

Dr. Zelena Dóra Tímea

A vazopresszin szabályozó szerepe stresszben és stresszhez kapcsolódó kóros folyamatok során

c. MTA Doktori értekezésének

bírálata

A) Általános értékelés

1.1. Az értekezés célja az AVP szerepének tovább-vizsgálata a stressz-tengely endokrin működésében felnőtt korban, a korai posztnatális fejlődés során és az anyai laktációs időszakban, valamint néhány kóros viselkedés forma szerveződésében, tehát igen széleskörű megközelítésben. Nemcsak a centrális, hanem a perifériás endokrin/neuroendokrin szabályozást is áttekinti az AVP és a HHM hormonokkal kapcsolatban.

1.2. A disszertáció a HHM hormonok hatását, szabályozásuk mechanizmusait is tárgyalja széleskörű rátekintésben és szemlélettel, a sokéves saját korábbi kutatások és egy részletes irodalmi összefoglalás alapján. Az értekezés egyik célja tehát az elmúlt kutatási időszakhoz kapcsolódó eredmények áttekintése és összefoglalása. Negyven eredeti közlemény és 5 könyvfejezet került közlésre 2003-tól a munkacsoport által, melyben a jelölt vezető szerepet töltött be, kiemelt módon számos fiatal munkatársat is pályára állított az adott témákban. A közölt eredmények is megerősítik, hogy az értekezés hiteles adatokat tartalmaz. Kiemelhető a sajátosan körültekintő és pozitív kritikus kutatási stílus. Az MTA doktora tudományos teljesítmény követelményeinek megítélés szerint egyértelműen megfelel az értekezés. A tudományos teljesítmény hazai vonatkozásban kiemelkedő, vezető kutatási műhelyből került ki és jelentős nemzetközi együttműködésre épül.

1.3. A beadott kutatás anyagnak nincsenek lényegét érintő hiányosságai, a jelen disszertáció összeállításában felmerült kisebb értelmezési zavarokat az értekezés részletes értékelése tartalmazza (lásd alább), de ezek nem vonnak le az értekezés alapvető érdemeiből.

B) Az értekezés részletes értékelése

Az első fejezet az „Irodalmi háttér” széleskörű áttekintést ad, a HHM hormonok szintézisét, fiziológiai hatásait, receptor sajátosságait részletesen, a legújabb adatok figyelembevételével tárgyalja. Jelentős a kitekintést a HHM struktúrákon kívüli endokrin funkciókra és receptorális hatásokra. A Módszerek fejezet megfelelően foglalja össze azt a szinte arzenált, amivel a kutató csoport rendelkezik.

Általános jellegű kérdések, észrevételek

2.1. Az AVP funkcionális szerepének vizsgálatára döntően a Brattleboro patkánytörzset használták. A Brattleboro állatok általános állapotában a döntő a folyadékvesztés a vesén át, és a lényegesen megemelkedett vízfelvétel, szomjúság-indukált vízivás, ami testsúly csökkenéssel is párosul. Az 52-ik ábra napi ritmust ábrázol, és mutatja, hogy mennyire eltorzul a diurnális ritmus (alvás regisztrálása történt ebben a kísérletben). Megváltozik tehát a magatartási ritmus, a megvilágítási periódusban csökken az alvás és nyilvánvalóan fokozódik a vízivási aktivitás, mely számos, ha nem valamennyi endokrin és neuroendokrin szabályozási ritmusra kihat, melyek kötődnek a napi ritmushoz, beleértve a kortikoszteron napi ritmusát is. Felvetődik az is, hogy nem a sötét periódusban kellett-e volna

végezni a viselkedésekkel kapcsolatos tesztek, mert ebben a fázisban összehasonlíthatóbbak a motoros viselkedések? Ez a patkánytörzs inkább egy patológiás modellnek felel meg véleményem szerint, ami nehezíti a funkcionális szabályozás vizsgálatát és csak áttételesen, és néha körülményesen, lehet a funkcionális következtetéseket levonni.

2.2. A disszertáció monográfia vagy monográfiák megírásához elégséges adat-tömeget tartalmaz, ugyanakkor követi az egyedi kísérletes tudományos közlemények formai követelményeit. Az ismertetett kísérleti adatok olyan mennyiségűek, melyeket nehéz az elkülönített megbeszélés fejezetben felidézni, illetve megtalálni. A forma tehát nehézségeket is generál.

2.3. Statisztikával kapcsolatos megjegyzés, hogy a szövegben nem találtam ANOVA/MANOVA értékelést (F értékeket), csak két csoport közötti összehasonlításokat, bár ez a statisztikai módszer említésre került a Módszer fejezetben.

