

Dr Sótónyi Péter “*A hypothalamicus szabályozás egyes funkcióinak vizsgálata*” című Akadémiai Doktori Értekezésének bírálata.

A bíráló szerint a benyújtott doktori értekezés megfelel a formai követelményeknek. Az értekezés alapjául szolgáló eredeti közlemények scientometriai mutatóit a bíráló nem vizsgálta, mert feltételezte, hogy azt az MTA Agrártudományok Osztálya megvizsgálta és azok az Agrártudományi Osztály által megkövetelt kritériumoknak megfelelnek.

Az értekezés alapjait a hypothalamus táplálék felvétel, energiaháztartás, szexuális dimorphismus és a szaporodás szabályozásában betöltött szerepének vizsgálata képezi. A kísérletek túlnyomó részét immunhisztokémiai valamint *in situ* hibridizációs módszerekkel végezték rágcsálók agyszeletein, melyeket fény és elektronmikroszkópos módszerekkel vizsgálták. Az értekezés alapjául szolgáló kísérleti módszerek megfelelnek a 21. század neuroanatómiai módszertanának. Az eredmények statisztikai értékelése alapos, jól átgondolt. Az értekezés alapjául szolgáló témák döntő többségében az eredmények funkcionális következményei kísérletesen nem voltak tesztelve. A bíráló örömmel fogadta volna, ha a 4.3-as fejezetben alkalmazott molekuláris-anatómiai-élettani megközelítés a többi fejezetben is alkalmazva lett volna.

A 4.1. fejezetben a szerző megvizsgálta, hogy az E18-ban keletkező neuronok nemre specifikus számban vannak-e jelen a hím és nőstény nucleus suprachiasmaticus-ában. A kérdést DrDU E18. napon történő befecskendezésével és az állatok agyának 60 nappal későbbi feldolgozásával, valamint az BrDU immunhisztokémiai kimutatásával vizsgálták. Eredményeik azt mutatták, hogy a BrDu pozitív sejtek szignifikánsan nagyobb számban voltak jelen a nőstény agy nucleus suprachiasmaticus-ában. Ezt a nemek közötti különbséget prenatális tesztoszteron kezeléssel meg tudták fordítani. Többszörös immunhisztokémiai jelölésekkel bebizonyították, hogy a nucleus suprachiasmaticus-ban található neuron típusok mind tartalmazták a BrDU-t, azaz az embrionális kor 18. napján keletkezett idegsejtek nem mutattak sejt típus specifikus szegregációt. A szerző részletesen leírja az eredményeit és azok statisztikai elemzését. Továbbá a megbeszélések fejezetben számos funkcionális hipotézist megfogalmaz, például a szteroidok hatásmechanizmusára vagy a calbindin-D28K hatására vonatkozóan. A bíráló nem látja megalapozottnak például, hogy miért „calbindin-D28K, vagy akár más calcium-pufferolásra képes calcium kötő fehérjék kulcsszerepet játszanak a SCN szexuális dimorphismust eredményező szerkezetének kialakításában”. Ha a calbindin-D28K expressziója korrelál más pl. ion csatorna, neurotranszmitter receptor vagy intracelluláris jelátviteli pálya elemeinek expressziójával, akkor a szexuális dimorphismust eredményező folyamatokban nem szükségszerűen a calbindin-D28K,

hanem a calbindin-D28K-t expresszáló sejtek más, de hasonlóan sejt típus specifikus kifejeződést mutató fehérjéinek a következménye a szexuális dimorphismus kialakulása.

Az értekezés 4.2. fejezetében a szerző arra a kérdésre keresett választ, hogy milyen hatással van az anyagcsere változása a hypothalamus hypocretin tartalmú sejtjeire valamint ezek célsejtjeire. A kérdés megválaszolásához c-fos, korai gén expresszióját vizsgálta éheztetett és kontroll majmok hypothalamus-ában. Az eredmények rámutattak, hogy a hypothalamicus c-fos-t expresszáló neuronok száma éhezést követően számos magcsoportban megemelkedett. A hypocretin tartalmú sejtek c-fos aktivitása is szignifikánsan megnőtt jelezve, hogy ezen neuronpopuláció aktivitása is fokozódik az éheztetés következtében. Az eredmények, mint minden korai gén expressziós kísérlet esetében, igen nehezen interpretálhatóak. A szerző nem tett erőfeszítést annak érdekében, hogy megállapítsa, hogy milyen mértékű és milyen hosszú ideig tartó „emelkedett” aktivitás szükséges a c-fos expresszió detektálható mértékű megnövekedéséhez. Ezen információk nélkül az eredmények funkcionális következtetések levonására csak nagyon indirekt módon használhatóak fel.

A 4.3. fejezetben a szerző megvizsgálja, hogy a ghrelin milyen hatásmechanizmusokon keresztül képes kiegyensúlyozni a leptin energiaháztartásra gyakorolt hatásait. A szerző kombinált élettani és anatómiai módszerekkel vizsgálta a ghrelin és receptora eloszlását valamint a ghrelin hatását különböző idegsejt populációkon. Az eredmények meggyőzően mutatják, hogy a ghrelin megnöveli az NPY sejtek aktivitását valamint a POMC neuronokra érkező gátló, GABA_A receptorok által közvetített IPSC-k frekvenciáját. Ezzel párhuzamosan a POMC neuronok membrán potenciálja hiperpolarizálódott. Érdekes, hogy ezen hiperpolarizáció nem volt gátlható egy GABA_A receptor antagonistával, csak egy NPY Y1 receptor antagonistával. Ez csak úgy értelmezhető, hogy a POMC neuronok nyugalmi membrán potenciálja egybeesik a GABA_A receptorok megfordulási potenciáljával, ami következtében a fokozódott GABA gátlás, mint „shunting” gátlás jelenik meg. Érdekes lett volna megvizsgálni, hogy a POMC neuronok tüzelési frekvenciájának csökkenését (4.3.4.F) hogyan befolyásolja a GABA_A receptorok blokkolása. A szerző által javasolt modellben (4.3.7 ábra), ha ugyan azon CRH sejtek kapnak direkt szinaptikus bemenetet az NPY és a POMC sejtektől is, akkor a ghrelin az NPY sejtekből érkező IPSP-k frekvenciáját növelni (inhibíció), míg a POMC sejtekből érkező szinaptikus válaszok frekvenciáját csökkenteni fogja (diszinhibíció). Ennek tükrében milyen összhatást jósol a szerző a CRH sejteken? Meg kell említeni, hogy ebben a fejezetben a szerző számos élettani kísérletet mutat be, melyekkel igazolja a ghrelin hatását a nucleus arcuatus POMC és NPY sejtjeire, de a értekezés *Felhasznált Anyagok és Módszerek* fejezetében ezen élettani kísérletekről semmi információ nem található meg.

A 4.4. fejezetben a szerző vizsgálja a GnRH tartalmú axon végződések posztzinaptikus célelemeit és bebizonyítja, hogy a POMC neuronok számos szinaptikus bemenetet kapnak GnRH tartalmú axon végződésektől. Ezután a nucleus arcuatus parvalbumin tartalmú neuronjainak ösztrogén kezelés hatására történő változását vizsgálta. Az eredmények azt mutatták, hogy ösztrogén kezelés hatására a POMC neuronok parvalbumin tartalma megegyezik. A fejezetben leírt kísérletek logikai kapcsolata nem világos a bíráló előtt.

A 4.5. fejezet a nucleus arcuatus POMC és NPY tartalmú sejtjeinek szinaptikus bemeneteit vizsgálta, normál és magas zsír tartalmú diéta esetén egy elhízásra hajlamos és egy rezisztens patkánytörzsben. Az eredmények rávilágítottak a POMC neuronok periszomatikus szinaptikus bemeneteinek plaszticitására. Standard diéta esetén a elhízásra hajlamos patkányok periszomatikus gátló szinapszisei nagyobb számban voltak jelen mint a serkentőek, míg magas zsírt tartalmazó diéta esetén az elhízásra rezisztens törzs POMC neuronjaira érkező gátló szinapszisek száma emelkedett meg. Ezen szinaptikus morfológiai változások alapját képezhetik egy valós serkentés-gátlás egyensúly megváltozásnak, de a preszinaptikus neurotranszmitter felszabadulás valószínűségének és a posztzinaptikus kvantális méret nagyságának ismeretének hiányában nehéz megjósolni a változások élettani hatását. A szerző valószínűleg elírás miatt megjegyzi a 73. oldal első bekezdésében, hogy „...POMC sejteiben a serkentő szinapszisek domináltak (4.5.2.D ábra, $p < 0.05$)”. Az idézett ábrán a serkentő és gátló szinapszisek száma szinte tökéletesen azonos.

A 4.6 fejezet a NTPDáz3 enzim hypothalamicus elhelyezkedését és expressziós szintjének ösztrogén érzékenységet vizsgálja. Fény és elektronmikroszkópos immunhisztokémiai jelöléssel megmutatták, hogy a nucleus arcuatus valamint a laterális hypothalamus számos NTPDáz3 pozitív sejtet tartalmaz. Az enzim mind pre- és posztzinaptikusan is megtalálható volt. Ösztrogén kezelés hatására a laterális hypothalamus-ban a NTPDáz3 szint növekedés egy csúcsot mutatott hozzávetőlegesen 4 órával a kezelés után, míg a mediális hypothalamus-ban két csúcs volt megfigyelhető; az első 10 órával a második 26 órával a kezelés után. Ebben a kérdéskörben a szerző első megközelítésre megvizsgálta az enzim szubcelluláris eloszlását, majd az enzim mennyiségének változását ösztrogén kezelés után. Érdekes lett volna megvizsgálni, hogy az enzim mennyiségének növekedése minden szubcelluláris kompartmentben jelentkezik-e?

Habár az értekezés szerkesztése példa értékű, apró technikai hibák így is találhatóak.

A 43. oldal második bekezdésében a szerző a 4.2.3.F ábrára utal. Ennek az ábrának nincs F panelje.

A 44. oldalon található ábra a 4.4.2 sorszámot viseli, ami nyilvánvalóan 4.2.2.

A 48. oldalon a szerző említi, hogy 3 különböző ellenanyag adott egyetlen sávot a western blot-on és utal a 4.3.1.A ábrára. Ott csak egy ellenanyaggal kapott eredmény látható.

65. oldal első bekezdés: "Mivel a GluR-2-es altípus calcium influxot indukál..." A Q/R editált GluR2 alegység hiányában válnak az AMPA receptorok Ca^{2+} áteresztővé.

72. oldal. „2. ábra”, ami 4.5.2. ábra kellene legyen.

Fentiek szerint javaslom a nyilvános vita kitűzését és a sikeres védés esetén az MTA Doktora Cím odaitélését.



Nusser Zoltán

Az MTA levelező tagja

Budapest, 2011. július 21.