



Opponensi vélemény

Dr. Hájos Norbert: A hippokampális gamma oszcillációk keletkezésének sejtszintű mechanizmusai és kannabinoidok által történő szabályozása

című, az MTA doktora címért benyújtott értekezéséről

Az MTA doktori fokozat elnyerésére benyújtott értekezés a jelölt PhD fokozat megszerzését követő tíz év eredményeit tartalmazza. Az értekezés benyújtása kumulatív formában történt, vagyis a 31 oldalnyi összefoglaló jellegű leíráshoz csatoltan találjuk a disszertáció alapját képező 17, a benyújtás idejében már megjelent közleményt, egy közlésre elfogadott közleményt és kettő előkészületben lévő kézirat ábraanyagát. A megjelent közlemények mindegyike magas színvonalú külföldi folyóiratban jelent meg, amelyek tudományometriai adatai (impakt faktor, citáció szám) messze meghaladják az MTA doktori disszertáció benyújtásához előírt értéket.

Dr. Hájos Norbert az agykérgi ideghálózatok működésének nemzetközi szakértője. Munkássága elsősorban az idegsejtek kommunikációs dinamikájának megismeréséről szól és a közel 40 éve felfedezett idegi szinkron aktivitás jelentőségének kutatásáról. Ismereteit hazai és külföldi kutatóhelyeken szerezte. Amerikától az Egyesült Királyságig számos laboratóriumban dolgozott, ahol szakmai tudását továbbfejlesztette és olyan módszereket sajátított el, amelyekkel feltárhatók az idegsejtek szinaptikus tevékenysége során megjelenő szinkron-aktivitási folyamatok és ugyanakkor megkülönböztethetők (azonosíthatók) a sejtek morfológiai típusai. E kettős cél, funkció és struktúra megismerése jellemzi a modern idegtudományt, így Dr. Hájos Norbert és munkatársainak munkáját is. A csatolt közlemények tulajdonképpen egymásra épülő munkákat takarnak, amelyek során lépésről-lépésre egyre többet tudhat meg az olvasó az idegi szinkron-aktivitások hátterében álló biofizikai folyamatokról egy sejt- és sejhálózati szinten.

A disszertáció alapját képező közlemények mindegyike többszerzős. A húsz megadott munka közül 9-ben első-szerző, 9-ben utolsó-szerző és kettőben társszerző a jelölt. A közlemények alapos és megbízható bírálatát nemzetközi szakértők már elvégezték ezért a magyar összefoglaló kézbevételekor arra számítottam, hogy a közlemények tényszerű rövid ismertetésén túl egy izgalmas áttekintést kapok az ideghálózatok szinkron működéséről érintve annak humán élettani jelentőségét. Különösen érdekelne az amúgy kiváló munka kognitív és memória folyamatokra vonatkozó kihatása mind normál, mind patológiás esetben. Ezt a lehetőséget a jelölt sajnos nem használta ki, pedig itt igazán szabadjára engedhette volna fantáziáját és megismerhettük volna mi a személyes elképzelése az agy működéséről.

Formai szempontból a disszertáció megfelel az MTA által elfogadott követelménynek.

Kritikai észrevételeim:

A szövegben kevés elírás található. A szöveg nyelvezete sajnos helyenként magyartalan, érződik az angolról magyarra fordítás nyerssége. Ezért bármennyire is érdekes a téma, hiszen végig dinamikáról és sejtek közötti kommunikációs hangolásról van szó, a leírt magyar szöveg stílusában nem tükrözi kellően, mennyire érdekes és izgalmas dolgokról van szó. A magyar összefoglalóban hasznos lett volna a rövidítéseket táblázatban megadni.

Kérdéseim a disszertációval kapcsolatban:

1) Milyen szerep(ek) tulajdonítható a nem-periszomatikus régióra specializált gátló sejteknek a gamma oszcilláció, de tágabb értelemben a más frekvenciákon történő ritmikus aktivitás kialakításában? Ismert, hogy ezen sejtek szómától távol eső szinapszisainak hatása az intracelluláris elvezetésekben is csak ritkán vagy alig kimutatható. Modellezési munkák alapján mégis feltételezik, hogy e távoli események igenis befolyással lehetnek a periszomatikus régióra.

2) A kolinerg aktiváción kívül milyen más természetes mechanizmus (ok) vezethet gamma-oszcilláció megjelenéséhez a hippocampusban? Tekintve a hippocampus igen gazdag bemeneti forrásait mind anatómiai mind neurotranszmitter féleség szempontjából adódik annak felvetése, hogy más mechanizmuson keresztül is megvalósulhat oszcillatórikus működés. Például az aminerg-rendszer általánosan fokozza a központi idegrendszer aktivitási szintjét, amelyre agykérgi szinten jellemző a béta és gamma ritmus erősödése. Mi a jelölt álláspontja ezzel kapcsolatban?

3) A benyújtott disszertáció elegánsan mutatja meg a gamma oszcilláció generálásában résztvevő periszomatikus gátló sejtek jelentőségét. Kíváncsi lennék, hogy a periszomatikus régió két kulcsszereplőjének, az axo-axonikus sejt, a FSBC („fast spiking basket cell”) és a RSBC („regular spiking basket cell”) élettani körülmények mi a szerepe, másképpen mi a feladatuk, pl. a memória feldolgozásában?

4) A csatolt közleményekben előfordul, hogy a periszomatikus gátló sejtek egy csoportba voltak összevonva annak ellenére, hogy morfológiai vizsgálatot is végeztek az intracellulárisan jelölt axo-axonikus és PV-tartalmú kosársejteken. Azt olvasom: nem lehetett egyértelműen megkülönböztetni őket (16.sz. melléklet, p.2117). Ezt nem nagyon értem, tudomásom szerint e két sejtípus morfológiai jegyei alapján könnyen elkülöníthető egymástól.

5) A gyorsan tüzelő gátló sejtípusok kivételével minden vizsgált CA1 sejtípusnál (piramis és gátló sejt) megfigyelhető volt a küszöbalatti membránpotenciálnál rezonancia félépité. Mi a membránfiziológiai magyarázata, hogy a gyorsan tüzelő gátló sejteknél ez a tulajdonság hiányzik? Mi lehet ennek az élettani jelentősége?

A benyújtott kumulatív értekezés nagyon sok eredeti megfigyelést tartalmaz. Ezek közül szemezgettem és kiválasztottam azokat a véleményem szerint fontos megállapításokat és megfigyelést, amelyeket Dr. Hájos Norbert PhD fokozatának elnyerése óta eltelt időszak legfontosabb eredményének tekintek.

Bírálként tehát a következő megállapításokat fogadom el a jelölt főbb tudományos eredményeinek:

1) Technikai újítást is végeztek és kidolgozták az ún. alámerített-szeletpreparátum használatát és megállapították, hogy a perfúziós oldat áramlási sebességének növelése segíti a szelet oxigén ellátottságát, aminek kulcsszerepe van a hálózati gamma-oszcillációk

megjelenésében és fenntartásában. Számos technikai paraméter értékét határozták meg, pl. a szeletkamra alakja, térfogata, a perfúziós oldat áramlási sebessége, oxigén-tenzió, a perfúziós csövek típusa. Javaslatot tettek a perfúziós oldat minél természet közelebbi azaz quasi-in vivo összetételére.

2) A carbachol és DHPG alkalmazásával igazolták, hogy mind a serkentő mind a gátló szinaptikus jelátvitel fontos a gamma-oszcilláció fenntartásában a CA3 régióban. Megfigyelték továbbá, hogy a carbachol indukálta hosszantartó gamma-oszcillációk során a CA3 piramis sejtek az oszcilláció negatív csúcsán tüzelnek, amit a gátló sejtek időben híven követnek. Ez utóbbi sejtpopulációt tekintve elsősorban a periszomatikus gátlásért felelős sejtek a legaktívabbak, míg a többi gátló sejtípus nem vagy alig mutat fáziskapcsolódást az oszcillációval. Ezen kívül az egyik benzodiazepin agonista, zolpidem, alkalmazásának hatására bekövetkező mIPSC-k változásából arra következtettek, hogy GABA_A receptorok ill. a GABA koncentráció nagyfokú diverzitást mutat központi idegrendszer különböző területeit és sejtípusait tekintve.

3) A hippocampális hálózat gamma-oszcillációjának áramforrás sűrűség (CSD) analízisével és feszültség függő festékek (VSD) képalkotó eljárással történő megfigyelésével igazolták, hogy a „forrás” és „elnyelő” területek a CA3 régió str.pyramidale és str.oriens rétegeivel fednek át. Az eredmények tükrében megállapították, hogy az oszcilláció generálása a piramis sejtekre érkező periszomatikus GABA_Arg bemeneten és AMPA receptor aktiválta rekurrens serkentésen alapul.

4) Kvantitatív mérésekkel kimutatták, hogy a gamma-oszcillációk során a gátló sejtek tüzelési fázisának pontosságát elsősorban a piramis sejtek szabályozzák. Ugyanakkor a piramis sejtek maximális szinaptikus bemenete és a csúcstüzelési ráta fázisa között csak gyenge korreláció van, ami az egyéb faktorok hatását valószínűsíti, pl. nem kémiai szinapszison keresztüli interakciót.

5) Mezőpotenciál és egysejt-elvezetéssel kimutatták, hogy a CA3 régióban a carbachol indukálta gamma oszcilláció alatti áramforrás elsősorban gátló- áramokat tartalmaz. Elsőként derítettek fényt az oszcilláció fázisa és a gátló és serkentő áramok amplitúdó összefüggésére. A gátló áramok a piramis sejtek esetében mutatták a legszorosabb kereszt-kovarianciát a mezőpotenciál ritmikus változásával, míg a serkentő áramok meglepően ugyan, de nem mutattak ilyen kereszt-kovarianciát. Ebből arra következtettek, hogy a mezőpotenciál változása elsősorban a periszomatikus gátló sejtek aktivitásának köszönhető semmint a serkentő szinaptikus bemenetnek. Ez a megállapítás összhangban van azzal a mások általi megfigyeléssel, miszerint akár egyetlen periszomatikus kosársejt aktivitása is kiválthat mérhető nagyságú mezőpotenciált.

6) Kombinált farmakológiai, elektrofiziológiai és immunhisztokémiai kísérletekkel bizonyították a rövid idejű retrográd jelzőrendszerek jelenlétét az oszcillációban résztvevő GABA_Arg gátló sejtpopulációra. Az endokannabinoid NO-függő retrográd jelzőrendszerről kimutatták milyen szignalizációs útvonalon éri el a GABA_Arg gátló szinapszisok depolarizáció-indukált szupresszióját és ennek a mechanizmusnak az összefüggését a kolinerg aktivációval.

7) A hippocampusz CA1 régiójában végzett kísérletekkel kimutatták a h-áram szerepét az ún. küszöb alatti feszültségtartomány alatti membrán rezonancia kialakulásában. A „whole cell voltage clamp” mérésekkel sikerült a h-áram karakterisztikáját meghatározni a különböző sejtípusokra vonatkozóan különböző rezonancia feltételek alatt. A mérési eredmények és a felállított passzív membrán modell együttesen magyarázatot ad a mért ellenállás profilok és rezonancia preferencia sejt-specifikus jellegére, amelynek egyik meghatározó eleme maga a h-áram.

8) Kettős intracelluláris elvezetésekkel végeztek CA1 és CA3 piramis sejt és periszomatikus gátló idegsejtekből és az eredmények alapján feltételezhető, hogy a megemelkedett acetilkolin-indukálta gamma-oszcillációk generálása szinte kizárólag a PV-tartalmú FSBC („fast spiking basket cell”) vagy gyorsan tüzelő kosársejteknek tulajdonítható. Ugyanakkor

szignifikáns különbséget találtak a háromféle periszomatikus gátló sejt között a kolinerg-receptorok aktivációja által indukált „unitary IPSP”-k csökkenésében. Míg a gyorsan tüzelő kosársejtek és az axo-axonikus sejt esetében muscarinerg 2-es típusú receptoron keresztül érvényesül a uIPSP-k amplitúdó csökkenése, addig a RSBC-on CB1 típusú receptor mediálta hatás érvényesül, minden bizonnyal a piramis sejtek posztszinaptikus felszínén található M1 és M3 típusú kolinerg receptorok közreműködésével. Ezek a mérések rámutattak a CA1 és CA3 régió – de valószínűleg hasonló a helyzet más agykérgi területeken is – neuronhálózati dinamika-komplexitására és sejtípus függő finomhangolási kapacitására.

9) A szelektív MOR agonista (DAMGO) használatával kimutatták az endogén opiátok valószínűsíthető szerepét a gamma-oszcillációk szuppressziójában.

Sokat tanultam a disszertáció alapját képező közleményekből és nagy örülök, hogy egy fiatal kolléga egy technikailag nehéz és gyorsan fejlődő tudományterületen ilyen szép sikereket ért el.

Végezetül megállapítom, hogy Dr. Hájos Norbert a PhD fokozat megszerzése óta eltelt időszakban folyamatosan világszínvonalú tudományos végez, s ezzel hozzájárul a magyar tudomány kiváló nemzetközi megítélésének. Mindezek alapján Dr. Hájos Norbertet messzemenően megfelelőnek tartom az MTA doktora cím megszerzésére és javasolom, hogy az MTA Doktori Tanácsa Dr. Hájos Norbert “ *A hippocampális gamma oszcillációk keletkezésének sejtszintű mechanizmusai és kannabinoidok által történő szabályozása*” című doktori értekezését nyilvános vitára bocsássa.

.....
Dr. Kisvárdy Zoltán
egyetemi docens
az MTA doktora

Debrecen, 2011. augusztus 1.