

## OPPONENSI VÉLEMÉNY

dr. Fülöp Livia "Az Alzheimer kór kezelésére alkalmazható potenciális gyógyszerjelölt vegyületek fejlesztése " című MTA doktori értekezéséről

A Magyar Tudományos Akadémia Doktori Tanácsa titkárának 40/5/2024/DTT\_D/7 számú felkérésére az alábbiakban terjesztem elő dr. Fülöp Livia fenti címmel benyújtott MTA doktori értekezéséről készített opponensi véleményemet.

Mindenek előtt megállapítom, hogy dr. Fülöp Livia benyújtott értekezése multidiszciplinális (gyógyszerkémia és neurobiológia) jelleggel bír. Ezért kijelentem, hogy orvos-farmakológus végzettségemnél fogva az értekezés orvos-biológiai aspektusait tudom érdemben véleményezni.

Az Alzheimer kór 1906-ban leírt, a központi idegrendszer neurodegeneratív kórképe, amelynek központi eleme az agy nucleus basalis Meynert-ből kiinduló, felszálló kolinerg neuronok progresszív pusztulása a hippocampusban és a frontális cortexben. A klinikai tünetek központjában a memória vesztés, a kognitív funkciók károsodása, a beszéd és nyelvhasználat valamint a probléma megoldó készség beszűkülése és fokozatos elvesztés áll. Az élettartam megnyúlásával a betegek száma növekszik, amely jelentős terhet ró a családokra és az egészségügyi kormányzatokra egyaránt. Oki terápia nem ismert, érdemi terápia limitált. Az alkalmazott terápia a centrális kolinerg neurokémiai transzmisszió fokozására irányul, elsődlegesen a centrálisan ható kolinészteráz gátló gyógyszerekkel. A megfigyelhető morfológiai elváltozások az extracelluláris térre kiterjedő beta-amiloid plakkok és az intracelluláris térre kiterjedő, Tau protein foszforilált származékok neurofibrilláris kötegek jellemzők.

Fülöp doktor Értekezésének áttanulmányozását követően Opponens megállapítja, hogy az megfelel a doktori disszertációkkal szemben támasztott formai követelményeknek. Opponens ugyancsak megállapítja, hogy az Értekezés hiteles adatokat tartalmaz, a Tézisekben és az Értekezésben közölt adatok a közleményekkel összhangban vannak.

Az Értekezés 135 oldalon foglalja össze munkáját, amely a Tartalom jegyzéket (3 oldal) követően az alábbi fejezetekből épül fel:

1. Bevezetés, 2 oldal,
2. Irodalmi előzmények, 27 oldal,
3. Célkitűzések, 2 oldal,
4. Alkalmazott anyagok, vizsgálati módszerek és eszközök 13 oldal,
5. Eredmények és értékelésük, 53 oldal,
6. Összefoglalás-kitekintés, 6 oldal,
7. Tézisek 2 oldal,
8. Köszönetnyilvánítás, 1 oldal,
9. Rövidítésjegyzék, 3 oldal,

10. Irodalmi hivatkozások (összességében 398), 10 oldal.

Az egyes fejezetek további alfejezetekre oszlanak, ezek közül emlitem:

2. Irodalmi előzmények

Az Alzheimer kór definíciója, pathológiájának jellemzői,  
Az Alzheimer kór pathológia lehetséges terápiai célpontjai,  
Gyógyszerkutató az Alzheimer kórban.

4. Alkalmazott anyagok, vizsgálati módszerek és eszközök

Szintézisek,  
Mintakészítési protokollok,  
A béta amyloid aggregációjának tanulmányozása,  
Molekuláris biológiai technikák,  
In vitro biológiai kísérletek,  
In vivo magatartásvizsgálatok,  
Molekulamodellés,  
Mérések kiértékelése.

5. Eredmény és értékelésük

Középpontban az Alzheimer kór,  
Az intracelluláris amyloid prekursor protein domen (AICD) mint terápiai célpont,  
A neurogenesis zavarára alapozott kísérletek,  
Az szigma 1 receptor (S1R) működésére alapozott gyógyszerfejlesztés.

