

Bírálati vélemény Dr. Farkas Eszter „Az agykérgi terjedő depolarizáció kórélettani jelentősége” című MTA doktori értekezéséről

A szerző a terjedő depolarizáció kórélettani jelentőségét vizsgálta. A téma aktuális, hisz a jelenség az ischaemiás stroke propagációjában, a penumbra ischaemiás core-rá alakulásában döntő jelenséggel bír. A terjedő depolarizáció jellegzetességeinek leírásán túl vizsgálta annak gyógyszerekkel történő gátlását, melynek a stroke progressziójának a lassításában lehet szerepe, s így a permanens stroke tüneteinek mérséklése mellett segítheti a reperfüziós kezelés kezdetéig tartó időablak kiterjesztését.

Az értekezés a 427 irodalmi hivatkozást is beleszámítva 164 oldalt tartalmaz, az érdemi rész 140 oldal, a megértést 87 ábra és 5 táblázat segíti. A dolgozat alapjául a témához szorosan kapcsolódó 17 közlemény szolgál.

A bevezetésben a szerző szól a stroke jelentőségéről, valamint a stroke és az SD lehetséges kapcsolatáról, az SD jellemzőiről, klinikai jelentőségéről és a vizsgálatára alkalmas módszerekről. A rövid bevezetést követően eredményeit 4 nagy fejezetben ismerteti. Tudományos munkája során kidolgozta az SD és a társuló hemodinamikai és metabolikus változások térbeli megjelenítését, tanulmányozta az SD-vel járó hemodinamikai és metabolikus változásokat ép és ischaemiás agykéregben. Vizsgálta továbbá az SD-hez csatolt vérátáramlási válaszok mediátorait, illetve az öregedés SD-re gyakorolt hatását.

A disszertáció jól követhető, felépítése logikus, szövege olvasmányos. Az ábrák informatívak, egyértelműek, a megértést nagyban segítik. A módszerek és eredmények rész jól érthető, a levont következtetések helyesek és mértéktartóak. Dicséretes és sokat segít a bírálónak az eredmények újszerűségének és a kutatás távlatainak a bemutatása az alfejezetek végén.

Kérdések, megjegyzések:

Átlagosan oldalanként-kétoldalanként fordul elő helyesírási hiba, elütés, de ez a dolgozat megértését nem befolyásolja.

A 20. oldalon a 4.1.5-ös ábra a DC potenciál és a CBF időbeli változását mutatja. Jobban szolgált volna az időbeli összehasonlítást, ha nem két percet tekint egységnyi távolságnak az x tengelyen, hanem fél, vagy 1 percet, ami az ábra x tengely mentén történő megnyújtását eredményezte volna. A kétpercnyi időtartam választásával az ábrák meglehetősen összenyomottak lettek, időbeli összehasonlításra kevésbé adnak lehetőséget. Ez a megjegyzés a későbbi, az időbeli változásokat mutatni szándékozó ábrákra is érvényes. Feltehetően ezzel magyarázható, hogy míg a 4.1.1. táblázat adatai alapján a repolarizáció sebessége 4-5x lassúbb a depolarizáció sebességéhez képest, ez a 4.1.5. ábrán nem vehető észre.

A 22. oldalon írja, hogy az optikai képalkotó eljárás ígéretes az agykérgi ischaemiás sérülés patogenezisének tanulmányozására és különösen az infarktus időbeli és térbeli növekedésének követésére a stroke különböző állatmodelljeiben. Elismerve, hogy az SD képalkotó eljárások segítségével történő bemutatása valóban komoly jelentőséggel bír a tovaterjedő depolarizáció vizsgálatának szempontjából, kérdezem, hogy az általa kifejlesztett és használt optikai képalkotó eljárások, hogyan tudják mutatni az infarktus időbeli és térbeli növekedését? Talán szerencsésebb lett volna, ha az „infarktus időbeli és térbeli növekedése” helyett az infarktus

progressziójában/propagációjában résztvevő SD és a hozzá társuló metabolikus és vérátáramlási változások időbeli és térbeli változását említi.

