

Válasz Dr. Nyakas Csaba Opponens Úr bírálataira

Köszönöm az Opponens úr dicsérő szavait, melyek nagyon megtisztelők. Külön örömmel tölt el az Opponens úr véleménye, hogy a választott téma „kiemelkedően fontos”. Szintén köszönöm lényegre látó kérdéseit, melyekre a következőkben válaszolok:

1. Vita folyik jelenleg az irodalomban azzal kapcsolatban, hogy a gyermekági vagy postpartum depresszió patomechanizmusát tekintve különbözik-e a major depressziótól. A jelenlegi terápiák csupán abban különböznek, hogy olyan antidepresszánt, mely az anyatejbe jutva károsíthatja az újszülöttet, nem alkalmaznak gyermekági depresszióban szenvedő, de szoptató nők esetén. Mi úgy gondoljuk, hogy a szülés után bekövetkező depressziós epizódok magas aránya (az anyák 10-15%-a) arra utal, hogy az agy postpartum adaptációi, illetve a postpartum adaptációk esetleges sikertelensége közvetlenül hozzájárulhat a depresszió kialakulásához. A bírálóval egyetértve fontosnak tartjuk a gyermekági depresszió állatmodelljének kialakítását a transzlációs kutatások szempontjából is, de ilyen modell jelenleg nem áll rendelkezésre. Jelenleg vizsgálataink folynak arra vonatkozóan, hogy az általunk azonosított neuropeptidet nem tartalmazó transzgén egerek hogyan viselkednek a depresszió állatmodelljeiben. Az amylin KO egerekkel kapcsolatban biztató, de eddig nem publikált adataink vannak, a kísérleteket Szabó Éva Rebeka PhD hallgatóm végezte. Ezek szerint a kényszerített úszás tesztben az amylin KO egerek a szülés előtt a vad típussal azonos módon viselkednek, míg az aktív viselkedések anyákra jellemző növekedése náluk nem következik be. Ez alapján az amylin hiányos egerek a postpartum depresszió állatmodelljei lehetnek.
2. A bírálónak teljes mértékben igaza van, hogy az anyai viselkedés számos genetikai és epigenetikai kutatás célpontja. Egy jelentős kutatási irány volt az elmúlt években Dr. Inga Neumann vezetésével annak vizsgálata, hogy kis- és nagymértékű szorongásra szelektált patkányok hogyan viselkednek anyaként. Általánosságban az a megállapítás volt levonható, hogy a szorongó patkányok fokozott mértékű anyai viselkedést mutattak, azaz nem sikerült a postpartum depresszió olyan állatmodelljét kialakítani, amely a kölykök elhanyagolásához vezet. Terveink között szerepel, hogy beszerezzük ezen modellállatokat abból a célból, hogy megvizsgáljuk a TIP39 és amylin rendszereik esetleges megváltozását.

Az anyai viselkedéssel kapcsolatos epigenetikai kutatások fő iránya, hogy az anyai gondoskodás csökkenése hogyan hat a kölykök további életére, szorongására, táplálkozására, szexuális és szülői viselkedésére, stb. Egy másik, még közvetlenebb epigenetikai változásokat feltételező irány, hogy megvizsgáljuk az első, illetve az előző szülés hatását a további alom gondozására. Nem meglepő, hogy a második alom gondozásában tipikusan még sikeresebbek a rágcsálók, mint az első alom esetében, és megfigyelhető, hogy a spontán anyai viselkedés is könnyebben kiváltható a már szült állatokban. Ebben a tanulási folyamatban fontos szerepet játszanak a preoptikus terület sejtjeiben levő DNS módosulásai DNS metiláz és acetiláz enzimek által, melyről Danielle Stolzenberg amerikai kutató számolt be többek között a közös idei összefoglaló cikkünkben is. Bár mind a TIP39, mind az amylin szintje a kontroll

szintre csökken a kölykök elválasztása után, eddig csak terveztük, de nem vizsgáltuk meg, hogy egy második alom esetén a növekedés szintje mekkora mértékű.

