

Dr. Jászberényi Miklós

a 'Neuropeptidek Modulátor Szerepe az Adaptációs Folyamatok Szerveződésében' c. MTA doktori értekezésének bírálata

Az értekezés címe igen széles területet ölel át. A Lissák Kálmán akadémikus nevével fémjelzett Iskola mintegy 50 éve indult többek között ezzel a témával. A szerző a Szegedi Tudományegyetem Kórélettani intézetében rendszeres kutató munkával bővítette a neuropeptidek szerepének kutatását az adaptációs élettani és kórélettani folyamatok megértéséhez, ami volumenét és minőségét tekintve is elismerésre méltó és valóban alkalmas egy MTA doktori cím elérésére is.

A disszertáció formailag követi az előírásokat, magyar nyelven foglalja össze a kiválasztott témákhoz kapcsolódó közlemények anyagát egy rövid Bevezetés, egy részletes Anyag és Módszerek valamint Eredmények és Megbeszélésük és végül a Következtetések fejezetek segítségével. Az értekezésben a hivatkozások száma 292, melyet egy tudományometriai összefoglaló táblázat követ. Ebből a táblázatból kiderül, hogy a jelölt 42 nemzetközi közleményéből 9 került közlésre a korábbi utolsó tudományos fokozat (gondolom PhD) elérése utáni időszakban. Összesített független idézetek száma 441. Ez a tudományos teljesítmény megfelelőnek bizonyult az MTA doktora cím eléréséhez, amivel egyetértek.

A Bevezetés tömören és meggyőzően tárgyalja a neuroendokrinológia rohamos fejlődését, mely az agykutatás egyre több részkerésével foglalkozik és így az idegtudományok szerves része lett. A bevezető áttekintés érinti a saját korábbi kutatásokat is, melyek pl. a PhD disszertációban kerültek összefoglalásra. A Célikitűzések fejezet 3 csoportba sorolja a vizsgált új neuropeptideket, (1) orexin/hipokretin és ghrelin, eredetileg a táplálkozás szabályozásába sorolt peptidok, (2) a cirkadian szabályozásba szerepet játszó néhány peptid: neuromedinek és RFamidok, (3) a viselkedésre és a neurodegenerációra is ható peptidok közül a növekedési hormon és a gonadotropin 'releasing' hormonok és az apelin.

Az Anyagok és Módszerek fejezet részletes leírásokat ad az alkalmazott széles skálán mozgó módszerekről, melyek a hormonszintek és viselkedési változók mellett morfológiai, biokémiai és genetikai méréseket szolgáltatottak. A formai oldalról lenne megjegyzésem: nem szerencsés, hogy az ábraalírások nagyon szűkszavúak, az Eredmények fejezetek ábráira is vonatkozik ez a megjegyzés. A részletes leírások a szöveges részben találhatóak, ez nem minden esetben szolgálja a teljes és gyors megértést. Az 55. és 56. ábrák mutatják, milyen hasznos az ábrához kapcsolt közvetlen magyarázat, ráadásul kisebb betűvel is szedhető, ami helykímélést jelent. A jelen formában magyar nyelven kívánt MTA doktori értekezés a gyakorlatban csak nagyon körülményesen tudja visszaadni a több teljes megjelent nemzetközi közlemény teljes igényű kivonatát – ami tehát külön feladat elé állítja a jelöltet.

Megjegyzés: az MWM módszer leírása (10 ábra) mintegy 3,5 oldal terjedelmet kapott. Ez azt is jelentheti, hogy a szerzők ebben a kísérleti módszerben jelentős önálló módosításokat hajtottak végre, ami külön is kiemelhető, megemlíthető lenne. Jelenleg nagyon aktuális a magatartási módszerek továbbfejlesztése, tökéletesítése egy-egy adott kérdés célzottabb megválaszolásában. Kérdésem, hogy ez így történt-e ebben az esetben? És ha igen, akkor miben áll a módszertani továbbfejlesztés lényege? Ugyanakkor, ennél az ábránál 5 egymás utáni napon került bemutatásra

egy egér MWM tanulása. Kérdés: a bemutatott eset jellemző-e? Ugyanis, az első társításnál az állat nem találta meg az emelvényt, míg a 2-iktól kezdve nagyon gyorsan tanult. Ez azt jelenti, hogy az első pozitív társítás után az állatok gyakorlatilag megtanulták a tesztet, azaz egy társításos tanulást mutattak! Az is kérdéses, hogy mely életkorból származik ez a példa? Ennek lehet jelentősége a tanulás életkor függése miatt.