A 27. oldalon írja, hogy a CBF változás az SD-hez képest kb. 14-22 mp-el később történt. Bár a dolgozat későbbi részében taglalja a neurovascularis kapcsolás és az SD közötti különbséget, kérdésem, hogy mi lehet az oka, hogy míg a neurovascularis kapcsolás esetén kb. 2 s, addig az SD esetén, mintegy 14-22 s késéssel követi a CBF változás a neuronális aktivációt, illetve a membránpotenciál változását?

A 37. oldalon megemlíti, hogy fiziológiás körülmények között, az SD-vel nem jár hemoglobin deszaturáció, épp ellenkezőleg, az SD-re válaszként kialakuló hiperémia révén az oxigenált hemoglobin aránya átmenetileg nő. Ez azt jelenti, hogy az áramlásnövekedés arányait tekintve nagyobb mértékű, mint a hemoglobin deszaturációja, vagyis az oxigén feleslegben van jelen. Mi a magyarázata annak, hogy ennek ellenére az SD során ilyenkor is felhalmozódik a laktát, s acidózis alakul ki. Más szóval, miért történik ilyenkor anaerob glükolízis, amikor lehetőség lenne oxidatív foszforiláció révén történő energiatermelésre?

A 43. oldalon, a 9. sorban a 4.3.3. ábrára utalás helytelenül van a szövegben. A szöveg helyesen a 4.3.4-es ábrára utal.

A 44. oldalon írja, hogy a klasszikus, intraluminális filamentummal létrehozott artéria cerebri media (MCA) elzárás helyett, az MCA disztális szakaszán végezték az érelzárást, s ennek előnyeként megjegyzi, hogy így a képzéskészítéshez rögzített állaton is létre lehet hozni MCA occlusiot úgy, hogy a látótér megszakítás nélkül folyamatosan tanulmányozható. Megjegyzendő, hogy a remote occlusion modell jól ismert, mely lehetőséget ad patkányban az intraluminalis filamentum alkalmazásával is MCA occlusio kialakítására anélkül, hogy az állat helyzetét változtatni kellene.

A 46. oldalon „A terjedő depolarizációk mintázata” alfejezetben írja, hogy a disztális artéria cerebri media elzárása után 3.3 perccel jelentkezett az első SD, melyért a dMCA elektrokoagulációját, nem pedig az ischaemiát tartotta felelősnek. Kérdés: volt-e kontroll csoport, melyben sham operált állatokat vizsgáltak? Ha igen, azoknál az állatoknál is megjelent-e SD röviddel a terület érintése után? Ebből a szempontból az intraluminális elzárás előnnyel bírna a dMCA elektrokoagulációhoz képest.

Az agykérgi tovaterjedő depolarizáció RH1838 fluoreszcens festékkel történő vizsgálhatóságával kapcsolatban merül fel a bírálóban a következő kérdés: az RH1838 fluoreszcencia intenzitását befolyásolja az SD-vel járó hiperémia mint fényelnyelő jelenség, a hemoglobin deszaturációja, a membránpotenciál változása, valamint a festék fakulása. Kérdésem, hogy lehet-e ennyi változásra korrigálni a fluoreszcens jel alakulását?

Az 5.1.5. ábrán (49. oldal) az RH1838 fluoreszcencia intenzitás változását mutatja. Az ábrán jól látható az alapvonal elcsúszása. Ez műtermék vagy van jelentősége?

A permanens multifokális előagyi ischaemia vizsgálata során megjegyzi, hogy ez a modell mikroembolusos agyi infarktus illetve multi-infarktus demencia patofiziológiai folyamatait mutathatja (62. oldal). Megjegyzendő, hogy multi-infarktus demencia illetve mikroembolizáció okozta agyi infarktusok esetén a mikroembolizációk általában nem egy, hanem egymástól eltérő időben következnek be.

Az 5.3-as fejezetben (62. oldal) a permanens globális előagyi ischaemia vizsgálatát úgy hozták létre, hogy 2VO után 10 perccel az ischaemiát hipovolémiás hipotenzióval súlyosbították, melynek során a femorális katéterek egyikén fokozatosan vért vettek kb. 10 percen át, míg az MABP 40 Hgmm-re csökkent. Megállapították, hogy az SD-k túlnyomó többsége 4.6 perccel a vérvétel után, 45 Hgmm MABP és 44 %-os CBF mellett jelentkeztek. Az 5.4-es fejezetben (68. oldal) a két carotis communis elzárása után az esetek egy részében egy spontán SD alakult ki. Kérdésem: itt nem volt szükség vérlebocsátásra az SD kialakulásához?

Ehhez kapcsolódik a következő kérdés is? Az 5.3-as fejezetben azt írja, hogy a 2VO után a CBF nem esett 65% alá (65. oldal), csak a hipovolémiás hipotenzió (véreztetés) után. Ezzel szemben, az 5.4-es fejezetben a 2 VO után 20-40 % között mozgó CBF-et ír (70. oldal). Mi volt a különbség a két kísérletben létrehozott érelzárás között? Amennyire ki lehetett deríteni, mindkét esetben ugyanolyan patkánytörzset vizsgált, a kísérleti protokoll is azonos vagy nagyon hasonló volt.

A 73. oldalon a tranziens globális előagyi ischaemia fejezetben (5.4.) azt a következtetést vonja le, hogy az ischaemia okozta enyhébb acidózishoz hozzáadódik az SD-hez társuló határozottabb pH csökkenés, mely arra enged következtetni, hogy az SD okozta neuron pusztulás a szöveti acidózissal összefügg. Az acidózis az ischaemia következménye. Mi a bizonyíték arra, hogy az acidózis és a neuron károsodás között ok-okozati összefüggés van, s az acidózis és a neuron pusztulás nem csupán két, egymástól független következménye az ischaemiának? Van-e direkt bizonyíték az acidózis és a neuron pusztulás közötti kapcsolatra?

A 90. oldalon a 6.3-as fejezetben írja a szerző, hogy „az erek egyértelmű azonosítására az agyi érhalózatot rodamin-dextránnal töltöttük fel, melyet retro-orbitális úton juttattunk be.” Kérdés: hogyan történt a retro-orbitális érfeltöltés? Nem találtam erre vonatkozó citációt az állítás környezetében.

Ugyancsak a 6.3-as fejezetben (94. oldal) írja a jelölt, hogy „visszatérő SD-k után a hipoperfúziót hiperémia követte, melynek csúcsa az SD1 okozta oligémiáról indulva 77,9 %-ot ért el.” Megjegyzendő, hogy ez a hiperémia még mindig az alapvonal alatti érték, vagyis csupán relatív hiperémiáról van szó.

Az extracelluláris kálium SD-re gyakorolt hatását vizsgáló fejezetben (96., 97. oldal) a 6.3.6. ábra illetve a 6.3.7. ábra aláírásából kiderül, hogy a korrelációs analízishez nem vettek figyelembe minden SD eseményt. Kérdés: mi volt az oka, hogy bizonyos SD eseményeket figyelmen kívül hagytak az analízis során?

Tud-e a paxillin szisztémás adásának cerebrális ischaemiára gyakorolt hatását vizsgáló in vivo kísérletről?

Mi volt az oka, hogy a kálium és az SD kapcsolatát vizsgáló kísérletekben egeret használtak modell-állatként, míg az egyéb kísérletekben mindig patkány volt a kísérleti állat?

A 7. fejezetben a 103. oldalon azt állítja, hogy a stroke és a SAH előfordulási gyakorisága az élet előrehaladtával exponenciálisan nő. Ez az állítás nem helyes a subarachnoidealis vérzésre nézve, melynek 50. életév körül (40-60 éves kor között) van a csúcsa.

Dicsérendő gondolat az SD hatásának vizsgálata idős kísérleti állatokban. Eredményei részben magyarázzák, hogy a fiatal állatokon végzett kísérleti eredményeket miért nem sikerül reprodukálni emberben.

A 115. oldalon megjegyzi, hogy az ellazult simaizom az erek falában határozottabb vazokonstrikciót eredményez. Ezt evidenciaként állítja, noha ez (legalábbis a bíráló számára) nem magától értetődő. Az tény, hogy az ellazult simaizom esetén határozottabb vazokonstrikció jöhet létre, mert nagyobb az elérhető átmérőváltozás, de önmagában nem evidens, hogy az ellazult simaizom erősebb vazokonstrikcióval jár.