6. Összefoglalás

Az amyloid kihívás,  
Az amyloid kaskád hipotézis (AKH)-re alapozott mechanizmus és gyógyszerkutató,  
A beta-amyloid különböző célpontokon alapuló fejlesztése.

Alkalmazott anyagok, vizsgálati módszerek és eszközök fejezetben az alábbi biológiai módszereket írja le:

Molekuláris biológiai módszerek,  
Western blot, dot blot és kereskedelmi valamint saját fejlesztésű ELISA rendszerek,  
Riboszóma frakció és béta-amiloid 1-42 oligomerek kölcsönhatás vizsgálat,  
Radioligandkötési tesztek, saját készítésű radioligand alkalmazásával ( $[^3\text{H}]$ (+)pentazocin és  $[^3\text{H}]$ DTG) szaturációs és displacement analízist végez.

Megadja továbbá az alkalmazott statisztikai módszereket. Itt jegyzem meg, hogy a statisztikai adatszolgáltatás esetenként hiányos: minden esetben, amikor átlag és szórás valamely formája kerül megadásra, a kísérleti esetszám (n) megadása nem nélkülözhető.

Az Értekezés a következő publikációs anyagra épül:

Jelölt közleményeinek száma fokozat megszerzését követően 79, ezekből az értekezés 20 folyóiratban megjelent, angol nyelvű közleményen alapul. Ezek megoszlása: 4 első szerzős, 5 társszerzős és 11 utolsó szerzős közlemény. Ezen közlemények impact faktor száma 68.861, hivatkozások száma 859. Jelölt két megadott szabadalomban feltalálótárs, ezek kellő dokumentálása megkívánt. Opponens megállapítja, hogy Fülöp doktor értekezése kellő közleményszám és minőség alapján került

benyújtásra.

Végül az Irodalmjegyzék következik, amely 398 irodalmi hivatkozást sorol fel.

A kísérleti munkát 53 ábrán és 12. táblázatban foglalja össze.

Az értekezés szövege világos, elírást, hibát a szövegben nem találtam.

A tézisek alapján az értekezés legfontosabb következtetései, amelyek egyben jelentős és új tudományos eredményként és megállapításként is elfogadhatók, a következők:

1. Protokollokat dolgoz ki a szintetikus béta-amiloidok (A $\beta$ 1-42, A $\beta$  25-35 és AMCA, A $\beta$ 1-42 származék) biológiai kísérletekben történő felhasználásra. Kapcsolatot talál a peptid aggregációs állapota és az általuk kiváltott epileptiform aktivitás között.

2. Kimutatja, hogy az izo-béta-amiloid1-42 aggregátumok neurotoxikus hatással bírnak celluláris szinten, agyszelet elektrofiziológiás vizsgálatban, hippocampalis dendrit állomány morfológiában és magatartás valamint tanulás vizsgáló kísérleti rendszerekben. Követi az oligomerek eloszlását icv adás után az agyállományban.

3. A béta-amyloid1-42 oligomerekkel kölcsönhatásba lépő fehérjét azonosít, kimutatja, hogy ezen aggregátumok befolyásolják az Alzheimer kórban megfigyelt mitochondriális dysfunkciót.

4. Bevezeti az aggregáció módosító fogalmat olyan kis molekulású anyagokra, amelyek a béta-amiloid aggregátumokkal kölcsönhatásba lépnek. Az alacsony molekulású béta-amiloid oligomerek meghatározására ELISA rendszert hoz létre.

5. 65 Peptid/peptidomimetikus vegyületet szintetizál és szabadalmaztat. Ezek közül a P33 jelzésű molekuláról tételez fel Fe65 fehérje moduláló hatást. Következtet, hogy az Fe65 fehérje és az intracelluláris amiloid prekursor protein-domén kölcsönhatás a béta-amiloid patológiát kedvezően befolyásolja transzgen egérben.