Ha már ennél a módszernél tartunk megemlíthető, hogy helyel-közzel bizonyos pontatlanságok is előfordulnak a disszertációban, melyek szinte elkerülhetetlenül jelentkeznek, bár zavaróak lehetnek. Itt a 10. ábra leírásánál az olvasható: hogy „Mivel az 5. tanulási nap nem eredményezett érdemleges változást a 4.-hez mérten” az 5-ik tesztet kihagyták és csak 4 tesztből állt a tanulási blokk. Ugyanez a megjegyzés az értekezés téziseinek füzetében (12. old.) úgy szól, hogy „Mivel az 5. tanulási nap eredményezett érdemleges változást a 4.-hez mérten” ... - nyilván ez a másik kijelentés pontosan ellentéte az előbbinek (ami viszont azért zavaró, mert a legtöbb olvasó csak a tézis füzetet olvassa, és nem érti a logikát).

Eredmények és Megbeszélések

(1) Az orexinek/hipokretinek és a grelin

Az orexinek/hipokretinek funkcionális hatásvizsgálata felvetette, hogy az étvágy fokozódás az az élettani állapot, ami egyrészt a peptidhatások mögött áll, mely szövődik a HAM aktivációval is és ezek a peptidok csökkentik a testhőmérsékletet, tehát az vegetatív idegrendszer anabolikus mediátoraiaként is felfoghatóak egyidejűleg. Továbbá összehangolt a hatásuk a CRF és NPY peptid hatásokkal, valamint fokozzák a tanulási képességet is adrenerg és GABA-erg interakcióban. Az itteni eredmények felsorolása között nincs adat arra vonatkozóan, hogy a lokomotoros intenzitás és a magatartási ébredési reakciók milyen irányba változnak? Ez a motoros kimenetű funkció család azért fontos, mert e nélkül nincs sem céltudatos, sem adaptációs viselkedés. Különben az egész disszertáció egyik alapja és érdeme e funkciók kiemelése a viselkedés szempontjából, amit nagyra értékelek (más szempontok alapján).

Ugyanakkor, kimutatták, hogy egy szorongás-szerű viselkedési állapot jelentkezik a peptid kezelések után, valószínűleg egy fokozott emocionális állapot kialakulásának következtében. Itt felmerül a számos magatartási változó intenzitás-vizsgálatának szükségessége az idő függvényében a peptid kezelések után. Miután ezen orexigén peptid hatásában fontos az NPY és CRH aktiváció és hormonok hatásának időfüggése is jelentős lehet, és az éberség-stressz fokozódása visszacsapási reakcióként szorongás-szerű állapotot válthat ki. Mi erről a jelölt véleménye?

Másrészt, az interakcióban milyen prioritási sorrend körvonalazható a kiváltott hatásokban az egyes vizsgált neuropeptidek között? Nyilván ehhez egyidejű peptid hatások összehasonlítására lenne szükséges, ami bonyolult, de a hatékonyság összehasonlítása szükséges lehet.

A ghrelin esetében van bemutatott vizsgálat a kiváltott és spontán lokomotoros aktivitás értékelésére, és ez a peptid nagyban mutatott hasonlóságot az orexin/hipokretin hatásokkal minden vizsgált paraméterben kivéve a testhőmérséklet változást. Maga a ghrelin, ami perifériásan is termelődik a 'growth hormone secretagogue receptor'-on (GHS-R) keresztül gátolja a termogenezist, tehát végül is, ezen a ponton is hasonló a hatása az orexin/hipokretin peptidokkal. E receptor hatás révén pl., elősegíti az elhízást főleg időskorban (Lin és mtsai., AGING, December 2014, Vol 6, N 12). Másrészt valóban megerősíthető, hogy a ghrelin a markáns mag-hőmérsékletet emelő hatásában valószínűleg csak másodlagos utak a jelentősek, mint pl. a szerotonin rendszer hatása, ahogy erre a

disszertáció konkludált. A szerotonin szerepe felmerül a HAM működésében is és a ghrelin jelentősen fokozza ennek működését szintén szinte kizárólag másodlagos utakon (5-HT jelentősége). Ezen a ponton lehetne rámutatni a disszertáció egyik erőteljes kutatási erejére, ahogy az összefüggéseket vizsgálta az adaptációs viselkedés és a HAM aktivációja között (ezek már a korábbi kutatások célpontjai is voltak), amihez hozzáadódott a vegetatív funkciók neuroendokrin vizsgálata összefüggésben valószínűen a legjelentősebb klasszikus neurotranszmitter funkciókkal (amelyek mindenképpen újabb kutatási eredmények). A munka tehát kellően holisztikus ahhoz, hogy a humán patológia számos irányába közvetlen kimenetet szolgáltatson, ami nyilvánvalóan a fő célja az állatkísérleteknek is.

(2) RF amid rokonsági körbe tartozó peptidek

A bemutatott kísérletek második fejezetében vizsgált peptidek tovább erősítik a fent elmondottakat mivel újabb peptid család hatásában jelentkeznek az adaptációs viselkedés és annak peptiderg szabályozására vonatkozó nagyrészt már megismert utak. Itt adatokat látunk a mosakodási viselkedésre is, ami valóban szoros összefüggésbe hozható a magatartási éberségi reakcióval, amit számos neuropeptid támogat, ahogy ezt láttuk a jelen disszertációban.

A mosakodási válasz ebben a folyamatban azért érdekes, mert valószínűen egy visszacsapási funkció eredménye (negatív feed-back válasznak is felfogható, az irodalomban 'dearousal' kifejezéssel is illetik) a HAM stimulációjának következtében. Ha mesterségesen, szinte farmakológiailag, adaptációs választ generálunk bioaktív vegyületekkel, akkor a szabályzó rendszer vissza is tér az eredeti állapotba az anyag beadása után. Ez a funkcionális fázis időben eltoltnak, később jelentkezik és a komplex vizsgálata fontos, mivel valószínűen a védekező (gátló) mechanizmusokra hívja fel a figyelmet, ami a patológia felé esetleg több információt szolgáltat.

A számos részletes eredmény mellett ebben a fejezetben a vegetatív válaszokat hangsúlyoznám: nevezetesen a markáns testhőmérséklet és a kisebb mértékű szívfrekvencia csökkenéseket, ami jelentős a vegetatív idegrendszeri szabályozás központi idegrendszeri neuroendokrin szerveződése szempontjából, és jelen van az előbb tárgyalt peptideknél is.

(3) A neuroprotekción modulációja

A demencia terápiája jelenleg szinte a legégetőbb gyógyszeres kérdés is, mivel egyszerűen fogalmazva nem létezik még valóban hatékony gyógyszeres terápia. Az átlagéletkor viszont növekszik az idegrendszeri megbetegedések részesedése az egészségügyi keretből ennél még drasztikusabban emelkedik. Tehát minden törekvés, ami hatékony gyógyszerelést céloz kiemelhető tudományos szempontból is. Ráadásul, a jelen disszertáció a legelső között van, mely vállalkozik a neuropeptid kezelés megoldással. A szerzők az Aging folyóiratban megjelent közleménye foglalja össze a publikált eredményeket (Jaszberenyi és mtsai, AGING, November 2012, Vol 4 N 11).

Csak pár megjegyzés ehhez a fejezethez:

- A 62. oldalon olvashatjuk, hogy az A β peptid származékok lényegében a sejtmembránban halmozódnak fel és ezen keresztül indul el a toxicitás. Itt az A β fibrillumokra (molekuláris béta-templát alapú struktúrákra) történhetett az utalás, de az is ismert, hogy az oligomér A β molekulák a legtoxikusabbak és ezek oldékonyak vízben. Tehát, főleg a korai stádiumban az oligomér molekulák lehetnek a neuropatológia és a neuronkárosodás célpontjában.

- Az IHC analízisnél a neuronális A β immunfestést vették alapul az A β 1-42 felhalmozódás indikátorának és ez alapján számolták az immunpozitív sejtek számát. Kérdés, hogy a pozitív neuronokban az A β festődés csak a membránra lokalizálódott-e (ahogy ezt a bevezető rész tárgyalta) vagy fellelhető volt az intracelluláris festődés is? Másrészt A β pozitív plakkok kimutathatóak voltak-e az interneurális térben? Ugyanis, az alkalmazott 5XFAD egértörzsben jelen vannak az A β plakkok (Antonios és mtsai., Sci Rep. 2015 5:17338.) és ismert az is, hogy az APP enzimatis lebonthatás már intracellulárisan is elkezdődik, mely toxikus A β peptidekhez vezet (Zhang és mtsai, Nat Commun. 2015 6:8762.). Ezek a felvetések tehát a mért immunpozitív struktúrák kiválasztásának indoklására vonatkoznak. Az eredményeket a 45. ábra foglalja össze. Ezen az ábrán kérdéses, hogy a 'B' ábra oszlopaihoz SD vagy SE kapcsolódik-e? További megjegyzés, hogy a 45/C ábrán nincs feltüntetve a nagyítás mértéke. További észrevétel, hogy a kontroll és a kezelt szövettani képek nem összehasonlíthatóak, a kiválasztott morfológiai struktúra túlzottan különbözik a kontroll vs. kezelt csoportokban. Így kérdés, hogy a pozitív sejtek számát mire standardizálták?
- Kérdés, hogy a génexpressziókat összefoglaló 4. táblázatban növekedés vagy csökkenés van ábrázolva, tehát nőtt vagy csökkent a gének expressziója?

A Következtetések fejezet nagyon hasznos és szemléletes összefoglaló ábrákat mutat be, ami tökéletesen megfelel az elvárásoknak. Jómagam csak egy további szempontot vetnék fel, ami kéri a jelölt véleményezését is:

Ismert, hogy a növekedési hormon (GH) koncentráció meredeken csökken a meno- és andropausa után. A GHRH antagonisták valószínűen tovább csökkentik a növekedési hormon szinteket (GH és IGF-I). Elfogadott, hogy ezek a növekedési hormonok fokozzák az m-Tor intracelluláris jelátvivő útvonal aktivitását. Blagosklonny MV teóriája (pl. Aging, 2010, Vol.2 No.5) szerint az m-Tor intracelluláris útvonal csökkenése késlelteti az öregedést ill. ellene hat az öregedéssel járó patológiás állapotoknak (betegségeknek, esetleg a neurodegeneratív betegségeknek is). Mit jelenthet tehát az m-Tor útvonal további involúciója a kapott eredmények értékelése szempontjából?

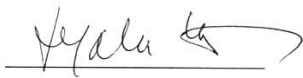
Összefoglalva, kiemelendő, mint általános értékelés, hogy a disszertáció

- (1) bővítette a hipotalamus-adenohipofízis-mellékvesekéreg mind a stressz reakcióban kiemelt hormonális szabályozási tengely funkcionális kapcsolatát további az elmúlt 10-15 évben feltárt neuropeptid bevonásával, melyek a táplálékfelvétel, hőszabályozás, motoros aktivitás, továbbá számos viselkedési változó, mint a tanulás, szorongás-depresszió idegi és hormonális szabályozásának megértését segítette elő összefüggéseiben.
- (2) Hozzájárult ahhoz is, hogy szisztematikus kutatással feltárták az újabban megismert neuropeptid és a klasszikus neurotranszmitterek között interakciók számos vonatkozását, mely a neuro-pszichofarmakológiai alapokat is szolgálta.
- (3) Nyitott számos eddig összességében egyáltalán nem tisztázott neuroendokrin kutatási területek felé is, mint pl. az autonóm idegrendszer agytörzsi struktúrára kiterjesztett neuroendokrinológiája, vagy a lokomotoros szabályozás, valamint az előagyi bazális ganglionok és agykérgi struktúrák kapcsolatainak hormonális szabályozása. Ezen belül eljutott a neurodegeneráció

és a demencia kezelésének hormonális vonatkozásaihoz is, nevezetesen a GHRH és GnRH analógok és az apelin szerepének vizsgálatához.

A fentiek alapján az értekezés nyilvános vitára bocsátását javaslom, továbbá javaslom az MTA doktori cím elnyerését is.

Budapest, 2016. február 2.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Csaba', with a horizontal line underneath and a decorative flourish extending to the right.

Dr. Nyakas Csaba
MTA doktora