Statisztikai elemzések részénél már jelzi a szerző, hogy átlag \pm SEM-et ábrázol.

Új eredményeit 9 pontban foglalta össze. Ezek közül az alábbiakat javaslom új eredményként elfogadni.

- Fiatal hipertóniás egerek és patkányok agyi ereinek nyomás-indukálta myogén tónusa fokozódik, de idős egerekben ez az adaptációs mechanizmus hiányzik. A myogén tónus fokozódásáért, legalábbis részben, az érfali 20-HETE/TRPC6 konstriktor útvonal fokozott működése felelős. Az idős, hipertóniás egerekben az autoregulációs diszfunkció miatt a hipertónia által indukált vér-agy gát zavar fokozódik, pericyta vesztés, kapilláris pusztulás, neuroinflammáció és kognitív hanyatlás alakul ki.
- Súlyos traumás agykárosodás szintén károsítja az agyi erek autoregulációs működését, melyet részben az excesszív mitokondriális hidrogénperoxid termelődés okozta kalcium-függő kálium csatorna (BKCa)-tranziens receptor potenciál csatorna 4 (TRPV4) dilatátor út túlaktiválása okoz.
- Komorbid hipertónia jelenlétében egyetlen enyhe traumás agysérülés tartós, mitokondriális és NADPH oxidáz-eredetű oxidatív stresszt idéz elő az agy artériáiban, mely SS31 peptiddel történő kezeléssel megelőzhető.
- Komorbid hipertónia jelenlétében a koponya-agy sérülés nem tudja aktiválni a BKCa-TRPV4 vazodilatátor vaszkuláris útvonalat, s a TBI nem befolyásolja a 20-HETE fokozott, nyomás-indukálta konstriktor hatását.
- Állatmodellt hoztak létre izolált, kísérletes neurovaszkuláris szét-kapcsolás vizsgálatára, aminek segítségével bemutatták, hogy a neurovaszkuláris hiperémiás válasz csökkenése a kognitív funkció károsodásával jár.
- Resveratrol kezelés visszaállította a neurovaszkuláris kapcsolást idős egerek agyában, mely hatás feltehetően a NADPH-oxidáz eredetű oxidatív stressz hatékony csökkentése, és a cerebro-mikrovaszkuláris endothel funkció következményes javulásán keresztül valósult meg.
- A szérum IGF1-hiány egerekben neurovaszkuláris szétkapcsoláshoz, és kognitív károsodáshoz vezet, melynek hátterében a fokozott oxidatív stresszhez asszociált endothel diszfunkciót, az astrocyták csökkent glutamát receptor expresszióját, valamint a glutamát által az astrocytákban indukált csökkent dilatátor (vazodilatátor prosztaglandinok és epoxieikozatriének) és fokozott konstriktor gliotranszmitter (20-HETE, 20-hydroxyeikozatetraén-sav) termelést találtak.

- Humán vizsgálatokban kimutatták, hogy idős egészséges emberekben a neurovaszkuláris kapcsolás csökkent, ami szignifikánsan korrelált az életkorral csökkenő szérumban lévő IGF-1 szinttel.

Vélemény

A szerző kísérletes eredményeken alapuló, az agyi autoreguláció és neurovaszkuláris kapcsolás idős korban jelentkező kóros megváltozásait leíró eredményei jelentősen hozzájárultak az agyi véráramlás időskori szabályozásának és eltéréseinek a megértéséhez. A jelölt munkája rávilágított a hipertónia és traumás agykárosodás agyi autoregulációra gyakorolt kedvezőtlen hatásaira is. A munka jelentőségét fokozza, hogy a kóros agyi véráramlást szabályozó folyamatok visszaállítására igyekezett farmakológiai megoldást találni, s biztató eredményeket közölt a trauma indukálta szabadgyökképződés és az időskori cerebrovaszkuláris oxidatív stressz hatásos csökkentéséről. Fontos és meglepő eredmény az inzulinszerű növekedési faktor neurovaszkuláris kapcsolásra gyakorolt hatásának a felismerése, s ezen faktor csökkenése és az öregedés során megfigyelt agyi véráramlási változások kialakulása közötti ok-okozati kapcsolat lehetőségének a felvetése.

A fentiek alapján elmondható, hogy a jelölt MTA doktori értekezését megalapozó közleményekben bemutatott eredményei értékes, előremutató eredményekkel gazdagították az időskorban, hipertóniában és traumás agykárosodásban megfigyelhető kóros agyi véráramlás szabályozást vizsgáló tudományos irodalmat.

Az értekezésből kiderül, hogy a kutatás a szerző önálló munkája, a disszertáció hiteles adatokat tartalmaz. Az értekezésben bemutatott kísérletes eredmények, valamint a citációs értékek az MTA doktora cím feltételeként szabott kritériumoknak messzemenőkéig megfelelnek. A feltett kérdések, kritikák a doktori disszertáció értékét nem csökkentik, a doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak tartom, s az MTA doktori cím odaítélését támogatom.

Tisztelettel:



Dr. Oláh László
egyetemi tanár

Debrecen, 2024. október 30.