

## Válasz Dr. Bagdy György Opponens Úr bírálataira

Köszönöm az Opponens úr bírálatát, mely szerint „igen szép, kimerítően részletes a munka”, „az alkalmazott módszerek korszerűek, az eredmények értékesek”. Az említett apróbb hibákért, mint egyes elírások, a tézisek bizonyos részeinek gördülékenysége, illetve egyes pontatlan statisztikai leírások, elnézést kérek. Itt említeném meg, hogy a prolaktin szinteket a különböző időpontokban ugyanazokból az állatokból mértük, a mintavételezés krónikusan beültetett jugularis kanüllel történt. Ennek megfelelően a statisztikai elemzést két utas repeated-measure ANOVA teszttel végeztük, aminek az alapján meg tudtuk állapítani, hogy az antagonista hatással volt a prolaktin szintekre. A továbbiakban arra voltunk kíváncsiak, hogy az egyes időpontokban van-e szignifikáns különbség a dózisok között. Mivel ekkor több, mint 2 különböző koncentrációt kellett összehasonlítani, egy utas ANOVA, majd Bonferroni *post hoc* tesztet használtunk.

Az Opponens Úrnak a bírálatban megfogalmazott kérdéseire adott részletes válaszok a következők:

1. A TIP39 három agyterületen expresszálódik, melyek közül kettőben, a thalamus posterior intralamináris központjában (PIL-ben) és a mediális paralemniscalis magban (MPL-ben) hasonló a TIP39 szintje mind az egyedfejlődés során, mind anyaállatokban. Ezzel ellentétben, a harmadik agyterületen, a thalamus subparafasciculáris területén (SPF-ben) később, csak posztnatális korban jelenik meg a TIP39, és bár felnőtt korra a szintje itt is lecsökken, anyákban nem emelkedik meg. Bár kísérletes adat nem áll rendelkezésre ezen különbség okának tisztázására, két eltérő magyarázatot is elképzelhetőnek tartunk: 1. A TIP39 sejtek különböznek egymástól, más géneket expresszálnak, így transzkripciós faktoraik is különböznek. A TIP39 gén promotor régiója érzékeny lehet például egy olyan transzkripciós faktorra, amely csak a PIL és MPL sejtekben van meg, de nincs meg az SPF sejteiben. 2. A TIP39 sejtek eltérő neuronális kapcsolatrendszerrel rendelkeznek, így eltérő bemenetet kapnak. Még azonos génkészlet esetén is elképzelhető, hogy például az anyák esetében a PIL és MPL sejteji a szoptatásból származó információt kapnak, de nem érkezik ilyen bemenet az SPF-ba, és ez a TIP39 expresszió eltérő mértékét eredményezheti. Ezt a teóriát támasztja alá az az eredményünk, mely szerint, c-fos expresszió történik szoptatás hatására a TIP39 sejtekben a PIL és az MPL területén, de nem látunk hasonló aktiválódást az SPF-ben.
2. Korai egyedfejlődés alatt nem vizsgáltuk, hogy hím és nőstény állatokban különbözik-e a TIP39 szintje. Postnatális időszakban nem láttunk különbséget a TIP39 eltűnésének sebességében vagy mértékében. Így valószínűleg nincs nemi különbség a TIP39 korai funkcióiban. Hogy mik lehetnek ezek a funkciók, arról csak találgatni tudunk. Mivel TIP39 tartalmú rostok is láthatóak voltak embrionális korban, elképzelhető, hogy a TIP39 már ekkor felszabadul preszinaptikusan. Leírták, hogy a TIP39 bizonyos vizsgált sejtekben (HEK293 humán vesesejtek) gátolta a sejtosztódás sebességét. Ezek alapján elképzelhető, hogy hasonló hatása lehet a TIP39-nek egyes agyi sejtek esetén is.

