

**OPPONENSI VÉLEMÉNY****Teke Kornélia „A nociceptin-nocistatin rendszer szabályozó szerepe és szabályozottsága: kapcsolat a biogénamin rendszerrel” című MTA doktori értekezéséről**

Az összesen 140 oldal terjedelmű, gondosan megszerkesztett, jól áttekinthető magyar nyelvű dolgozat stílusa gördülékeny, olvasmányos, mondatszerkesztése világos. Tartalmilag és formailag is megfelel az orvos-biológiai tudományos doktori értekezések követelményeinek.

A dolgozat alapjául szolgáló 25 eredeti közlemény (és 2 absztrakt) összesített impakt faktora 49.75, ezekre a 2002. óta megjelent publikációkra kapott független idézetek száma a disszertáció benyújtásakor 134 volt. E scientometriai adatok is jelzik, hogy a munka értékes új adatokat szolgáltatott a tudományterület számára. A dolgozatok döntő többsége a nociceptin és nocistatin plazma- és szöveti koncentráció-változásainak vizsgálatára irányult különféle klinikai kórállapotokban és állatkísérletes modellekben. Célul tűzték ki továbbá a nociceptin-rendszer összetett kapcsolatainak feltérképezését a hisztamin, szerotonin és noradrenalin rendszerekkel, ehhez specifikus analitikai módszereket adaptáltak és fejlesztettek ki. A munkacsoport tevékenysége a nociceptin-kutatás területén egyértelműen úttörő jellegű és nagy jelentőségű. Ezek alapján a szerző tudományos munkája és publikációs aktivitása eleget tesz az MTA doktora cím megszerzéséhez előírt követelményeknek.

Az értekezés hagyományos felépítésű, az elején részletes tartalomjegyzék tájékoztat az egyes fejezetekről, a munka struktúrájáról, hasznos az ezt követő rövidítésjegyzék is. A közel 20 oldalas, jól felépített, demonstratív ábrákat is tartalmazó bevezetés logikus áttekintést ad a munka előzményeiről, bemutatja a nociceptin NOP receptorát, patkány és emberi agyban való előfordulását, szintetikus ligandjait, a nociceptint és a nocistatint, valamint a biogén amin rendszerekkel való kapcsolatait. Ezekre az adatokra szervesen épül a célkitűzéseket definiáló következő fejezet, a munka célját 5 pontban egyértelműen és világosan fogalmazza itt meg a szerző. Az ugyancsak 20 oldalnyi módszertani részben az alkalmazott patkánykísérletes modellek, klinikai vizsgálati elrendezések és a mérési technikák (analitikai módszerek) leírása

logikus, világos, különösen hasznos a vizsgált betegek adatainak táblázatos formában való bemutatása. Az eredmények ismertetése 28 oldalon a célkitűzésekben megfogalmazottaknak megfelelően történik, mind a betegek plazmamintáinak analízise, mint az állatkísérletes vizsgálatok tekintetében. A logikusan összeállított ábraanyag és táblázatok a szövegrészek között található, az illusztrációk illeszkednek a fejezetekbe. A eredmények értelmezésére, megbeszélésére, az irodalmi adatokba való beillesztésére, valamint a mértéktartóan, helyesen levont következtetésekre 15 oldalon keresztül kerül sor. A dolgozat végén a szerző 13 pontban felsorolja a doktori értekezés legfontosabb új megállapításait, önálló felismeréseit. A 23 oldalas, formailag precízen megszerkesztett és rendkívül gazdag irodalomjegyzék felöleli a témában megjelent első adatokat és a legújabb cikkeket is, egyértelműen széleskörű irodalmi tájékozottságáról ad bizonyosságot.

