

Válasz Prof. Párducz Árpád bírálatára

Dr. Ábrahám István „Az ösztrogén nem-klasszikus hatásainak mechanizmusa és szerepe a központi idegrendszerben” című MTA Doktori pályamű

Tisztelt Professzor Úr!

Nagyon köszönöm munkám építő jellegű kritikáját és pozitív megítélését, valamint támogató állásfoglalását. Kérem, engedje meg, hogy kérdéseire az alábbiakban pontról pontra válaszoljak.

1. Kiszámoltuk az ERK1/2 denzitását optikai disszektor módszerrel is. Azonban ez nem változtatta meg az eredményeket, mivel az ösztradiol nem volt hatással az ERK1/2 expresszióra.
2. Elnézést kérek, hogy nem minden esetben mutattam meg az elemszámot az ábra aláírásokban. Mint ahogy a közleményekben jeleztük ezekben és más esetekben is az elemszám mindig elérte a minimális 4-et csoportonként. A genistein és az ösztradiol dózis sorozatát az x tengelyen uniformizálva akartam feltüntetni és így az eredeti értékekből kiindulva ng/g-ban megadni. Azonban a számolás közben hibát vétettem és ezek a hibás adatok kerültek a 12. és 13. ábrára. Elnézést kérek ezért, természetesen a cikkekben szereplő dózisokkal dolgoztunk
3. A pCREB és pERK1/2 kvantitatív immunhisztokémia elemzése megmutatta, hogy a „legaktívabb terület” a MPN és az AVPV volt, míg a gCTX-ben és a CA1-ben elszórtan mutakozott immunoreaktivitás kontroll állapotban. Tapasztalataink alapján a nem kolokalizáló pCREB és a pERK1/2 immunprecipitátumról nagyon nehezen és ritkán mondható meg, hogy neuront illetve glia sejtet reprezentál.
4. Az ERK1/2 immunhisztokémia esetében a citoplazmatikus festődést mutató sejtek nagyszámú átfedése miatt optikai denzitást mértünk. Ezzel szemben az ERK1/2 foszforilációjának mértékét sejtszámmal jellemeztük, így ez a szám megadja, hogy hány sejt kezdett pERK1/2-t expresszálni az ösztradiol kezelést követően.
5. Vizsgálataink azt mutatták, hogy a GnRH neuronokra ürülő GABA és az ennek következtében megjelenő intracelluláris Ca^{2+} emelkedés 15 perces latenciával jelenik meg. Az ösztrogén lipofil tulajdonságai miatt nem mosható ki a sejtekből, ezért nem meglepő, ha a kimosási periódusban is jelen van a hatás. A 15 perces latencia valódi okát nem ismerjük, azonban feltesszük, hogy ez az idő szükséges a GABA tartalmú szinaptikus vezikulák mobilizációjához és a szinaptikus részbe való ürüléshez, amelyet a korábbi kísérletek szerint az ösztradiol szabályoz (Sharron és mtsai., J. Neurosci., 2007, 27:2102-2111).
6. Jelenleg publikációra készítünk elő egy olyan anyagot, amelyben leírtuk az ösztradiol indukálta CREB foszforiláció dinamikáját GABAerg neuronokon térben és időben, immunhisztokémia és transzgenikus technológia felhasználásával. Ezekből a vizsgálatokból is látható, hogy a substantia innominatában/nucleus basalis magnocellulárisban lévő kolinerg neuronokon szinaptizáló GABAerg neuronokon is megfigyelhető az ösztradiol nem klasszikus hatása. Elképzelhető, hogy a kolinerg neuronokon megvalósuló gyors ösztradiol hatás részben GABAerg neuronoktól is

függ, mivel a TTX-es kísérleteinkkel nem zártuk ki az akciós potenciál független GABAerg neurotranszmissziót ezeken a neuronokon. Folyamatban vannak Ca^{2+} imaging és egysejt elektrofiziológiai vizsgálataink, melyekben a GABAerg neuronok szerepét vizsgáljuk az ösztradiol indukálta nem klasszikus mechanizmusokra kolinerg neuronokban.

Végül szeretném megköszönni a Professzor Úrnak, hogy MTA doktori disszertációm bírálatát elvállalta. Kérem, fogadja el a kérdéseire adott válaszaimat.



Dr. Ábrahám István
Pécs, 2013. szeptember 18.