Részletes további megvilágítást igénylő kérdések pontatlanságok

3.1. 26. ábra – 61. old. A szövegben leírt, hogy a Brattleboro állatokban a 14R krónikus stresszt követően megemelkedett a kortikoszteron szint is, de az ábrán (26/B) ez nincs feltüntetve. Egy tartalmi kérdés ezen az oldalon: a 26-28-as ábrák összehasonlításából látszik, hogy a kontrollok (di/+) kortikoszteron alapszintjei különbözők, míg a di/di csoportoknál ezt nem szembetűnő. Továbbá csak a morfin kezelési kísérletben került elfogadásra az, hogy a kortikoszteron alapszintek genetikailag különböznek. Zavaró, hogy ez a különbség a szövegben $p < 0,01$, míg az ábraaláírásban $p < 0,05$ szintűnek van említve/jelölve (ellentmondásnak tűnik!).

3.2. 5.4. fejezet, gastrointestinális fekélyek kísérlet, 71. old. „... a di/di állatoknál az AVP-hiány fokozta a mortalitást (4-ből 8 di/di állat halt meg 3 napon belül ...)” (!) A mortalitás adatok statisztikai értékelésére itt nincs utalás, az eredeti cikkben ez lehetséges, hogy megvan?

3.3. 5.5. fejezet, szorongás: 71-72. old. Két különböző kísérlet közül az egyikben találtak változást a nyílt karban a genotípusok között (48. ábra), míg a másikban nem (47. ábra). Melyik eredmény reprodukálható? A kezelések, mint kísérleti körülmények voltak a jelentősek a különbségekben?

3.4. Az 52. ábrán hiányzik a grafikai csoportmegjelölés, illetve nem érthető.

3.5. A 2. ábra nagyon kicsire sikerült, a feliratozások nagyon nehezen olvashatók (ha ennek a helyhiány az oka – akkor összevetendő pl. a 3-ik ábrával, mely lehetett volna kisebb).

3.6. Fejezet: 4.7.2.2.3. Az impulzivitás méréséhez táplálék megvonásra volt szükség, átlagban 6 db pelletet kaptak az állatok (20 g körül). A Brattleboro patkányok testsúlya lényegesen alacsonyabb, így nem világos, hogy miképpen kompenzálták az alacsonyabb testsúlyt a kísérletezők. A testtömeget és a vízfelvételt mérték, kérdés hogy alakult a táplálékfelvétel testsúly kg-ra számítva? Az is kérdés, hogy a Brattleboro állatok táplálék felvétele hogy alakul általában, tehát a táplálkozási magatartásuk, éhségérzetük? Beck és mtsai 2008 (Brain Res Bull 76:454) adatai szerint pl. növekszik a NPY tartalom a hypothalamusban, tehát változik az éhség motiváció szintje ezekben a patkányokban.

3.7. Egyetértek és üdvözlöm azt a felvetést a 77. oldalon, hogy a „Brattleborok esetén is felvetődik *kompenzációs mechanizmusok* megjelenésének lehetősége”. A CRH esetében annak szintézise, PVN-ben történő felhalmozódása, és kiürülése (transzportja, in situ 'release'-e) merült fel, mint figyelembe vehető mechanizmus. Ezen a ponton merül fel három megfigyelés a szerzők részéről, ami

nehezen összevethető: (1) korábbi kísérletükben (335) emelkedett CRH mRNS szintet találtak a PVN-ben, (2) a nyugalmi CRH fehérje szint alacsonyabb a di/di állatokban ICC módszerrel mérve (32. ábra), (3) szoptató di/di állatokban alacsonyabb a CRH mRNS szint a PVN-ben (29. ábra).

Kérdésem itt, hogy ha mégis lenne kompenzáció a CRH oldaláról ez mit jelent az ACTH szintézis szempontjából a Brattleboro állatoknál, vagy mire hat a megváltozott CRH funkció? A CRH-n kívül milyen egyéb neuroendokrin kompenzáció létezik? Másképpen szólva, a neuroendokrin szabályozások összehangolt egyensúlya miképpen kompenzál a Brattleboro állatoknál abba az irányba, hogy a robusztus vízszabályozási kiesés kezelhető legyen. Ehhez az állapothoz, nyilvánvalóan, igyekszik adaptálódni a szervezet. Továbbá, mit tanultunk a humán patológia, a diabetes insipidus, szempontjából a kompenzációt illetően?

3.8. A neonatológiában jelentős a copeptin detektálása azokban az esetekben, amikor AVP szinteket szándékoznak mérni (pl. Everts and Wellman 2016, Frontiers in Pediatrics). Kérdés, hogy experimentálisan, pl. patkánykísérletekben, mi a tapasztalat a copeptin mérés alkalmazásával, segít-e a jobb megértéshez pl. Brattleboro állatoknál?

3.9. A gyomor-bélrendszeri fekélyképződéssel kapcsolatban számomra nem világos, hogy mi a magyarázat azokra a megfigyelésekre, hogy idős állatban a gyomorfekély, míg fiatal állatokban a bélfekély képződés a kifejezettebb?

Megbeszélés fejezethez hozzászólások kérdések

4.1. A 75. oldalon, a krónikus stresszre vonatkozó következtetés szerint az „AVP HHM tengely aktivitásának fenntartásában betöltött szerepe nem lényeges krónikus stresszfolyamatok során”. Meglátásom szerint az összes vizsgált viselkedésbeli paraméter, impulzivitás, szorongás, depresszió, agresszió nem akut fiziológiai-patológiai folyamatokra épül, hanem krónikusra. Pl. a depresszió esetében a CMS-t is használják patkány modellként, ahogy ezt hangsúlyozza és idézi a disszertáció is (21-es citátum). Ezzel összecseng az a további konklúzió, a 79-ik oldalon, mely szerint „A PVN ugyanakkor csak korlátozottan vesz részt a viselkedés és a stressz-tengely szabályozásában.” Kérdésem, hogy az AVP-vel kapcsolatos kutatások végül mennyiben járultak hozzá a viselkedésbeli változások neuroendokrin szabályozásának megértéséhez, illetve humán vonatkozásban melyik irányba segítik a terápiát?

4.2. A 'szuprahypothalamikus' neuroendokrinológia, de főleg a pszichoneuroendokrinológia már jópár évtizede kutatja a hormonok szerepét azokban az idegrendszeri szerveződésekben is, melyeket a disszertáció tárgyal: szorongás-depresszió, agresszivitás, impulzivitás, stb. E kutatások megközelítésében, de főleg a tanulás és memória folyamatok szabályozásának kutatásában számos hazai munkacsoport vett részt és dolgozik jelenleg is, tehát hazánkban a viselkedés élettan és – kórélettan neuroendokrinológiája hosszú tradíciókra tekint vissza. Mi a véleménye a jelöltnek a vazopresszin és oxitocin a tanulásra és memóriára kifejtett hatásáról?

4.3. A 78-ik oldalon a 8. táblázat az AVP-vel kolokalizált peptideket foglalja össze. Az itt felsorolt bioaktív anyagok között vannak olyanok, melyek „átvehetik a hiányzó AVP HHM szabályozó szerepét”, ahogy ezt a megbeszélés állítja, de a táblázatban szereplő peptidekre nincs utalás, csak pl. az atriális natriuretikus peptid, hisztamin, katecholaminok szerepelnek példaként, melyek nem

találhatók a táblázatban. Tehát a kérdésem az, hogy a kolokalizált peptidek közül melyekről állítható, hogy átveszik az AVP szerepét pl. a HHM szabályozásában, vagy valamelyik más vizsgált funkcióban?

4.4. 79-ik oldalon a következtetés így hangzik: „A PVN ugyanakkor csak korlátozottan vesz részt a viselkedés és a szorongás-tengely szabályozásában.” Gondolom az mPVN-ről állítható ez, mivel a PVN szubstruktúrák tárgyalásáról van itt szó.

4.5. A 99. oldalon 6.5.1. „Szorongás-szerű viselkedés” tárgyalásának első sorában irodalmi idézeteket találunk arra, hogy az AVP-nek szorongás csökkentő szerepe van. A következő mondat, ezzel ellentmondásban, azt idézi, hogy a V1 antagonistának is szorongáscsökkentő hatása van (263-as idézet). Ez utóbbi eredménynek megfelel a 48-as ábra, ami azt mutatja, hogy a di/di állatok több időt töltenek a megemelt keresztpalló nyílt karjában, tehát az AVP hiánya csökkenti a szorongást. Ebben a kísérletben DDAVP-t alkalmaztak s.c. ozmótikus minipumpában, ami nem változtatott a di/di állatok viselkedésén. A disszertáció következtetése az, hogy a perifériáról nem jut be az agyba a DDAVP ezért centrális hatásmechanizmusra lehet következtetni. Kérdés, akkor alkalmaztak-e ozmótikus minipumpát a DDLVP i.c.v. bejuttatására vagy sem?

Összefoglalás

Összefoglalva megállapítható, hogy nagyon széles körben analizált sokrétű munkát foglal össze az értekezés. A 11 pontból álló Következtetésekkel, a 104-es oldalon, egyetértek. Ezek között számos új megfigyelés is van, melyekből a következőket emelném ki:

- 1) Az AVP a laktáló patkányokban a krónikusan fokozott nyugalmi HHM tengely aktivitás fenntartásában alapvető jelentőségű.
- 2) Akut stresszben az AVP-hiány stresszfüggő módon csökkenti az ACTH és kortikoszteron elválasztást.
- 3) Brattleboro állatokban a normális stresszaktivitás fenntartása érdekében nem CRH, hanem oxitocin emelkedés figyelhető meg.
- 4) Patológias vonatkozásban az AVP korfüggő módon befolyásolja a gyomorfekély képződést.

Mindezek alapján az értekezés nyilvános vitára bocsátását javaslom, és a munkát érdemesnek tartom az MTA Doktori cím elnyerésére is.

Budapest, 2006. okt. 31.



Dr. Nyakas Csaba DSc
professzor emeritus