

Bírálati vélemény Sótonyi Péter „A hypothalamicus szabályozás egyes funkcióinak vizsgálata” c. MTA doktori disszertációjáról.

Az értekezés témaválasztása korszerű és kellően megindokolt. A hypothalamus létfontosságú, homeostasist szolgáló neuronális rendszereinek, ezen belül különösen a táplálékfelvétel és az energia-háztartás regulációjában szereplő körök alaposabb megismerését célzó kísérletes munka. Felhasználja és komplex módon alkalmazza a neuroanatómia, neurofiziológia és neurokémia korszerű technikáit.

A disszertáció formailag kidolgozott, önálló, magyar nyelvű munkának felel meg, amely a tárgykörbe tartozó és az eredmények alapjául szolgáló eredeti közleményekre épül (utóbbiak nincsenek a kötetbe becsatolva). Mindenképpen dicséretes, hogy a Jelölt ezt a (ma már ritkábban alkalmazott) formát választotta, nem elégedett meg a közlemények bekötésével, és egy kiterjesztett tézisszerű összefoglalással. Ezáltal az akadémiai disszertáció eredeti, hagyományos feladata: a tudományos eredmények *tractatio*-szerű bemutatása, továbbá széles olvasótábor számára magyar nyelven elérhetővé tétele, maradéktalanul érvényesülhet. Ez a formai követelményeknek is megfelel. A bemutatott cikkek többsége színvonalas nemzetközi folyóiratokban megjelent, peer-review folyamatban elbíralt, *in extenso* közlemény.

A disszertáció szövege köszönetnyilvánítással együtt 117 oldalt tesz ki, ebből az Bevezetés és irodalmi áttekintés 16 oldal, a Célkitűzések 2 oldal, a Felhasznált anyagok és módszerek 7 oldal, az Eredmények és következtetések 64 oldal, majd az Összefoglalás 4 oldal. A Bibliográfiák fejezet a hivatkozott közlemények felsorolásával kezdődik (15 old), majd 5 oldalon a saját közlemények következnek, ezen belül a közvetlenül az értekezés témájába vágó 10 munka (közülük kettő azonban nem vagy csak utalásszerűen szerepel a disszertáció bemutatott anyagában), majd további, a Disszertáns munkásságát meghatározó közlemények. A felépítés összességében arányos, kivéve a módszertani leírás hiányosságait (amire később részletesebben kitérek). A megbeszélésre fejezetenként, az oda vonatkozó eredmények leírása után kerül sor, általános megbeszélést csak röviden, az utolsó összefoglaló fejezetben olvashatunk. Ez önmagában nem kifogásolható; valószínűleg az indokolta, hogy a különböző módszerekkel, önálló egységekben végzett kísérletek tárgyalása az adott kontextuson belül egyszerűbb, és a közlemények logikáját is jobban követi. Ez a széttagoltság azonban korántsem akadályozta a Jelöltet abban, hogy dolgozatának a fejezeteket egybefogó koncepcionális ívet adjon, és a tárgykörből szinte inherens módon adódó túlbonyolítás vagy áttekinthetlenség csapdáit elkerülje. Az érem másik oldalaként, a túlbujánzó ágak-bogak lenyesegetésének az ára néha a túlzott leegyszerűsítés, bizonyos fontos kérdések figyelmen kívül hagyása.

A dolgozatnak nem válik előnyére, hogy a Szerző nem sorolta fel az eredmények alfejezetei elején azokat a közleményeket, amelyekben az ott bemutatott és diszkutált észleletek megtalálhatók. Ez megnehezíti az olvasó dolgát, amikor a bemutatott kísérleti eredményeket az eredeti közleményekben visszakeresi. Szerencsésebb lett volna, ha a Jelölt saját új eredményeit nemcsak szöveges összefoglalásban, hanem pontokban kiemelve is felsorolta volna, miáltal azok a kitűzött célokkal világosabban egybevetethetők lennének.

A dolgozat szerkesztése jól áttekinthető és tetszetős. Nyelvezete világosan fogalmazott és élénk, érződik rajta a tapasztalt egyetemi oktató közérthetőségre törekvése és kiváló kifejezőkészsége. A decimális számozás a tájékozódást elősegíti. Kár, hogy az egyébként átgondolt és jó stílusban megírt dolgozatban elég nagy számban fordulnak elő elütések, sajtóhibák és kisebb felületességek.