3. Korábban publikáltuk a PTH2 receptor és vezikuláris glutamát transzporter 2 (VGLUT2) dupla immunfestésével, hogy a hypothalamusban található PTH2 receptor tartalmú idegvégződések serkentőek lehetnek. Az amylin és a TIP39 sejtek esetében nem ismert irodalmi adat arra vonatkozóan, hogy mi lehet a fő neurotranszmitter. Azonban a PIL-ben és MPL-ben elhelyezkedő TIP39 sejtek esetén meggyőző TIP39 immunhisztokémiával kombinált VGLUT2 in situ hibridizációs jelöléseink szerint a TIP39 sejtek glutamátergek. Ennek megfelelően a GABA neuronokra jellemző glutamát dekarboxiláz (GAD) mRNS-ét a PIL TIP39 sejtjei nem tartalmazzák. Vagyis ezen sejteknél a calbindin tartalom nem jelenti azt, hogy a sejtek GABA-ergek lennének.
4. A környéki idegrendszerben TIP39 expresszióját csak a spinális ganglionokban vizsgáltuk. Itt RT-PCR technikával megtaláltuk a TIP39 mRNS-t, de ezen eredményünket sem in situ hibridizációs hisztokémiával, sem pedig immunfestéssel nem sikerült megerősíteni. Ezzel ellentétben a TIP39 receptorát, a PTH2 receptort egyértelműen sikerült azonosítani a spinális ganglionokban, ahol szelektíven a mielinizált A típusú nociceptív rostokban helyezkedik el, míg a kisebb, C-rostokkal rendelkező sejtek nem fejezik ki. A környéki idegrendszer egyéb elemeiben a TIP39 jelenlétét nem vizsgálták.
5. Jelenleg nem áll rendelkezésre olyan adat, mely szerint a kölykök sírása, segítségkérése befolyásolja a TIP39 vagy receptorának kifejeződését, termelődését. Mindazonáltal érdekesnek tartjuk ennek a kérdésnek a vizsgálatát. A patkány kölykök izoláció vagy hideg hatására jellegzetes frekvenciájú és mintázatú ultrahangot bocsátanak ki, melynek hatására az anyjuk keresni, majd gondozni kezdi őket. Mivel korábban megmutattuk, hogy a magas intenzitású zaj aktiválja az egyébként közvetlenül az agytörzsi auditoros magok mellett elhelyezkedő MPL TIP39 sejtjeit, feltételezzük, hogy ezen sejtek fiziológiai körülmények között a kölykök által emittált ultrahang hatására aktiválódhatnak. Ez a kísérlet precízen úgy hajtható végre, ha felvesszük a megfelelő ultrahangot, majd visszajátsszuk az anyának, és nézzük viselkedését, valamint neuronális aktivációját. Sajnos jelenleg nem rendelkezünk olyan eszközzel, ami ultrahangot fel tud venni, és vissza tud játszani, de tervezzük ilyen rendszer beszerzését.
6. A PTH2 receptor funkciójáról emberben sajnos nem áll rendelkezésre adat. Azon eredményünk, mely szerint a PTH2 receptor emberben is jelen van, és eloszlása hasonló a rágszálókéval, csak egy, a transzlációs kutatások irányába tett lépésnek tekinthető.
7. A kérdés első része megegyezik Dr. Reglődi Dóra opponens asszony 7. kérdésével. A válasz: A TIP39 és az amylin expresszióját nem vizsgáltuk felnőtt hímekben, így nem tudjuk kizárni annak lehetőségét, hogy gondoskodó hímekben a neuropeptidok kifejeződnek. Kísérletesen ez a kérdés vizsgálható, hiszen rágszálók esetén az alommal együtt tartott hímek egy része gondozni kezdi a kölyköket, amely folyamatot a releváns szakirodalom a szenzitizáció szóval ír le. Egyetértünk az Opponens úr azon megállapításával, hogy bár ritkábban, de a gyermekágyi depresszió az

utódgondozásban résztvevő férfiakban is előfordul, ezért a jövőben tervezzük a kérdésnek a kísérletes vizsgálatát.

A TIP39 / amylin rendszerek kapcsolatát a monoaminerg rendszerekkel direkt módon nem vizsgáltuk, így csak a kísérleteink fő irányvonalai mentén talált eredményeink vannak. A TIP39 sejtek esetén feltűnő hasonlóság mutatkozik az SPF-ben, ahol az A11 dopaminerg sejtek és az itt elhelyezkedő TIP39 sejtek eloszlása jelentősen átfed, bár kolokalizáció nem található. Emellett az MPL-ben levő TIP39 sejteknek van topográfiai kapcsolata az A7-es noradrenerg sejtekkel, mert a két sejtcsoport határos egymással. TIP39 rostok találhatóak több dopaminerg sejtcsoportban, így a ventralis tegmentalis areaban is. Ennek ellenére arra eddig nem terjedtek ki a vizsgálataink, hogy beidegzik-e egymást a két rendszerhez tartozó neuronok, illetve tartalmazzák-e egymás receptorait.

8. Egyetértek az Opponens úrral abban, hogy a gyermekági depresszió fontos tünete a szorongás, és TIP39 null mutáns egerekben fokozott szorongás volt megfigyelhető. Ez arra utal, hogy a neuropeptid csökkentheti a szorongást, más eredményeink szerint pedig a peptid növeli az anyai motiváció mértékét. Ezen eredmények alapján arra következtethetünk, hogy nem a receptorának antagonistái, hanem agonistái lehetnek megfelelő gyógyszerek gyermekági depresszió esetén. A géntranszfer módszerek fejlődésével a neuropeptidok akár lokális termelése lehetségessé válhat a jövőben. Emellett, ha többet megtudunk majd a TIP39 és amylin rendszerek neurokémiai szabályozásáról, akkor talán olyan módszereket is találhatunk, melyek a peptidok endogén felszabadulását segítik elő.

Végezetül szeretném még egyszer megköszönni az Opponens úr bírálatát, és hogy támogatja az értekezés nyilvános vitára tüzését és az MTA Doktora cím odaítélését.

Budapest, 2014 szeptember 7.



Dr. Dobolyi Árpád  
tudományos főmunkatárs