A disszertációban bemutatott legfontosabb eredmények, újdonságok, megállapítások:

1.) *Klinikai mintákon* végzett mérések során megállapították, hogy

- Wilson kóros betegek, primer biliáris cirrhosisban szenvedők, valamint különféle daganatos betegek plazmamintáiban szignifikánsan magasabb nociceptin-koncentrációk mérhetők,
- migrénesek plazmájában szignifikánsan alacsonyabb nociceptin-szintek detektálhatók az egészséges önkéntesekkel összehasonlítva, amely roham alatt további dráma csökkenést mutat,
- cluster fejfájásban szenvedők esetében rohammentes állapotban nem változik a plazma nociceptin-koncentráció, de roham alatt szignifikánsan csökken,
- akut ischemiás stroke-ban emelkedik a plazma nociceptin-szint, amelyet szerotonin anyagcserezavar is kísér,
- krónikus ischemiás állapotokban a klinikai állapot súlyosságával korrelálva csökken nociceptin plazma-koncentráció.

2.) *Patkánymodellekben végzett kísérletekben* arra a felismerésre jutottak, hogy

- streptozotocinnal kiváltott krónikus diabétesz-modellben szignifikánsan nő a központi idegrendszeri nocistatin-koncentráció,
- újszülöttkori nociceptin- és nocistatin-kezelés felnőtt állatokban megváltoztatja az agyi dopamin-, szerotonin- és noradrenalin-anyagcserét („hormonális imprinting”),
- újszülöttkori b-endorfin-adás nocistatin-szint emelkedést és agyi régió-szelektív szerotonin turnover-fokozódást eredményez.

3.) Nem szervesen a nociceptin-kutatáshoz kapcsolódóan ugyan, de a kutatási területen kétségtelenül úttörőként, optimalizált HPLC módszert dolgoztak ki két acetilkolin-észteráz reaktivátor vegyület bioanalitikai meghatározására szérumból, agy- és liquormintákból. Ennek segítségével megállapították e vegyületek agyi penetrációját és átmeneti szerotonin-turnovert csökkentő hatásait.

A dolgozattal kapcsolatos kérdéseim:

1.) A NOP receptor és a nociceptin központi idegrendszeri lokalizációja a bevezetésben részletes bemutatásra kerül. Ezzel szemben a perifériás expressziót, eloszlást és funkciókat nem, illetve a NOP receptorra vonatkozóan mindössze néhány mondatban, meglehetősen szűkszavúan említi a szerző a 14. oldal alján és a 15. oldalon lévő ábrán. A májbetegségben, tumoros és ischemiás klinikai állapotokban való vizsgálatok indoklásához és értelmezéséhez a perifériás szövetekben való előfordulás részletes bemutatása fontos. Milyen szerv-, szövet-, és sejtszintű adatok állnak rendelkezésre erre vonatkozóan?

2.) Az agonisták és antagonisták potenciális terápiás felhasználását bemutató 5. ábra meglehetősen nehezen értelmezhető és -amennyiben a címe megfelelő- összemosódik rajta a receptor aktiváció- illetve blokkolás hatásainak jellemzése. Mely indikációk esetében jelentenek az agonisták és mely esetekben az antagonisták gyógyszerfejlesztési perspektívákat? Milyen lehetséges mellékhatásokkal kell számolni? Hogy értékeli a klinikai farmakológiai vizsgálatok eddigi eredményeit? Lát-e valamely esetben a közeljövőben törzskönyvezhető gyógyszerre reális esélyt?

3.) Milyen mechanizmusokat és hatásokat ért pontosan az alatt a megállapítás alatt, hogy „Wilson kóros betegekben a nociceptinerg jelátvitel tartós fokozódásával kell számolni”? Ismer-e erre vonatkozóan funkcionális adatokat? Van-e ennek klinikai jelentősége?

4.) A különféle, rendkívül heterogén daganatos betegek (csoportonként 1-2 tüdő, hasnyálmirigy, epeúti, vese, mellékvese, prosztatata, lymphoid leukemia, stb.) eredményei egyben kerültek értékelésre. Ezek makroszkópos és mikroszkópos pathológiai viselkedésükben, mikro környezetükben, invazivitásukban, metasztázisképzésben, immunológiai viselkedésükben stb. nagyon eltérő tumor-típusok, véleményem szerint nem szerencsés együtt értékelni őket. Milyen primer tumorban szenvedtek a metasztázis

csoportban lévő betegek, milyen klinikai stádiumban voltak, mekkora és hány áttét volt? Kaptak-e ezek a betegek bármilyen gyógyszeres kezelést? A 82. oldalon szerepel, hogy a „daganattípustól és metasztázistól függetlenül a nociceptin-szint kiugróan magas”, azonban ezt 1-4 elemszámú klinikai csoportból nehéz megállapítani. A tumoros betegekben mért jelentősen emelkedett nociceptin plazma-koncentrációt az immunfolyamatokban való részvétellel magyarázza. Elképzelhető-e, hogy a tumor környezetében lévő szövet-szétesés és/vagy magának a tumornak a szétesése eredményezi a nociceptin-szint emelkedését? Mit jelent pontosan az a megállapítás, hogy „Adataink klinikai vizsgálatokban az immunszuppresszív folyamatok és a nociceptinerg rendszer összefüggéseit igazolják.”? Ismer-e irodalmi adatokat a NOP receptor expressziójára és funkcionális jelentőségére vonatkozóan tumoros állapotokban?

5.) Mi lehet az oka, mechanizmusa és funkcionális jelentősége a migrénesekben a rohammentes periódusban mért alacsonyabb nociceptin plazma -koncentrációnak, valamint további csökkenésének a roham alatt? A trigemino-vaszkuláris rendszer aktivációja során a peptid koncentrációjának emelkedését várnánk (mint pl. a CGRP esetében). Ok vagy okozat lehet inkább migrénesekben az alacsony nociceptin-szint? Vannak-e állatkísérletes adatok a nociceptin-koncentrációk változására a trigeminovaszkuláris aktiváció modelljeiben?

6.) Mi lehet a magyarázata annak, hogy akut stroke-ban emelkedik, krónikus ischémiás állapotban csökken a nociceptin plazma -koncentráció? Milyen választ adna az értekezésben is feltett, de nyitva hagyott kérdésre, hogy „az alacsony nociceptin-szint a krónikus ischémiás állapot következményeként jön-e létre vagy oka a kardiovaszkuláris betegségnek”?

7.) Mi a magyarázata annak, hogy az 15. és 18. ábrákon oszlop diagramokon, a 16. és 19. ábrákon viszont „box plot” formában ábrázolja az eredményeket?

8.) A streptozotocinnal kiváltott I. típusú diabétesz-modellt valóban gyakran használják metabolikus polyneuropátia (és egyéb diabétesz-komplikációk, pl. retinopátia, nefropátia) modelljeként. Nem lehet azonban egyértelműen neuropátia modellnek tartani anélkül, hogy a nociceptív küszöbök meghatároznánk és a hiperalgéziát, idegkárosodást igazolnánk. Általában nem minden állatban és nem azonos idő után alakul ki neuropátia még hasonló mértékben emelkedett vércukorszintek esetén sem. Történtek-e nociceptió-mérések a vizsgálatok során?

Bár a 21. és 22. ábrákon hiányos a statisztikai analízis eredményének jelölése, úgy tűnik, hogy a nocistatin-koncentráció a 4. héttől már a plazmában is jelentős emelkedést mutat, a CFS-ben pedig a 8. héttől. Biztos abban, hogy a neuropátia eredményezi a nocistatin-koncentrációk emelkedését (elsősorban a plazmában), és nem a komplex metabolikus zavar vagy egyéb szervkárosodás (pl. a vesekárosodás és urémia) közvetlen következménye?

9.) Milyen mechanizmussal szabadítja fel az i.c.v. adott nociceptin a hisztamint és csökkenti le a szerotonin szintet a liquorban? Mi lehet ennek a következménye? Vannak erre vonatkozóan funkcionális adatok? Miért a kontroll értékek %-ában ábrázolja az adatokat a 23. és 24. ábrán, valamint a 10. táblázatban? A 10. táblázatban a plazma nociceptin-szint ng/ml, a korábbi ábrákon pg/ml nagyságrendű. Elírás ez az utóbbi? Saját előzetes kísérletek vagy irodalmi adatok alapján választották az állatonként adott 5.5 nmol nociceptin dózist?