6. Kimutatja Alzheimer kór transzgen egérmodellben, hogy a P33 molekula krónikus adása a neurogenesis folyamatokat kedvezően befolyásolja.

7. Megállapítja, hogy akut béta-amiloid1-42 adásával a béta-amiloid patológiát jellemző neurogenesis károsodás és neuroinflammáció váltható ki. A modellben 40 potenciális sigma receptor ligandot vizsgál receptor kötési teszten. Feltételezi, hogy szigma 1 receptor ligandok terápiás értékűek lehetnek Alzheimer kór kezelésében.

Kritikai észrevételek, illetve kérdésfelvetések:

Az Értekezés szerkesztésre vonatkozó megjegyzések:

1. Az Értekezés viszonylag nagy számú rövidítést tartalmaz, amelyek listája az értekezés végére került. Ez azzan jár, hogy az olvasónak rendszeresen vissza kell lapoznia a listához a rövidítés megértéséért. Valamely rövidítés bevezetése előtt az első alkalommal történő alkalmazásnál a szövegben a rövidítés ismételtelen nem kerül kiírásra.

2. Az Értekezés nem tartalmazza a saját közleményeket, az Irodalom jegyzékben vastag betűvel szedett közleményekről vélhető, hogy azok, amelyek az Értekezés alapját képezik. Az hivatkozások azonban csak az első szerző nevét jelölik, valamint az első oldal oldalszámát.

3. Tapasztalható bizonyos aránytalanságok: az Irodalmi előzmények, amely a Bevezetésnek felel meg, 27 oldal, míg az Összefoglalás-kitekintés 6 oldal terjedelmű.

Az Értekezés kísérletes munkára vonatkozó kérdésfelvetések:

1. A 4.8.pontban említi új statisztikai módszer kialakítását és alkalmazását a Morris Water Maze vizsgálatban. A módszert kiterjedten alkalmazzák konvencionális statisztikai rendszerek felhasználásával. Miért volt szükséges új eljárás kidolgozására, mennyiben elfogadott annak alkalmazása?

2. A receptorkötési tesztben membrán preparálás két species (tengerimalac és patkány)-ból és májszövetből történt egy olyan vizsgálati körben, amely döntő mértéken a központi idegrendszert érinti. Mi volt a megfontolás, hogy membrán preparálás nem agyból (corex vagy hippocampus) történt?

3. 12 Molekula receptorkötési eredményét közli, ezek szerkezetileg különböző molekulák és a megadott inhibíciós konstans (Ki) értékek alapján többszörösen gyengébb hatásuk, mint a referens vegyületek. Referens legkifejezettebben megközelítő az L1 vegyület S enantiomerje. Van-e itt szerkezeti hasonlóság a referens vegyületek és az L1 vegyület szerkezete között? A 11. táblázatban közölt Ki értékek S1R vagy S2R-re vonatkoznak-e?

Összefoglalóan Opponens véleménye az, hogy dr. Fülöp Livia MTA doktori értekezése a formai követelményeknek megfelel, az értekezés a farmakológia nemzetközi trendjéhez igazodik és témaválasztása korszerű, az értekezés új és hiteles adatokat tartalmaz.

Fülöp dr. kísérletes munkája interdiszciplinális, alap és alkalmazott kutatás jellegű és az azokból levonható következtetések gyógyszerfejlesztési irányokat jelöl ki. Fülöp dr. a korábbi tudományos fokozat megszerzését követően további eredményekkel gyarapította a tudományozakot. Mindezek alapján javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsájtását és sikeres védelem esetén dr Fülöp Livia részére az MTA doktori fokozat odaitélését.

Budapest, 2025. január 25.



Dr. Hársing László Gábor  
tudományos tanácsadó  
az orvostudomány doktora, MTA doktor  
a gyógyszerteran habilitált doktora, Semmelweis Egyetem  
Semmelweis Egyetem, Budapest  
Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet