

Opponensi vélemény

Az MTA Doktori Tanácsa DT.58.046/20/80 számú felkérésére az alábbiakban fejtem ki opponensi véleményemet Nyiri Gábor: „A memória agykéreg alatti szabályozása” című doktori munkájáról.

A tanulás, emléknym képződés, memória mechanizmusának tanulmányozása az idegtudományok talán egyik legizgalmasabb területe. Központi idegrendszerünknek ez a funkciója teszi lehetővé a környezethez való folyamatos alkalmazkodást, végső soron az illető egyed fennmaradását. Az állati szervezetnek mindennapi tevékenysége a tanulás, akár csak a táplálék megszerzésére vagy a veszélyforrások elkerülésére gondolunk.

A téma tanulmányozása elméleti szempontból is izgalmas, ugyanakkor jelentős orvosi, társadalmi, gazdasági vonatkozással is bír, hiszen például az agy negatív élményfeldolgozó központjainak hibás működése számos pszichiátriai betegség (szorongás, depresszió, agresszív viselkedés) alapját képezi. A központi idegrendszer betegségeinek hatékony orvoslása feltételezi az agy különböző területeinek, sejttípusainak, azok kapcsolódásának és működésének mind jobb ismeretét.

Ezen a területen végzi kutatásait Nyiri Gábor, és foglalta össze legfontosabb eredményeit egy akadémiai doktori értekezésben.

A Jelölt a következőképpen határozta meg benyújtott munkájának műfaját: *MTA Doktori Értekezés (Rövid értekezés)*. Az utóbb írt kitétel jogos, hiszen az értekezésként frissen megírt és benyújtott mű összesen 33 oldal terjedelmű, egyetlen ábra nélkül. Ugyanakkor, ehhez a rövid, ámde rendkívül tömény szöveghez csatlakozik 5 db, szupplementumokkal bőségesen ellátott nagyszerű közlemény, melyek a legnagyobb presztízsű, szakma csúcsát jelentő folyóiratokban jelentek meg. Ez a szupplementumokkal ellátott 5 db. közlemény a 33 oldalnyi rövid értekezéssel egybekötve már 210 oldal terjedelmű.

Először formai szempontból szeretném értékelni a Rövid értekezés részt.

A munka három tématerületen végzett kutatások eredményeit foglalja össze, így három fő részből áll. Mindegyik részben találunk Bevezetést, az eredmények rövid ismertetését, majd az eredmények összevetését a vonatkozó szakirodalommal, illetve a levonható következtetéseket.

Ahhoz képest, hogy milyen rövid az értekezésként megírt szöveges rész, meglehetősen sok apró hibát találunk benne.

Ezek közül példaként felsorolnék párat:

- Mindjárt a Tartalomjegyzék 4. sorában egy magyartalan cím, toldalék illesztési probléma: „A szeptum és a hippokampusz erős anatómiailag és funkcionálisan kapcsolata”
- Ugyan ez ismétlődik majd a 7. oldalon egy alfejezet cím formájában.
- 3. oldalon: „... depresszióval-összefüggő ...” – külön írjuk!
- 4. oldal, 5. sor: felesleges vessző a 'GABAerg sejtek' után.
- 4. oldal, 7. sor: „... gátolja a félelmi memória kialakulását” – az 'a' névelő hiányzik.
- 6. oldal, 1. és 2. sor: “feladatokat is ellát” – egy mondaton belül kétszer ismétlődik.

- 7. oldal, 20. sor: „... hogyan képesek befolyásolni ezek a felszálló pályák... „-’ek’ hiányzik – toldalék egyeztetési probléma
- 8. oldal, alulról a 3. sor: „... rostokat küldd vissza...,, – egy d-vel írjuk!
- 9. oldal, Bevezetés 2. bekezdés: ’célzó’ – szóismétlés
- 9. oldal alulról 2. sor: „... a éles hullám...” - helyesen „... az éles hullám ...”
- 10. oldal, 24. sor: „Mi megvizsgáltuk...” - a ’Mi’ személyes névmás itt fölösleges
- 11. oldal, 3. bekezdés első mondata félreérthető, mert ebben a formában úgy lehet érteni, mintha a 100. –ként hivatkozott cikk a Jelölt csoportjának a munkája lenne, melyben a kolinerg sejtek által kiváltott elektrofiziológiai válaszok tulajdonságait vizsgálták volna.
- 16. oldal, alulról a 6. sor: „... vizsgálta ellenére..” – helyesen „... vizsgálat ellenére...”
- 16. oldal, alulról a 2. sor: a ’felelős’ és ’kulcsfontosságú’ szavak egymás mellett redundanciának tűnnek.
- 17. oldal, 1. bekezdés: egy mondaton belül kétféleképpen leírva a VGLUT3 ill. vGluT3 – ez a következtetlenség számos helyen megtalálható
- 23. oldal, 3. és 4. sor, valamint pl. 14. sor vagy az utolsó sor: következtetlenség a vGluT2-neuronok/idegsejtek és a vGluT2 neuronok/idegsejtek írásában – hol kötőjellel, hol külön szóban.
- 29. oldal, 1. sor: „... pontosan félelem pillanatában ...” – az **a** névelő hiányzik
- Nagyon sok a szöveg processzálásakor (pl. másolásakor) keletkezett probléma. Néhány ezekből a hibákból:
 - o 35. oldal, 41. hivatkozás: a szerzők neveiben sok betű helyén kérdőjelek vannak.
 - o 35. oldal, 61. hivatkozás: az első 5 szerző neve kétszer szerepel.
 - o 37. oldal, 108. hivatkozás: minden szerző kétszer szerepel.
 - o 38. oldal, 138. hivatkozás: az első szerző kivételével minden szerző kétszer szerepel.
 - o 38. oldal, 142. hivatkozás: a „Szönyi” névből csak „Szo” maradt.

Általános megjegyzésként:

- 1) A 7. oldalon a Jelölt azt írja, hogy „ ... glutamaterg sejtek alapvető szerepét csak nemrégiben fedezték fel”, és az egyik hivatkozott közlemény (42.) az 2003-as. Szerintem egy 2003-ban leírt dologra ezt nem igazán lehet mondani.
- 2) **Nagyon hiányoltam az értekezésből egy RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKÉT!**

Tartalmi vonatkozású észrevételek, kérdések

A három vizsgált tématerület közül az első

Az acetilkolin-GABA kotranszmissziója és szerepe a memória szabályozásában

Ennek a munkának legfontosabb eredményének a következőket tartom, melyeket új eredményként ismerek el:

- 1) a **neurologin 2** nemcsak a GABAerg szinapszisokban lényeges posztszinaptikus elem, ami kritikus a szinapszis megfelelő működése szempontjából, de jelen van az egér agy kolinerg szinapszisainak posztszinaptikus membránjában is, számos vizsgált agyterületen.
- 2) Fontos eredmény volt annak megállapítása, hogy a kolinerg sejtek szinapszisai rendelkeznek a GABAerg jelátvitel molekuláival.
- 3) A kolinerg és a GABAerg szinaptikus vezikulák keverednek, de az acetilkolin és a GABA különböző vezikulákban lokalizálódik.
- 4) A kolinerg sejtek összetett, GABAerg-kolinerg posztszinaptikus választ váltanak ki, azonban különböző Ca-csatornák befolyásolják az acetilkolin és a GABA szinaptikus ürülését.
- 5) Kimutatták továbbá, hogy nem találhatók dokkolt vagy fúzionált vezikulumok a szinapszisokon kívül, ami pedig cáfolja az acetilkolin nem szinaptikus felszabadulását.

Kérdés: Az, hogy nem találtak dokkolt vagy fúzionált vezikulumokat a szinapszisokon kívül, az teljes mértékben kizárja az extraszinaptikus, esetleg extravezikuláris felszabadulást?

Ezen tématerület egyik fontos publikációja a *Nature Communication*ban jelent meg. Ebben leírják és jellemzik, ahogy fentebb már említettem, a kolinerg rostok ingerlésével kiváltott összetett GABAerg-kolinerg posztszinaptikus válaszokat, és jellemzik magukat a GABAerg és kolinerg vezikulákat. Kétféle vezikula méretet állapítottak meg: a kolinerg terminálisok vezikulái kb. 60%-al nagyobbak, és a méretük is változékonyabb volt, mint a tisztán GABAerg terminálisok vezikulái.

Tekintettel arra, hogy a szeptális kolinerg sejtek lényegesen meghatározzák a hippocampusz ritmikus hálózati aktivitását, ill. képesek gátolni az éles hullám aktivitás kialakulását is, fontos kérdésnek tűnhet az alábbi:

Kérdés: Függe-e a kolinerg rostokon végigfutó ingerület paramétereitől, hogy az összetett GABAerg-kolinerg posztszinaptikus válaszban inkább az egyik vagy inkább a másik hatás lesz az erősebb? Másként fogalmazva, lehet-e úgy változtatni pl. az ingerlés frekvenciáját vagy annak mintázatát, hogy inkább a kolinerg vagy inkább a GABAerg vezikula populáció ürüljön?

Kérdés: Visszatérve a fentebb már érintett kérdésre: teljes mértékben kizárható ezen bazális előagyi eredetű neuronok esetében a nem szinaptikus release?

Miután ebben a részben alapvető jelentőségű megállapításokról van szó, különösen, ha arra gondolunk, hogy az idők során a Dale-elvtől (vagy Dale-törvénytől), a Dale-Eccles –féle szabályon át, az itt közölt eredményekig, mennyit változtak ismereteink erről a kérdéstről,

szerezném, ha pár szóban, (legfeljebb néhány tómondatban) ismételten megvilágítaná alábbi mondatuk lényegét, (rámutatva a kettő különbségére): „We also found that acetylcholine and GABA were not co-released but co-transmitted from the same synaptic active zone”.

A medián raphe szerepe a negatív élmények rögzítésében

A tématerületen elért főbb eredményeiket egy *Brain Structure and Function* –ben valamint egy *Science* publikációban tették közzé. A munka volumenét jelzi, hogy az említett két cikk és a kísérletek részleteit leíró szupplementumok 68 nyomtatott oldalt tesznek ki. Az igénybe vett metodikák spektruma is nagyon széles: az elektronmikroszkópos vizsgálatoktól a hisztológiai, immunhisztokémiai, elektrofiziológiai munkákon át a magatartásvizsgáló módszerekig terjed.

A munka első része annak az agytörzsi magnak (median raphe regio: MRR) részletes megismerését tűzte ki célul (beleértve a celluláris és transzmitter fenotípus meghatározását is), melyről feltételezhető volt, hogy központi szerepe van a negatív élmények előre látásában, elkerülésében fontos struktúrák (laterális habenula: LHb valamint a mediális ventrális tegmentum: mVTA), továbbá a szepto-hippokampális rendszer működésének összehangolásában.

Új eredményként ismerem el:

- 1) Leírták a kulcsfontosságú MRR-ben található sejtek típusait és arányait (2,1% 5-HT; 7% vGluT3; 3,6% 5-HT-vGluT3 kettős pozitív; 61% GABAerg). **Legfontosabb felfedezésük** ezen a téren (genetikailag módosított egereket és vírusjelölést használva) az volt, hogy **a sejtek kb. 1/5-e vGluT2-pozitív**, mely sejtek a főként negatív élményeket feldolgozó agyterületeket (LHb-t, mVTA-t) idegzik be. Kiderült, hogy
- 2) közvetlen reciprok kapcsolat van a vGluT2 pozitív MRR sejtek és a szintén vGluT2 pozitív LHb sejtek között.

Kérdés: Milyen funkcionális következménye/eredménye lehet egy ilyen közvetlen reciprok kapcsolatnak, amelyet az LHb és az MRR vGluT2-pozitív sejtek között leírtak? Ez tulajdonképpen egy serkentő visszacsatolás, ami feltételezhető egy ellensúlyozó-fékező mechanizmust is. Van ilyen? Mi tartja féken, hogy ne egy kontrollálatlan öngerjesztő kör alakuljon ki?

Kimutatták többek között, hogy

- 3) az MRR vGluT2-pozitív neuronok serkentő axonjainak elágazódásával beidegzik az MS/VDB parvalbumin pozitív neuronokat is.
- 4) Ezen MRR vGluT2-pozitív neuronok aktiválása negatív élményt okoz, agressziót, krónikus aktiválásuk pedig érdektelenséget vált ki, miközben a memória rögzítés szempontjából fontos theta oszcillációt váltja ki a hippokampuszban.
- 5) Az MRR vGluT2-pozitív sejtek szükségesek a félelmi memória rögzítéséhez.

Összességében megállapították, hogy az MRR vGluT2-pozitív neuronok populációja egy olyan idegi kapcsolatrendszer központi eleme, mely elengedhetetlen a negatív tapasztalatok feldolgozásához.

Megjegyzés: A Jelölt egy bonyolult agykéreg alatti kapcsolatrendszer nagyon fontos részleteit, és annak működését tárta fel, melyet imponáló részletességgel elemzett és tett közzé a legmagasabb szakmai színvonalat képviselő folyóiratokban. Minden részletnek utána lehet nézni.

Amit viszont nagyon hiányolok, és aminek itt és most, ebben a dolgozatban lett volna a helye, az egy bizonyos fajta szintézis, pontosabban, *ennek a feltárt kapcsolatrendszernek és működésének a megjelenítése*. Nagyon elkelt volna egy olyan ábra a dolgozatban (a *Rövid értekezésben*), melyben az egyes folyóiratokban leírt részleteket, a feltárt mozaik darabokat összerakta volna. Egy olyan ábrát hiányolok, mely vázlatosan tartalmazta volna az érintett agyi struktúrákat, a bennük lévő tipizált neuron féleségeket, azok kapcsolatrendszerét, egymásra hatását.

Tökéletesen egyetértek azzal, hogy ha valaki ennyi eredményt produkál, magas követelményeket támasztó folyóiratokban közöl, annak idején elkészítette a kéziratok elfogadáshoz szükséges ábrák, táblázatok tucatjait, akkor ne kelljen már egy értekezésben, még egyszer, több tucat oldalon mindezt újból leírnia, új ábrákat szerkesztenie! De ha egyszer a **Doktori Szabályzat** olyan, hogy az MTA doktora cím elnyeréséhez nem elégséges a megjelent publikációkat egyszerűen egybekötve benyújtani, hanem értekezést is kell írni, még ha *Rövid értekezést* is, akkor annak többnek kellene lennie az eredmények pusztá felsorolásánál. Ez alkalom kellene, hogy legyen a szintézisre. Ez persze részben megvalósult, de csak részben, és csak szövegesen.

Harmadik vizsgált tématerület

A nucleus incertus szerepe a kontextuális emlékek rögzítésében

Ezen tématerületen elért legfontosabb eredményeiket egy 2019-ben a Science-ben megjelent közleményben foglalták össze, melynek szupplementuma szintén tartalmaz minden, a kísérletek részleteivel kapcsolatos információt.

A vizsgálatok a félelmi emlékekkel kapcsolatos kontextuális memória kialakulását, annak mechanizmusának megismerését célozták. A félelmi emlékek kialakulásához az ártalmas ingerek (feltétel nélküli inger) és az adott helyzet körülményeinek (az un. kontextusnak) a társítása szükséges, amiben meghatározó szerepük a hippokampusz CA1-es régiójának piramis sejtjei. Az ártalmas ingerek hatása ezen piramis sejtek disztális dendritjeire érkezik az entorhinális kéregből, míg a kontextuális információk a CA3-ból a CA1-es piramis sejtek proximális dendritjeire. A CA1 piramis sejtjein lejátszódó dendritikus kölcsönhatások hosszú távú plaszticitást eredményeznek, és így módon a piramis sejtek egy kis százaléka un. memória engramot képez. A memória engram kialakulásához, az emléknymom pontos felidézhetőségéhez kritikus, hogy hány CA1 piramis sejt vesz részt benne. Nem jó se a túl sok, se a túl kevés. Ennek szabályozása a szomatosztatint (SOM) kifejező un. oriens-lacunosum moleculare (OLM) gátló interneuronok révén valósul meg, melyek szelektíven gátolják a piramis sejtek disztális dendritjeit. Ez pedig az OLM sejtek szabályozásán (serkentésén vagy gátlásán) múlik, és ide kapcsolódnak felfedezéseik is, melyek közül kiemelem és

újként ismerem el:

- 1)** Kimutatták, hogy a nucleus incertus (NI) GABAerg neuronjai –közvetlen bemenetet képezve- szelektíven gátolják a hippokampusz SOM-pozitív interneuronjait.

- 2) A NI GABAerg neuronjai gátolják a septum medianumban (MS) a hippocampusz OLM sejtjein serkenő hatást kifejtő neuronokat.

Látjuk tehát, hogy a NI GABAerg sejtjei közvetlenül is, valamint a septum medianumon (MS) keresztül is, képesek befolyásolni a hippocampusz hálózati aktivitását.

- 3) Kimutatták azt is, hogy a NI GABAerg sejtjeinek pontosan időzített serkentése gátolja a félelmi memória kialakulását, míg pontosan időzített gátlása erős félelmi emléket alakít ki.
- 4) Ezen neuronok pontatlan serkentése nem befolyásolta a félelmi memóriát.

Megjegyzés: Itt ugyan azt mondhatnám el, mint a korábban tett megjegyzésben. Egy, az eredményeket (és a vonatkozó korábbi ismereteket) szintetizáló sematikus ábra nagyban segítette volna a folyamatok megértését.

A Tézisek füzetéről nem szokás külön értékelést adni. Hogy mégis szóba hozom, az azért van, mert felkeltette érdeklődésemet szokatlan alakjával és terjedelmével. Számomra a megszokott a kis alakú (A5-ös formátum). Ez pedig az értekezéssel azonos A4-s formátumban készült, (a Referenciákat nem számítva), terjedelme is csak 11 oldallal rövidebb, mint maga az Értekezés. A szöveg egy része copy paste-el került ide az Értekezésből, ami nem lenne akkora probléma, ha ügyelt volna a Jelölt például arra, hogy azok a hivatkozások, amelyek az Értekezésből átmásolt szövegben vannak, szerepelnek-e a Tézisfüzet Referenciái között. A Tézisfüzetben lévő referenciák száma ugyanis kevesebb, mint amennyi az Értekezés irodalomjegyzékében van (lásd. pl. mindjárt az 1. és 2. hivatkozást). Pozitív dolog viszont, hogy az Értekezésben hibásan írtak közül néhány dolgot (ha nem is mindent) a Tézisfüzetben már korrigált a Jelölt (pl. *A szeptum és a hippocampusz erős anatómiai és funkcionális kapcsolata*).

A kritikus, néha talán szörszálhasogató megjegyzéseim ellenére, a bemutatott eredmények alapján senkiben kétség nem merülhet fel annak tekintetében, hogy Nyiri Gábor nemzetközi mércével mérve is kimagasló tudományos munkát végzett. Szakszerűen, gondosan megtervezett, a legkorszerűbb módszerekkel, széles metodikai repertoárt használó kísérletek során jutott jelentős megállapításokra. Értekezésében több eredeti megállapítást tett, és eredményeit rendszerbe foglalta. Mindehhez szívből gratulállok! Véleményem szerint Nyiri Gábor értekezése, (legfőképpen a bennfoglalt publikációk) messzemenően teljesítik a tudomány doktora cím megszerzésével szemben támasztott követelményeket. Ennélfogva a mű alkalmas a nyilvános vitára. Tisztelettel javaslom a Bíráló Bizottságnak az értekezés elfogadását, és Nyiri Gábor részére az MTA doktora cím odaítélését.

Szeged, 2020. február 05.

Toldi József