10.) Arra a következtetésre jutottak, hogy a rendkívül hidrophil K27 és K203 vegyületek jó agyi penetrációját valószínűleg karrier-mediált transzport teszi lehetővé. Melyik hordozófehérje végezheti ezt a transzportot? Milyen irodalmi, illetve saját kísérleti adatok alapján választották a vegyületek alkalmazására az 50 μ mol dózist? Milyen mechanizmussal csökkentik régió-szelektíven az agyi szerotonin-koncentrációt ezek az acetilkolin-észteráz-reaktívátorok? Milyen előnyei vannak ezeknek a K vegyületeknek a jelenlegi klinikai gyakorlatban használt obidoximmal és pralidoximmal összehasonlítva?

Formai és tartalmi kritikai észrevételeim:

1.) Bár az értekezés szerkezete teljes mértékben megfelel a klasszikus struktúrának, jelen esetben én logikusabbnak és könnyebben értelmezhetőnek tartottam volna az általános bevezető után a humán vizsgálatok és az állatkísérletes munka módszereit, eredményeit, megbeszélését és a belőlük levont következtetéseket két nagy fejezetre osztani és azokat egymás után bemutatni külön egységekben.

2.) Az utolsó résztéma, a biszpiridinium aldoximok hatásának vizsgálata a központi idegrendszeri biogén aminok és metabolitjaik koncentrációira nagyon érdekes és fontos, azonban kissé „kilóg” a disszertáció gondolatmenetéből. Megtöri az egyébként teljesen koherens egységet, a nociceptin-nocisztatin rendszer vizsgálatához nem kapcsolódik, a bevezetésben egyáltalán nincs erre vonatkozóan semmi irodalmi háttér bemutatás, és ennek a

résznek a diszkussziója is rendkívül rövid, leegyszerűsített. Véleményem szerint az értekezés e fejezet nélkül is szép, kerek, új információkkal teli munka lett volna, erőltetettnek érzem a címhez egyébként sem illeszkedő téma bevonását.

3.) Tisztában vagyok azzal, hogy nagyon nehéz a csaknem másfél évtizedet felölelő munka sok különböző közleményéből formailag egységes ábraanyagot bemutatni, de itt a hasonló adatokat bemutató ábrák még egy alfejezeten belül is nagyon sokfélék (23.-26.), keverednek a színes oszlop-diagrammok a fekete-fehérekkel, néhány ábra minősége gyenge (pl. 23. ábra), továbbá néhány (26.-32.) túl kicsi, a feliratok nehezen olvashatóak. Egy ilyen gondosan megszerkesztett magyar nyelvű dolgozatban elegánsabb lett volna az angol közleményekből átvett ábrákat (pl. 2., 8., 30.) magyar feliratozással ellátni és nagyobb méretben, jobb felbontásban beilleszteni.

4.) A módszertani fejezetekben való ismertetés ellenére célszerű lett volna az egyes ábra-magyarzatokban és táblázat-aláírásokban is egységes módon leírni az aktuális statisztikai módszereket. Több táblázatban csak „ns” megjelölés és nyilak szerepelnek (pl. 12., 13.), másutt 5 tizedes jegyig ki van írva a p érték. A 26.-32. ábrákon egyáltalán nem szerepel statisztikai összehasonlítás.

E megjegyzéseim azonban nem befolyásolják azt a tényt, hogy Tekes Kornélia egyértelműen bizonyította alkalmasságát nemzetközileg magas színvonalú originális kutatómunka irányítására, vezetésére, klinikai és elméleti kutatások összekapcsolására, a munkacsoportok koordinálásra és utánpótlás-nevezésre. Megállapítható, hogy az értekezés hiteles és eredeti adatokat tartalmaz, fontos és értékes tudományos munka. Ezúton is gratulálok hozzá, mielőbbi nyilvános vitára bocsátását és sikeres védés esetén az MTA doktora cím odaítélését javaslom.



Dr. Helyes Zsuzsanna

egyetemi tanár, MTA doktora

PTE ÁOK, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet

Pécs, 2014. 02. 12.