

Opponensi vélemény dr. Tamás Andrea Doktori értekezéséről

A doktori mű megerősített abban a sejtésben, hogy a PACAP mindenben is részt vesz, ami a szervezet szerzteágazó működését illeti. Valóban egy pleiotrop és multifunkcionális peptid. Elismerésre méltó az a törekvés, amit a pécsi PACAP munkacsoport és benne a jelölt a neuropeptid hatásának megértése és a klinikai alkalmazhatóság irányában kifejtett/kifejt.

A disszertáció jól strukturált, alaposan kidolgozott és mintegy két évtizednyi tudományos teljesítményt foglal össze. Formai követelményeknek megfelel.

Tamás Andrea publikációs tevékenysége is rendkívüli, a lista 194 cikket tartalmaz, megjegyzendő azonban, hogy ezek közül viszonylag kevés a D1 kategóriájú. A cikkek számával arányosan magas az idézettsége, ugyanakkor ezek 51%-a saját/társ szerzői hivatkozás.

Nagyra értékelem a disszertációban említett klinikai vizsgálatokat és azt a törekvést, amivel a preklinikai modelleket illeszti a jelölt a human vizsgálatokhoz. Azt, hogy a dolgozatban említett multidiszciplináris vizsgálatok team-munkában történő megszervezése és lebonyolítása milyen sokrétű feladat lehetett, mi sem jelzi jobban, mint az, hogy a szerző 66 munkatársának mond köszönetet a dolgozat végén.

Kiemelem új, innovatív metodikák alkalmazását pl. Raman mikroszkópia valamint microCT.

Újdonságként értékelem a PACAP potenciális biomarkerként való felismerését egyes fiziológiás (várandósság, laktáció) illetve patológiás folyamatok (Parkinson kór, egyes cardiovascularis és malignus kórképek) szabályozásában.

Eredményei ígéretesek egyes említett klinikai kórképek (Parkinson kór, myocardialis infarktus, szívelégtelenség, trauma és gyulladásos betegségek, myeloma multiplex) lehetséges új terápiájának vonatkozásában.

A dolgozat „gyengeségei” közt említem meg azt, hogy nem tekint ki a peptid család más tagjaira, elsősorban a VIP-re, amivel a PACAP-nak közös receptorai is vannak. Hiányolom a PACAP forrásának azonosítását, különös tekintettel a relative magas plazmaszintek esetében illetve az anyatejben. Nem történtek konkrét vizsgálatok (csak irodalmi utalások) a PACAP lehetséges hatásmechanizmusára pl. klinikai vonatkozásokban. Hasznosnak tartottam volna a PACAP, mint önálló biomarker elemzését az egyes betegségtípusokban (azaz a PACAP szintek figyelembe vételével azonosítható-e összefüggés valamilyen különleges/specifikus betegségtünettél?) Végezetül hiányolok egy olyan kitekintést, ami tartalmazná a peptid illetve stabil analógjai klinikai alkalmazhatóságát a vizsgált betegségtípusokban.

A következőkben a disszertáció felépítését követve részletesen értékelem a tudományos eredményeket és felsorolom (pirossal kiemelve) konkrét kérdéseimet:

1. Hallópálya (4 cikk 1 fejezet)

- 1.1. Csirke cochleális sejttenyészetben igazolták, hogy a PACAP védő hatású a hidrogén peroxid indukálta sejtpusztulásra. **Nem világos, hogy honnan jött a PACAP 100nM dózisa? Volt-e dózis-hatásvizsgálat? Hogyan viszonyul az alkalmazott PACAP dózis a fiziológiás szöveti PACAP mennyiséghez?**
- 1.2. Vad típusú és PACAP KO egerek hallórendszerének összehasonlításával leírták, hogy a KO egerek hallássérültek, zaj hatására a hallópálya alsóbb elemeiben kisebb a c-Fos protein indukción alapuló neuronális aktiváció. A KO egerekben fokozott egyes Ca²⁺ kötő fehérjék mennyisége és csökkent a PACAP receptor (PAC1) mennyiség. Az ototoxikus kanamicin adagolását követően vad típusú

egerekben növekedett a Ca²⁺ kötő fehérjék mennyisége, de a kanamicin nem növelte tovább a KO egereken tapasztalt már amúgy is magas kötőfehérje szinteket. **Milyen kompenzációs mechanizmusok ismertek a PACAP-KO egerekben, pl hogyan változik a VIP expresszió? Létezik-e PACAP over-expresszálo egérvonal, esetleg helyspecifikus KO vagy indukálható? Mi az endogén PACAP forrása a belső fülben, mi ennek a viszonya a Ca²⁺ kötő fehérjéket expresszálo sejtekhez?**

2. Fogfejlődés (3 cikk 1 review)

- 2.1. Leírta a PACAP-KO egerek fogfejlődési zavarát és Raman mikroszkópiával felfedezte, hogy ez a jelenség valószínűleg a hidroxipatit kristályok rendezetlenségére vezethető vissza.
- 2.2. PACAP KO egerek felhasználásával megerősítette a PACAP szerepét a SHH és a Notch jelátviteli útvonalak szabályozásában. **Van-e human relevanciája a PACAP fogfejlődésben betöltött szerepének?**

