

Válasz Dr. Reglódi Dóra Opponens Asszony bírálatára

Szeretném megköszönni az Opponens Asszony részletes bírálatát, és hálás vagyok hogy kiemelte: “a doktori értekezés kimagasló számú és színvonalú közleményekre alapszik, melyek mindegyikében a jelölt vezető szerepet játszott.” Köszönöm a kritikai megjegyzéseit és kérdéseit is, valamint, hogy felhívta a figyelmemet apróbb formai és tartalmi hiányosságokra.

Az értekezéssel kapcsolatos kritikai megjegyzéseire a válaszaim:

1. Egyetértek Opponens Asszonnyal abban, hogy szokatlan egy tudományos műben művészekről és triviálisnak tűnő hétköznapi dolgokról megemlékezni. Mindezt azért tettem, hogy felhívjam a figyelmet arra, hogy az anyaság agyi folyamatainak tudományos kutatása milyen mértékben elhanyagolt terület a társadalmi jelentőségéhez képest.
2. A prolaktin méretét, poszttranszlációs módosításait, és receptorát tekintve sem tekinthető neuropeptidnek. Elnézést kérek azért, hogy bár ezt kiemeltem, később magam is elkövettem azt a hibát, hogy a 17. oldalon együtt írtam prolaktinról és neuropeptidekről.
3. Az amylint 1989-ben azonosították a pancreasban, csak ehhez képest volt későbbi a szenzoros ganglionokban való 1995-ös leírása, nem fogalmaztam ezzel kapcsolatban pontosan. A központi idegrendszerben viszont az amylint nem írták le korábban, mi mutattuk meg elsőként 2009-ben az expresszióját a patkány anyák preoptikus területén.
4. A második célkitűzésben azért az említett 3 agyterületet vizsgáltuk az embrionális fejlődés során, mert az első célkitűzésben kivitelezett eloszlási vizsgálat ezeken a helyeken mutatta ki TIP39 expresszióját. Sajnos ez a magyarázat valóban kimaradt az értekezésből.
5. Egyes felhasznált állatok pontatlan leírásáért elnézést kérek. A TIP39 rendszer egyedfejlődését leíró munkában 6 időpontban 2-2 anya 3-3 kölykét vizsgáltuk. A TIP39 expresszióját 1 db, 3 napos makákó majom agyában vizsgáltuk, és írtuk le. Azért fiatal állattal dolgoztunk, mert feltételeztük a patkányban kapott eredmények alapján, hogy idősebb korra lecsökkenhet a TIP39 szintje, így kimutatása nehezebbé válik. Azért csak 1 db állaton mutattuk meg a TIP39 expresszióját, mert az egyezett a patkányban talált eloszlással, és nem tartottuk volna etikusnak egy újabb majomkölyök feláldozását erre a célra.
6. Az 51. oldal ábrafeliratának pontatlanságáért elnézést kérek. A 87. oldalon levő 26. ábra esetén a csillag a kontroll és a kisebb dózisú antagonistá közötti szignifikáns különbséget jelöli. A nagyobb dózis jól láthatóan szintén különbözik a kontroll értéktől.

Az Opponens Asszony kérdéseire adott részletes válaszaim a következők:

1. A TIP39 csak 10% hasonlóságot mutat a rokon peptidjeivel, és a parathormon az agyban nem fejeződik ki, így nem volt szükség rokon peptidek vizsgálatára. Az amylin viszont körülbelül 50% szekvencia homológiát mutat a rokon peptidjeivel, a calcitoninnal, calcitonin gene-related peptiddel (CGRP), adrenomedullinnal, intermedinnel. Mivel felmerült az anti-amylin antitest keresztreakciója ezen peptidekkel, szükség volt annak vizsgálatára, hogy ezen peptidek változnak-e anyák agyában. A preoptikus területen RT-PCR vizsgálatokat végeztünk, melynek az lett az eredménye, hogy számottevő mennyiségben csak CGRP és adrenomedullin fejeződik ki a területen, de ezen peptidek szintje sem változik anyákban.
2. Az amylinnek terhességgel, szoptatással kapcsolatos változásait eddig nem írták le semmilyen szervben az általunk publikált agyi indukción kívül. Értelemszerűen ezt leginkább ott lenne érdemes nézni, ahol jelen van amylin, vagyis a szintjét a vérben, valamint expresszióját a pancreasban és a szenzoros ganglionokban. Magunk immunhisztokémiai módszerekkel végeztünk vizsgálatot a pancreasban, de nem találtunk látható különbséget anya és kontroll nőstény amylin jele között.
3. Az amylinnek direkt hatása az újszülött metabolikus szabályozására akkor lehetne, ha amylin például az anyatejjel bejutna a kölykök szervezetébe. Kevés esélyét látom annak, hogy a preoptikus területen termelődő amylin el tudna jutni az anyatejbe, viszont könnyen elképzelhető, hogy a vérben levő pancreas eredetű amylin több más peptid hormonhoz hasonlóan megjelenik az anyatejben is. Az agyban kifejeződő amylinnek indirekt hatásai lehetnek a kölykök metabolizmusára, amennyiben az befolyásolja az anyai gondoskodás minőségét.

Az amylin fiatal kori kifejeződését eddig nem vizsgáltuk, holott egy tranzienst expresszió könnyen elképzelhető, például a TIP39 embrionális korban való megjelenése alapján is. Mindazonáltal nem tudjuk, hogy ha van ilyen expresszió, akkor arra hatással van-e az anyai gondoskodás mértéke.

4. Az anyai magatartás tesztelésére valóban számos vizsgálati módszer létezik a helypreferencia teszten kívül. Gyakran vizsgálják rágcsálónál, hogy az anya a fészekből kivett kölyköt milyen gyorsan viszi vissza a fészekbe, mennyi időt tölt a kölykei tisztogatásával, nyalogatásával, vagy a mesterségesen szétrombolt fészket milyen gyorsan építi újra. Jelenleg biztató előkísérleti adataink vannak arra vonatkozóan, hogy amylin hiányos egerek különböző, vizsgált anyai viselkedései eltérnek a vad típusú kontrollokétól. Emellett a múlt hónapban jutottunk hozzá TIP39 és PTH2 receptor hiányos egerekhez is, melyeket hasonló kísérletekben fogunk vizsgálni. Ezekről az állattörzsekről annyit tudni korábbi adatok alapján, hogy bár felnevelik kölykeiket, azok súlya és mérete is alacsonyabb elválasztáskor, mint a vad típusú anyák által felnevelt állatoké.
5. A különböző korú és nemű egyénekből származó agyak között a PTH2 receptor immunfestéssel vizsgált eloszlásában nem találtunk különbséget. Ez alátámasztja a korábbi hasonló eredményeinket, melyeket rágcsálókban kaptunk. Emellett arra is

utal, hogy bármely hatásra, például az anyákban kölykök hatására megjelenő TIP39 azonnal ki tudja fejteni hatását a jelenlevő receptorán keresztül.

A PTH2 receptor eloszlását majomból származó agyon in situ hibridizációs hisztokémiával, míg humán agyban RT-PCR technikával vizsgáltuk. A két technikával jó egyezést kaptunk, a vizsgált 23 agyterület közül csupán egy esetben, a középagyi pretektális területen találtunk ellentmondást. A PTH2 receptorral ellentétben a TIP39 expresszióját csak majomban tudtuk leírni, ez a rágcslókhhoz hasonlóan jelentősen különbözött a PTH2 receptor eloszlásától.

6. Egyetértek Opponens Asszonnyal abban, hogy a humán minták esetén a különböző korú és anamnézisű betegekből származó minták okozhatnak különbségeket, azonban ezek vizsgálata számos további hasonló okokból elhunyt, illetve korban és nemben hasonló minta vizsgálatát követelné meg, ami túlmutat az általunk elvégzett munkán. Mindazonáltal például ezek az eltérések is okozhatták a humánból és a majomból származó eredmények közötti kisebb különbségeket a PTH2 receptor expressziójának mértékében.
7. A hímeekre vonatkozó utolsó kérdés megegyezik Dr. Bagdy György Opponens Úr 7. kérdésének első részével, a választ: A TIP39 és az amylin expresszióját nem vizsgáltuk felnőtt hímegekben, így nem tudjuk kizárni annak lehetőségét, hogy gondoskodó hímegekben a neuropeptidok kifejeződnek. Kísérletesen ez a kérdés vizsgálható, hiszen rágcslók esetén az alommal együtt tartott hímegek egy része gondozni kezdi a kölyköket, amely folyamatot a releváns szakirodalom a szenitizáció szóval ír le. A jövőben tervezzük ennek a kérdésnek a vizsgálatát, hiszen egyetértünk az Opponens Asszony azon megállapításával, hogy bár ritkábban, de a gyermekágyi depresszió az utódgondozásban résztvevő férfiakban is előfordul.

Végezetül szeretném még egyszer megköszönni az Opponens Asszony részletes bírálatát, és hogy javasolta az értekezés nyilvános vitára bocsájtását, valamint sikeres védelem esetén az MTA doktora cím odaítélését.

Budapest, 2014 szeptember 7.



Dr. Dobolyi Árpád
tudományos főmunkatárs