3. Valóban a felhasznált 5 db humán agy nagyon különböző betegségben elhunyt egyénektől származott. Természetesen elképzelhető, hogy ezen állapotok hozzájárulnak a neuropeptid rendszerek megváltozásához, amire számos példa akad. Elsősorban a tumorokat lehetne említeni, pl. a jól ismert hipofízis tumorokban jelentősen változhat neuropeptidok szintje, de agyi gliómák esetén is leírták cholecisztokinin, somatostatin, bradykinin expressziójának megváltozását. Éppen azért használtunk különféle betegségekben elhunyt személyek agyából vett mintákat, hogy ezen hatásokat kiegyenlítsük. Sajnos azonban csak a PTH2 receptor esetén jártunk sikerrel, mert a TIP39-et és az amylin nem tudtunk kimutatni humán agyban, ezért használtunk később majom agyat a primatesben való expresszió kimutatására. Ennél a pontnál meg kell azt is jegyezni, hogy nem tudtunk eddig szereztetni olyan agyat, amely szoptató anyától származott volna. Egy biztató próbálkozásom volt az amszterdami agybanknál, de vezetője, Dick Swaab sajnos arról értesített, hogy az általam a honlapjukról kikeresett anyai agyból már nincsen számomra megfelelő minta.
4. Nem áll rendelkezésre elektronmikroszkópos adat a TIP39 és amylin rendszerekről. Jelenleg folynak kutatásaink ebben az irányban a TIP39 rendszerrel kapcsolatban. Az adta érdeklődésünk alapját, hogy a PTH2 receptor fénymikroszkópos analízis alapján sokszor preszinaptikus terminálisban foglal helyet, mégpedig serkentő szinapszisokban. Azaz felmerül annak a lehetősége, hogy a TIP39 axo-axonikus módon tudja serkenteni a glutamáterg neurotranszmissziót. Mindazonáltal azzal is tisztában vagyunk, hogy a neuropeptidok sokszor nem szinaptikusan hatnak, sőt kifejezetten nagy távolságra tudnak diffúzióval eljutni, és kis koncentrációban is képesek aktiválni receptoraikat. A neuropeptidoknak általában, így vélhetően a TIP39 és az amylin esetében sincsen re-uptake, visszavétel. Ezért, a terminális takarékoskodik a neuropeptidokkal, kisebb ingerület esetén nem üríti a peptideket tartalmazó nagy, denz magvú vezikulákat, azok felszabadulásához jelentős mértékű kalcium szint növekedésre van szükség a preszinaptikus terminálisban.
5. A kondicionált helypreferencia teszt azon alapul, hogy az anya megjegyzi annak a ketrecnek a paramétereit, amelyikben korábban a kölykeivel volt együtt. Ha egy anyag, például egy PTH2 receptor antagonistá hat a memóriára, akkor bekövetkezhet a helypreferencia megszűnése az anyai motiváció csökkenése nélkül is. Kísérletünkben azonban az antagonistát lokálisan adtuk be vírus segítségével a preoptikus területre. Mivel a preoptikus területnek nincs ismert szerepe a memória tárolásában, valószínűbb, hogy az anyai motiváció csökkenése okozta a helypreferencia elvesztését.
6. A TIP39 sejtek morfológiáját csak korlátozott mértékben vizsgáltuk. Az MPL-ben a TIP39 sejtek sejtteste ovális alakú, a hosszabb átmérőjük $18 \pm 1 \mu\text{m}$, a rövidebb pedig $12 \pm 1 \mu\text{m}$. A PIL-ben és SPF-ben elhelyezkedő sejtek ennél nagyobbak tűntek, de statisztikailag elfogadható mérést nem végeztünk. Sajnos a TIP39 sejtek dendritjeinek száma és szerkezete sem ismert. Ezért nem állíthatjuk, hogy az SPF-ben levő TIP39 sejtek eltérő viselkedése anyában morfológiai különbségeken alapulna.

7. Az anyai adaptáció szabályozásában fontos szereppel bír az agy oxytocin rendszere, valamint a prolaktin hormon. Funkcionális szempontból ezért kitüntetett fontosságú, hogy a TIP39 és amylin rendszerek milyen kapcsolatban vannak az oxytocin és prolaktin rendszerekkel. Jelenleg vizsgáljuk ezen kapcsolatokat. Előkísérleti eredményeink szerint a TIP39 rostok beidegzik az oxytocin sejtek egy csoportját, melyek a preoptikus terület dorsalis részén helyezkednek el, de nem innerválják a paraventriculáris mag magnocelluláris szubdivíziójában levő oxytocin neuronokat. A prolaktin vonatkozásában a mai napig vitatott, hogy az agyban elhelyezkedő prolaktin receptorokat az agyban termelődő prolaktin, vagy pedig a vérből az agyba jutó prolaktin hormon aktiválja. Mindenesetre sikerült kimutatnunk, de eddig nem publikáltuk, hogy prolaktin receptorok vannak a PIL TIP39 sejtjein, sőt a prolaktin receptor által aktivált pSTAT nevű szignál transzdukcióban szereplő fehérje is megjelenik a PIL TIP39 sejtjeiben mind szoptatás, mind pedig szintetikus prolaktin hatására. Ezen kísérleteket, több más leírt kísérlettel egyetemben Dr. Cservenák Melinda munkatársam végezte. Ezen új adatok ellenére is egyetérték az Opponens Úr azon véleményével, hogy ha a gyermekági depresszió irányába akarunk lépni, akkor agykérgi struktúrákra is koncentrálnunk kell. Ezzel kapcsolatban elkezdtünk egy proteomikai kísérletet, ahol anyapatkányok mediális prefrontális kéreg szürkeállományát hasonlítjuk kontroll nőstény patkányokból származó mintákéval.
8. Mivel a hasnyálmirigy béta sejtjeiből az inzulinnal együtt felszabaduló amylin hormonnak a táplálékfelvétel szabályozásában van szerepe, felmerül, hogy az általunk felfedezett centrális amylin is szerepet játszhat a táplálékfelvétel szabályozásában, például szerepe lehet a laktáció során bekövetkező megnövekedett táplálékfelvételben. Erről azonban, valamint az amylin rendszer más táplálékfelvételt szabályozó agyi központokkal való kapcsolatáról jelenleg nem rendelkezünk kísérleti adattal. Mások megállapították, hogy az amylin hormon a vérből az area postrema kerületébe a központi idegrendszerbe, és a nucleus tractus solitarii-ban fejt ki hatását. Mi magunk röviden vizsgáltuk a pancreas amylin immunreaktivitását anyapatkányokban, de nem volt észrevehető különbség a kontroll állatokban találthoz képest.

Köszönöm az Opponens Úr véleményét, hogy a levont következtetésekkel maradéktalanul egyetért, és hogy a disszertáció nyilvános vitára kitűzését és elfogadását is javasolja.

Budapest, 2014 szeptember 7.



Dr. Dobolyi Árpád
tudományos főmunkatárs