A 7.3.2. „Fokális előagyi ischaemia” fejezetben leírtak szerint kétoldali artéria carotis communis occlusiot, valamint disztális arteria cerebri media occlusiót hoztak létre. Kérdés: mennyi idő telt el a communis occlusio és a media occlusio között? A kétoldali artéria carotis communis occlusio nem jelentett-e prekondicionálást a media occlusio előtt?

A dolgozat olvasása közben számos alkalommal fordult meg a bíráló fejében az a kérdés, hogy milyen technikai személyzetre volt szükség a kísérleti rendszer kialakításához. Gondolok itt fizikusra, mérnökre, informatikusra. Vagy a kísérleti rendszer összeállításában csak a jelölt illetve csak orvosok vettek részt?

Csupán stilisztikai jellegű kritika, hogy a magyarul írt disszertációban az „azaz” helyett rendre i.e. szerepel.

A 9. fejezetben leírt új megállapítások mindegyikét elfogadom.

- Ischaemia során az SD-hez kóros CBF reakció társul, és súlyosbodik a szöveti acidózis mértéke is, amelyek együttesen felelősek lehetnek az SD szövetkárosító hatásért. A kritikusan alacsony szöveti perfúzió kedvező feltételeket teremt a terjedő ischaemia kialakulásához, amely során tovább csökken az agykéreg vérellátása.
- A korábban külön jelenségekként számon tartott AD, peri-infarktus depolarizáció, ischaemiás depolarizáció valamint SD ugyanazon idegéletteni folyamat manifesztációja egy jól meghatározható spektrum mentén. Az SD/AD szerepet játszik az előagyi ischaemiás sérülések kórélettani folyamataiban.
- Ép agykéregben az SD-t követő hiperémia kialakulásában fontos szerepe van a vazodilatátor PGE₂/EP₄ útvonalnak, mely ischaemiás körülmények között károsodik. Ép agykéregben az SD-hez társuló korai érösszehúzódnás az extracelluláris K⁺ felhalmozódásának következménye, mely folyamatban meghatározó szerepe van a BK csatornák és az L-típusú VGCC-k aktivációjának. Ép agyszövetben az SD-hez kapcsolódó CBF változás mediátorai meghatározó mértékben tartalmaznak metabolikus komponenseket.
- Az életkor előrehaladtával csökken az SD kiválthatósága, súlyosbodik az SD-hez köthető metabolikus krízis. Az idős agyban az SD erőteljesebb szövetkárosító hatása mögött az SD-hez társuló elégtelen CBF változás állhat; az idős agyban megnő a terjedő ischaemia kialakulásának valószínűsége és SD-t követően késlekedik a szöveti pH helyreállása.
- A kifejlesztett egyedi, multi-modális, optikai elven működő, képalkotó rendszer alkalmas az agykérgi mezőpotenciál, a szöveti pH, a K⁺ koncentráció, a vérátáramlás, a térfogat és a hemoglobin szaturáció változásainak képi megjelentésére.

A jelölt MTA doktori értekezése értékes, előremutató eredményekkel gazdagította a terjedő depolarizációval kapcsolatos tudományos irodalmat. Az értekezést több ok miatt is nagy élvezettel olvastam: a szerző a cerebrális ischaemiás állatmodellek széles tárházát vonultatta fel (globális előagyi

ischaemia, globális cereбрalis ischaemia, fokális cereбрalis ischaemia), valamint számos metodikát használt; az eredmények közvetlenül felhasználhatók a stroke kutatásban, gondolok itt az SD kiemelkedő szerepére a stroke progressiójában, s a nimodipinre és a paxillinre, mint potenciális gyógyszerekre.

A műből kiderül, hogy a kutatás a szerző önálló munkája, a disszertáció hiteles adatokat tartalmaz. Az értekezésben bemutatott kísérletes eredmények, valamint a citációs értékek az MTA doktora cím feltételeként szabott kritériumoknak messzemenőig megfelelnek. A feltett kérdések, kritikák a doktori disszertáció értékét nem csökkentik, a doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak tartom, s az MTA doktori cím odaítélését támogatom.

Tisztelettel:

Dr. Oláh László

Debrecen, 2020. 09. 20.