3. PACAP a plazmában a várandósság alatt és az anyatejben (5 cikk 1 fejezet)

- 3.1. RIA mérésekkel a várandósság 2. és 3. trimeszterében emelkedett PACAP szintet találtak.
- 3.2. Megállapította, hogy az anyatej 10x nagyobb mennyiségű PACAP-ot tartalmaz, mint a vérplazma. A legmagasabb PACAP szintet a kolosztrumban detektáltak és a késői mintákban.
- 3.3. PAC1 receptort azonosítottak a laktáló birka emlőmirigyben. **Mennyire specifikus az alkalmazott RIA PACAP-ra? Milyen keresztreakciót mutat a VIP/szekretin család többi tagjaival? Mi lehet a terhességben emelkedett plazma PACAP forrása, az emelkedés oka? Hogyan viszonyul a PACAP emelkedés más peptidok (VIP)-hez a plazmában és az anyatejben? Mi lehet a PACAP funkciója a laktáló emlőmirigyben és mi a hatása a csecsemőre? Mérték-e laktáló egereken a peptid szintjét a tejben?**

4. PACAP szerepe a Parkinson kórban (4 cikk)

- 4.1. A PACAP védő hatását mutatták ki gerinctelen és gerinces Parkinson kór modellekben. Kimutatták, hogy a gerinces modellben a PACAP kezelés emeli a PARK-1 fehérje mennyiségét a substantia nigrában.
- 4.2. Az ingergazdag környezetben tartott fiatal patkányokon a 6-OH DA kezelés kevésbé volt károsító a SN TH pozitív sejteire. A PACAP kezelés és az ingergazdagítás pozitív hatásai összeadódtak. A PARK fehérje mennyisége mind a standard mind az ingergazdag körülmények közt tartott állatoknál növekedett a PACAP kezelés hatására. **Hogyan változik az endogén PACAP szint ingergazdagítás hatására? Mivel magyarázható az, hogy a 6-OH DA + PACAP kezelt csoportban a PARK expresszió 150%-ra emelkedik az ép oldalhoz viszonyítva?**
- 4.3. A plazma PACAP koncentráció csökken a Parkinson kór romlásával. Kimutatták, hogy a mély agyi stimulációs kezelésben részesített betegek plazma PACAP szintje magasabb, mint a nem kezelt Parkinsonos csoportban mért szint. Nem találtak korrelációt a PACAP értékek, a társbetegségek előfordulása valamint az alkalmazott gyógyszeres terápia között. **Van-e jelentősége a PACAP és a PAC1 génpolimorfizmusnak a Parkinson kór vonatkozásában?**

5. PACAP politraumatizált betegeken (1 cikk)

- 5.1. Korrelációt találtak a PACAP plazmaszint és a CRP és a LAR között, így a PACAP egy addicionális biomarker lehet politraumatizált betegek esetében. **Mivel ad többet a PACAP, mint az eddig alkalmazott biomarkerek?**

6. Cardiovasculáris kórképek (3 cikk)

- 6.1. Elsőként végeztek olyan transzlációs kutatást, ahol myocardialis infarctus/reperfúziós sertésmodell szívizom mintáiban és MI átesett human paciensek plazmájában és kimutatták a PACAP szignifikáns változását. Sajnálatos, azonban, hogy a sertés infarctus modellben nem történtek plazma PACAP mérések....
- 6.2. Akut illetve krónikus szívelégtelenségben szenvedő betegek plazma mintáinak RIA vizsgálatával a PACAP szint ellentétes irányban történő változását detektálták. Akut esetben a PACAP szint nő, míg a krónikus esetben csökken a peptid szintje a vérben.
Mi lehet az a mechanizmus ami a cardiovascularis kórképekben a kezdeti megnövekedett (és protektív hatású) PACAP szintet lecsökkenti? Történtek-e vizsgálatok potenciális PACAP analógokkal cardiovascularis kórképekben? Végeztek-e vizsgálatokat MI modellben PACAP-KO egereken?

7. Malignus betegségek

- 7.1. Urogenitális tumorokban detektált eltérő PACAP38 illetve PACAP27 mennyiségből arra következtetnek, hogy a PACAP részt vesz ezen tumorok patogenezisében.
- 7.2. Myeloma multiplexben szenvedő betegek mintáiban csökkent PACAP szintet detektáltak. Ugyancsak csökken a PACAP szint a betegség akut fázisában a kontroll ill. a remisszióban lévőkhöz képest. A PACAP szint változásának követése alkalmas lehet az újonnan diagnosztizált esetek prognózisára valamint a terápia hatékonyságának követésére.

Összefoglalva újként ismerem el a következő eredményeket:

1. Leírta a PACAP jelentőségét a hallórendszerben az oxidatív stressz elleni védelem vonatkozásában.
2. Kimutatta, hogy a PACAP hiánya egéren fogfejlődési zavarokat okoz és azonosította a folyamatban szereplő két jelátviteli mechanizmust.
3. Magas PACAP szintet talált az anyatejben és leírta a PACAP koncentráció dinamikáját a laktáció során.
4. Transzlációs kutatásban igazolta a PACAP védő szerepét a Parkinson kórban.
5. Transzlációs vizsgálatait felvetik a PACAP alkalmazhatóságát egyes cardiovascularis betegségekben.

A disszertáció új összefüggéseket tárt fel a PACAP neuroprotektív, citoprotektív, anti-inflammatorikus és anti-oxidáns hatásaira vonatkozóan. Transzlációs kutatási eredményei széles körű alkalmazást kínálnak a terápiás fejlesztésekben.

A dolgozat és az elvégzett tudományos munka kiváló, a disszertáció nyilvános vitára bocsátását és a fokozat odaítélését támogatom.

Budapest, 2025. január 2.



Dr. Kovács Krisztina

HUN-REN Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet