

Dr. Dobolyi Árpád: Two novel neuropeptides with maternal functions
című MTA doktori értekezésének bírálata

Bíró: Dr. Bagdy György

Az értekezés témája, nevezetesen új központi idegrendszerben kifejeződő endogén molekulák felfedezése és funkcióik leírása, egyértelműen az érdeklődés középpontjában áll és időszerű, bár a neuropeptidek esetén ez a lelkesedés az utóbbi években csökkenő tendenciát mutat. Az alkalmazott módszerek korszerűek, az eredmények elméleti szempontból igen értékesek, és gyakorlati alkalmazásukra is van esély. Röviden összefoglalva, igen szép, kimerítően részletes, funkcionális vizsgálatokkal kiegészített morfológiai munkával van dolgunk.

A dolgozat angol nyelven készült, az összefoglalót követően rövidítéslistát (4 oldal) bevezetést (9 oldal), célkitűzéseket (2 oldal), alkalmazott anyagok és módszerek leírását (24 oldal), eredményeket (68 oldal), diszkussziót (18 oldal) valamint az eredmények rövid összefoglalását, a támogatások felsorolását, köszönetnyilvánítást, majd referencialistát (23 oldal) tartalmaz, összesen 157 oldalon.

A dolgozat jól tagolt, és megfelelően részletes. A szöveg kevés helyesírási hibát tartalmaz (de pl. TIP49 a 22. oldalon), pontosságra törekvő és viszonylag jól olvasható, bár a gördülékenység, érthetőség terén helyenként kifogásolható. Példaként említem, hogy az eredmények összefoglalása, amely a dolgozat 132. oldalán található, amellet, hogy pontos és visszafogott, lényegesen jobban követhető, mint a Tézisekben található magyarul írt Eredmények és következtetések fejezet. A dolgozat 14. oldalán található Russell és munkatársaitól átvett 2001-ben közölt összefoglaló ábra elnagyolt, ráadásul több tekintetben is elavult. Célszerűbb lett volna ennek egy kiegészített, korszerűbb változatát a dolgozatba illeszteni. Az olvasónak könnyebb dolga lett volna, ha az ábrák és aláírásaik mindenütt együtt olvashatóak, nem különböző oldalra kerülnek (lásd pl. Fig. 43).

A megfelelő statisztikai módszer kiválasztása és alkalmazása ma már egyre komolyabb elméleti háttérismeretet és gyakorlatot igényel, és gyakran még a vezető szakfolyóiratokban megjelenő közlemények esetén is kifogásolható. A jelölt munkájában – bár itt is az alaposágra való törekvés jellemző – szintén találunk néhány kevésbé szerencsés alkalmazást. Pl. a 86. oldal 21-24. sorában az alábbi olvashatjuk: „The suckling-induced prolactin release was significantly ($p < 0.01$) reduced by the injection of the antagonist at 5, 15, 30, and 60 min after returning the pups determined at each time point independently by one-way ANOVA ($F = 12.36, 8.75, 5.55, \text{ and } 11.01$, respectively).” A 43. oldalon található módszerleírásból úgy tűnik, hogy itt ismételt mérésekről van szó (ha mégsem, arra a módszertani leírásban fel kellett volna hívni a figyelmet, már csak azért is, mert a nagyszámú állat felhasználása etikai szempontból megkérdőjelezhető lenne) és ebben az esetben az időpontokénti külön összehasonlítás csak megfelelő korrekció alkalmazása után indokolt. Megjegyzem a következtetés így sem vitatható, nevezetesen az antagonista valóban markánsan csökkenti a prolaktin szekréciót.

Kérdések

1. Mivel magyarázza a pályázó azt, hogy a PIL és MPL esetén hasonló a TIP39 megjelenése és eltűnése, valamint anyai indukciója, míg a PVG esetén ez gyökeresen eltér? Milyen közös illetve eltérő szabályozó mechanizmusok állhatnak a háttérben?
2. A TIP39 expresszió a PIL és MPL régiókban az embrionális fejlődés során (E15) megjelenik, ám a korai posztnatális fejlődés során eltűnik (majd anyaállatokban indukálódik újra). Mi lehet a szerepe a korai expresszióknak? Van-e kísérletes adat vagy hipotetikus elképzelés a TIP39 agyi egyedfejlődésben betöltött szerepére? Különbözik-e az expresszió hím és nőstény kölykökben?
3. Van-e kísérletes adat arra vonatkozóan, hogy milyen fő transzmittert és co-transzmittert tartalmaznak a TIP39 illetve amylin peptideket co-expresszáló neuronok, illetve ezen sejtek által innervált neuronok? Van-e részletes kísérletes adat a TIP39/amylin expresszáló sejtek neurokémiai karakteréről azon túl, hogy a PIL TIP39-IR neuronjai calbindin-t expresszálnak? Helytálló-e, hogy ezek GABAerg neuronok?
4. Van-e kísérletes adat a TIP39 környéki idegrendszerben való expressziójára?
5. A cím arra utal, hogy két utódgondozásban szerepet játszó neuropeptidről van szó. Valójában a jelölt részletesen kimutatta, hogy szoptatás hatására a TIP39 neuronok egy része aktiválódik és a TIP39 szintje magas marad az elválasztásig, és kimutatta szerepét a szoptatás által kiváltott prolaktin szekrécióban. Milyen adatok igazolják, hogy kölykök sírása, segítségkérése befolyásolja-e a TIP39 vagy a PTH2 receptor kifejeződését, termelődését? A TIP39-génkiütött egerek anyai magatartása eltér-e ebben a tekintetben a vad típustól? A kondicionált helypreferencia vizsgálatok eredménye az utódgondozás tekintetében nem perdöntő.
6. A pályázó megfogalmazása szerint, különösen a humán eredmények gyógyszercélpontok kifejlesztését teszik lehetővé. Az utóbbi évek számos sikertelen központi idegrendszeri humán gyógyszerkipróbálása, az állatkísérletekben jól szereplő molekulák hatástalansága arra hívja fel a figyelmet, hogy a célmolekula funkciójának azonosítása nem volt megfelelő. A célpontként szóba jövő PTH2 receptor funkciójáról emberben milyen eredmények állnak rendelkezésre?
7. A pályázó felveti, hogy a két újonnan leírt neuropeptid, illetve ezek receptora esetleg gyógyszercélpont lehet a gyermekági depresszió esetén. Szerencsés lenne, ha részletesebben kifejtené, mit ért ez alatt? Például PTH2 receptor agonistákat? Az antagonisták a pályázó szerint az utódgondozás csökkenését okozzák, ami sajnos a gyermekági depresszió egyik súlyos tünete is. Ráadásul a két neuropeptid felnőtt hímekben nem expresszálódik, viszont a gyermekági depresszió, bár ritkábban, az

utódgondozásban résztvevő férfiakban is előfordul. Lehet, hogy az utódgondozásban résztvevő hímekben átmenetileg mégiscsak expresszálódik a két neuropeptid? Milyen kísérletes bizonyítékok vannak a TIP39/amylin expresszáló sejtek és a monoaminerg rendszerek kapcsolatára?

8. A gyermekágyi depresszió fontos tünete a fokozott szorongás is. Ugyanakkor a TIP39 null mutans egerek fokozott stressz-függő, szorongás-jellegű viselkedésmódot mutatnak (Fegley DB et al, 2008, Genes Brain Behav). Ez hogy támasztja alá a gyógyszer-célpontként való potenciális alkalmazást?

A dolgozat legfontosabb új megállapításai

1. A jelölt azonosította a tuberoinfundibuláris peptidet (TIP39) kódoló gént. Leírta, hogy a TIP39 elsősorban az agyban, emellett a herében fejeződik ki. Az idegrendszerben főleg a thalamus periventriculáris area-jában (PVG) és posterior intralamináris komplexumában (PIL), valamint a híd laterális részén levő mediális paralemniszkális magban (MPL) található.
2. Kimutatta, hogy a thalamusban elhelyezkedő TIP39 sejtek egy felszálló szenzoros rendszer részei, melyek az információt a hypothalamus felé közvetítik, és felszálló bemenetet kapnak a gerincvelő felől. A PIL sejtjei specifikusan szoptatás hatására aktiválódnak, az MPL TIP39 neuronjai viszont elsősorban az auditoros rendszerrel vannak kapcsolatban.
3. Patkány, egér, majom és emberi agyban feltérképezte a TIP39 receptorának, a parathormon 2-es receptornak (PTH2 receptor) az eloszlását és megállapította, hogy az a főemlősökben is hasonló a rágcsálókéhoz, és jó egyezést mutat a TIP39 rostvégződés eloszlásával.
4. Az egyedfejlődés során a TIP39 mennyisége az agyban lecsökken, de anyaállatokban a szülés környékén újra indukálódik, és szintje a kölykök elválasztásáig magas marad. Az egyes agyterületek azonban eltéréseket mutatnak. A PVG területén csak a postnatális fejlődés első napjaiban jelenik meg TIP39, majd a pubertás alatt eltűnik, és anyákban nem indukálódik. A PIL-ben és az MPL-ben már a patkány embrionális fejlődésének 15. napján megjelenik TIP39, ami a korai postnatális fejlődés alatt eltűnik, anyaállatokban viszont újra indukálódik.
5. A jelölt igazolta, hogy a TIP39 hozzájárul a szoptatás hatására történő prolaktin felszabaduláshoz, és valószínűleg a nőstény állatok postpartum időszakban mutatott anyai motivációjához. PTH 2 receptor antagonistágykamrában történő injekciója, illetve vírus segítségével a mediobasális hypothalamusban való kifejezése nagymértékben, dóziszfüggően gátolja a szoptatás által kiváltott prolaktin szekréciót.
6. A jelölt fluoreszcens mikroarray alkalmazásával az amylin neuropeptidként való kifejeződését mutatta ki a hypothalamus preoptikus területén. Az amylin kifejező sejtek szoptatás hatására aktiválódnak.

Összefoglalás

A jelölt két új neuropeptid, génjeik illetve receptoraik agyi kifejeződésének, előfordulásának és funkciójának tanulmányozása során számos gyökeresen új megállapítást tett, és ezzel jelentősen hozzájárult a központi idegrendszeri anyai adaptációk megértéséhez. Eredményei arra utalnak, hogy a szoptatási inger évtizedek óta keresett agypályája a posterior thalamusban kapcsolódik át. Az értekezése mind tartalmi, mind formai szempontból teljes mértékben megfelel az MTA doktora fokozat megszerzéséhez támasztott követelményeknek, a munka **tudományos eredményeit** minden kétséget kizáróan **elegendőnek tartom a cím megszerzéséhez, és ezért az értekezés nyilvános vitára tűzését és a cím odaítélését melegen támogatom.**

Budapest, 2014. augusztus 18.

Dr. Bagdy György
egyetemi tanár, az MTA doktora