Az alábbiakban a disszertációt érintő kérdéseimet ill. kritikai megjegyzéseimet sorolom fel.

Bevezetés 1.1. Több terminológiai elírás ill. logikátlanság: (infundibulo-tuberalis régió, de: mamillare régió), nucl. preopticus egy oldalon kétféle írásmóddal (pre- ill. prae-), szabad szövegben helyesebb elülső és hátulsó magesoportot írni mint anteriort és posteriort. Zavaró a 'corpus mamillaris' ('mamillare' helyett).

5. old. A hypothalamus funkcióinak összefoglalásában nem logikus elem, hogy az f. pont alatt (vegetatív idegrendszeri szabályozás) csak pályák vannak felsorolva, míg az összes többi funkcionál magokat ad meg a Szerző. Néhány fontos funkció említése viszont kimaradt, pl. ivadékgondozás, szülés, agresszió stb.

7. old. A 'cirkadián' ritmus magyarul kissé erőltetett (bár eléggé közkeletű) kifejezés.

Megfelelő és szép magyar szakkifejezése: napszaki ritmus.

8. old. Az IGL neve helyesen intergenikuláris lemez (*intergeniculate leaflet*), a név logikáját a Szerző a következő mondatban meg is magyarázza. 'Intragenikuláris' mást jelent, egyébként ezt is meg lehetne magyarázni, de külön indokolást igényelne a megszokott nevezéktantól való eltérés.

'Expresszál' ez a ma közkeletű terminus, véleményem szerint, magyarban hibás származtatás eredménye. Nem a Jelölt hibája ez, de egy doktori értekezés bírálójaként felhasználom az alkalmat, hogy felhívjam a figyelmet e problémára. A latin *-primo*, *-primere*, *-pressi*, *-pressum* ige-től származó szavakat igei formájukban hagyományosan az alaptőből (praesens) magyarítjuk: tehát komprimál, imprimál, deprimál, míg a főnévi alakok a perfectum-től származnak (*kompresszió*, *impresszió*, *depresszió*). Ennek mintájára, valamely gén kifejeződése helyesen *gén-expresszió*, ám az igei alaknak az *exprimál* (nem pedig *expresszál*) felel meg. Az utóbbi az angol 'to express' igeének szolgai átvétele.

Természetesen nyugodtan mondhatjuk magyarul azt is, hogy egy gén vagy transzkript 'kifejeződik' (azaz: exprimálódik- visszaható igealak, ill. exprimál - cselekvő igealak).

10. old. 'Oxintikus sejtek' – ez is egy angol (ráadásul ritkán használt) név magyarítása. E sejteket közönségesen fedősejteknek vagy parietalis sejteknek nevezzük magyarul.

13. old. 'projektál' – helyesen 'projiciál'

23. old. A patkányok standard ill. high fat tápja ugyanakkora kJ (11,8) felszabadítható energiát tartalmaz? Alább az egértápok esetén a zsírban gazdagabb valóban magasabb kJ (itt kcal-ban megadva) értéknek felel meg. Az egerek esetén a Jelölt megadja a magas zsírtartalmú táp normál táphoz viszonyított súlygyarapító hatását, de a patkányoknál ilyen előzetes adat a metodikában nem szerepel.

24. old. PMSF rövidítés nincs megmagyarázva

25. old. A Vectashield nem beágyazó-, hanem inkább protektív lefedőszer

26. old. „Durcupan ill. (!) műgyantába kerültek beágyazásra” – zavaró kifejezés, hiszen maga a Durcupan műgyanta. A 3.7. pont alatti technikai leírás az alkalmazott önkényes rövidítések (BST, TBST) miatt nehezen követhető. Ha nem sokszor előforduló betűszóról van szó, nem érdemes rövidíteni, de ha mégis, azt a rövidítés-listában fel kell tüntetni.

A post-embedding immunarany technikához általában nem alkalmas a réz-grid. A szövegből mégis úgy tűnik, mintha végig ilyet használtak volna.

27. old. Morfometriai statisztikai elemzés esetén a t-próba vagy egyutas ANOVA csak bizonyos előfeltételekkel alkalmazható (homogenitásvizsgálat, varianciák összevetése), erre nem tér ki a leírás. Mit ért a Szerző longitudinális adatokon?

29. old. A 4.11. ábra bal oldali (krezilibolyával festett) képei túl alacsony feloldásúak, különösen a SCN shell részének pontosabb körülhatárolásához (a core részt az NPY immunreaktivitás elég jól jelöli). Ezáltal a bemutatott képek alapján nehéz egyértelműen elfogadni azt a kijelentést, hogy az SCN-en belül a BrdU jelölt sejtek a core dorsalis részében, a shell-lel határos területen dominánsak. Sajnos az értelmezést egy fogalmazásbeli

pontatlanság tovább bonyolítja. Az inkriminált szövegrész így szól: „A SCN-on belül, a BrdU jelölt sejtek a dorsalis szegmensben domináltak, a kéreggel (shell) határos területen”. A következő mondat alapján visszamenőleg kihámozható, hogy a Jelölt a core dorsalis részét érti ezen. Miután azonban fentebb a szegmens szót egészen más értelemben (metszetsík) használja, az olvasó itt elvesztheti a fonalat. Márpedig minden - egyébként fontos és érdekes – kísérleti változás a BrdU jelölt sejtek számában és eloszlásában a kiindulópont (referencia-tér) biztos és egyértelmű meghatározását tételezi fel.

A 193. és 194. publikációk bibliográfiája hiányos (kötet- és oldalszám nincs feltüntetve).

30.old. A nemek közötti ill. a tesztoszteron kezeléssel összefüggő sejtyszámbeli különbségek *interakciót* mutatnak kétutas ANOVÁ-ban. Ezt kellett volna hozzátenni az eredmények szakszerű statisztikai leírásához.

32.old. A 4.1.3. ábrán az oszlopdigrammok fölött feltüntetett szövettani képek nem mindig támasztják alá kvantitatív adatokat, pl. a female-oil oszlop kiemelkedően magas értékét. Nem magát a számolást kérdőjelezem meg, csupán az adott fotó reprezentatív voltát, az előző (male-oil) adathoz képest.

A tesztoszteron-propionát kezelések sejtyszámcsökkenő hatását a szöveg kijelenti, de az ábrán a szignifikáns különbséget jelző csillag csak egy oszlop, a female-oil, fölött van feltüntetve.

A lap alján a Szerző mintha *in utero* vizsgálatok eredményeire is utalna („...tesztoszteron hatásának kitett *in utero* nőstény embriók...”), azonban e vizsgálatokat a metodikai részben nem részletezi, így az önmagukban értékes adatok mögött álló kísérleti technika részletei csak az eredeti közleményből (Abizaid et al. 2004) kereshetők vissza. Ekkor kiderül, hogy csak a kezelés történt *in utero*, a kis állatok feldolgozása azonban *post partum* történt. Ez így félreérthető.

Nem egyértelmű az ábrák (4.1.2., 4.1.3., 4.1.4.) feliratozásából, hogy az adatok a SCN core, shell vagy együttesen mért értékeinek felelnek-e meg. Ez is aláhúzza annak fontosságát, hogy a sejtyszámoláshoz a referencia-teret pontosan rögzíteni kell. Sőt a számlálás során alkalmazott korrekciókat is (pl. határt érintő elemek figyelembe vétele vagy figyelmen kívül hagyása - utalok Gundersen ide vonatkozó munkáira). Az eredeti közleményből sem tudunk meg sok részletet erre vonatkozóan.

A 4.1.5. ábra C részén a lépték valószínűleg hibás (túl kicsik lennének a sejtek).

43.old. A c-fos sejtyszámolásnál is hiányoznak bizonyos metodikai részletek, amelyek a bemutatott eredményeket jobban megalapoznák (különös tekintettel az alacsony egyedszámra): hány párhuzamos metszeten számolták a sejteket, hogyan zárták ki a határokat érintő elemeket, alkalmaztak-e korrekciót a 'lost cap' problémára (pl. Abercrombie szerint), és az abszolút sejtyszámok mennyire vonatkoztathatók a vizsgált magok teljes volumenére? Hangsúlyozom, nem az eredményeket kívánom kétségbe vonni, hanem éppen azok megkérdőjelezhetetlensége érdekében tenném hozzá az említett kiegészítéseket, még ha az eredeti közlemény (Diano et al. 2003) ezek nélkül jelent is meg.

A 4.4.2. ábra helyesen 4.2.2.

A 4.2.3. B és C elektronmikroszkópos ábrákon a DAB-bal jelzett (HCRT tartalmú) bouton ill. a szinaptikus specializáció jól felismerhető, azonban - a kettős jelölési technika magyarázata nélkül - a posztzinaptikus elem c-fos expressziója a látható mag-szegmens alapján nem állapítható meg egyértelműen.

49.old. 4.3.1. ábra (A) A Hyp és Stom rövidítés nincs magyarázva az ábra aláírásában. Persze a szövegösszefüggésből világos, hogy a hypothalamusról ill. a gyomorról van szó.

48.old. A 'szögletes' neuron megjelölésnél szerencsésebb lett volna a 'multipoláris' kifejezés, különösen a bipolárisal szembeállítva.

50.old. 4.3.2. ábra (G) A szövegben CRH immunpozitívnak nevezett neuron az ábrán CRF-nek van jelölve. Az I-L elektronmikroszkópos képek a bemutatott méretben ill. feloldással kevésbé alkalmasak a mondanivaló illusztrálására. Különösen az a fontos megjegyzés nehezen

támasztható alá, hogy a ghrelin immunreaktivitás dense-core vezikulákra volna jellemző. Az egyébként szép immunarany jelölés denzitása – ilyen feloldás mellett, és bizonyos fototechnikai segítség, pl. háttér-szuppresszió, nélkül – hajlamos elnyomni az alatta levő struktúrákat.

51.old. A biotinilált ghrelin kötődés specifikus voltát a Jelölt leszorításos kontrollal támasztja alá, amihez nem jelölt ghrelint használ. Itt két alapvető problémát látok. Az egyik: a leszorítható kötődés csak azt bizonyítja, hogy korlátozott számú kötőhely áll az adott molekula rendelkezésére, de azt nem, hogy a kötődés specifikus receptoron történt. Ehhez specifikus receptor agonista vagy antagonist (ami ideálisan nem maga az adott ligand, azaz ghrelin) volna szükséges. A másik probléma az, hogy a leszorításos (displacement) kísérletek fontos részleteiről nem ír sem itt, sem a bevezető módszertani összefoglalóban. Ilyenek lennének: a kémiai kötődés K_d értéke, milyen molekuláris feleslegben állt rendelkezésre a jelöletlen ghrelin, hogyan gondoskodtak a nem kötött frakció kimosásáról stb. Amennyiben ezek a részletek már leközlött publikációban olvashatók (részben igen, Cowler et al. 2003), akkor viszont különösen indokolt lett volna azokra itt helyben is hivatkozni.

53.old. 4.3.4. ábra. Az ábra elektrofiziológiai mérések eredményeit mutatja be. A metodikában ilyen módszerek nem szerepelnek. Minden olyan anyagnak, amely a disszertációban bemutatásra kerül (és nem csupán hivatkozás szintjén), világos módszertani leírással kell rendelkeznie, akkor is, ha nagyobb kutatócsoport közös munkájáról van szó, ill. ha a Jelöltnek nem tartozik a fő szakterületébe. Az olvasó és a bíráló számára ugyanis a munka így egységes egész.

57.old. 4.3.5. ábrához. A ghrelin szenzitív neuronok n száma 16, a szövegből azonban nem egyértelmű (bár valószínű) hogy az NPY-ra adott válaszokhoz is ugyanezen 16 mért neuron tartozott.

Az elektrofiziológiát követő biocytin töltés, kombinálva a CRH ill. TRH immunfestéssel, igen elegáns és meggyőző kísérlet (kár, hogy – mint említettük – metodikailag nem részletezett). Érdemes lett volna a ghrelin-inszenzitív (TRH+) sejtek IPSC görbáját is bemutatni, a ghrelin szenzitív mellett.

59.old. A Szerző felveti a ghrelin preszinaptikus hatásának lehetőségét. Axo-axonikus szinapszisokra gondol? Ilyet közvetlenül nem mutat a képeken, a boutonok közti appositionok (pl. Ghr – GABA vagy Ghr – NPY) nem bizonyítanak szinaptikus hatást. Ahol szinapszist demonstrál, az a leírás szerint is axo-dendritikus. Ha nem-szinaptikus (extraszinaptikus) hatásra gondol, azt nem bizonyítja az axonok 'közelsége'. Természetesen, maguk az elektrofiziológiai eredmények meggyőzőek, csak nem utalnak egyértelműen preszinaptikus jellegre. Ez vonatkozik a bemutatott eredeti modellre is (a Horváth et al. által az Endocrinology 2001-ben közölt modell jelentős továbbfejlesztése), amely a hypothalamicus eredetű ghrelinnek a neuronhálózatban betöltött helyéről, ill. funkcionális szerepéről szól. A bizonytalan pont ebben is a preszinaptikus (axo-axonikus?) kapcsolat megléte ill. anatómiai háttere.

Ezekkel a megjegyzendő kiegészítésekkel együtt, megítélésem szerint a ghrelinnel kapcsolatos kísérleti munka – és általában a táplálékfelvétel szabályozására vonatkozó elméleti alapvetés - a disszertáció legerősebb és legmesszebbre mutató részét képezik, amelyek meggyőzően demonstrálják a Jelölt áttekintő képességét egy több támadáspontú kísérleti rendszerben.

63-64.old. 4.4.2. ábra (d,e) Hogyan jelölték egymás mellett a POMC és GnRH tartalmú elemeket elektronmikroszkópos szinten? A GnRH axonok denz jelölése világosan látható, de a POMC tartalmú perikaryonokban nem egyértelmű, hogy a jelzés DAB csapadék vagy valamilyen aranykolloid vagy intenzifikálás-e. A metodikai fejezet erről nem ad biztos felvilágosítást, mert csak általánosságban írja le az immunarany festést, de nem az adott

kísérletre vonatkozóan. Az ide vonatkozó eredeti közleményt (Sótonyi et al. Reproductive Sci. 2010) sajnos nem tudtam teljes formájában letölteni.

67.old. A nucl. arcuatus POMC-t és parvalbumint tartalmazó sejtjeinek összefüggése igen érdekes kérdés. A Jelölt azt találta, hogy gyakorlatilag valamennyi parvalbumin sejt kifejez POMC-t is (4.4.4. ábra). Fontos volna tudni, hogy ezt milyen körülmények között észlelte: ösztrogénnel kezelt vagy nem kezelt állatokon. Azt ugyanis egyértelműen bizonyítja, hogy ösztrogén hatására erősen emelkedik a parvalbumin pozitív sejtek száma. A fenti összefüggés alapján ez egyben azt is jelentené, hogy a POMC sejtek számának is hasonlóan nőnie kell (erre azonban nem utal a Szerző). Ha viszont ez nem áll, akkor fel kell tételeznünk, hogy talán még sincs direkt összefüggés a parvalbumin és a POMC expressziója között.

72.old. A 4.5.2. ábra aláírásában tévesen 2. ábra címet találunk. Az ábra G részében a 'd' annotáció magyarázatát nem adja meg. A D rész 'a,b' ill. 'a,c' feliratozása sem világos.

A glia-lefedettség vizsgálata érdekes és eredeti gondolat, azonban a 73. old szövegében astrocyta-végtalpak számáról beszél, míg a bemutatott kép (4.5.2. F) folyamatos glia-nyúlványt (glia-hüvely) mutat. A diagramok dimenziójából ($\mu\text{m}/100\mu\text{m}$) kiderül, hogy itt nem végtalpak számosságáról, hanem a perikaryon sejtmembránjának kontakt gliával való százalékos lefedettségéről van szó.

Itt egy általános megjegyzés kívánczik: a szinapszis szó írható magyarosan, görög-latinosan (synapsis), de a 'synapsys' írásmód nem fogadható el.

75.old. 4.5.3. ábra. Az F képen a nyilak az ábraaláírás szerint a sejttestet (értelemszerűen a GFP-NPY tartalmú sejttestet) jelölik, azonban valójában egy glianyúlványra mutatnak. A 74. old.szövegében a 4.5.3. D ábrára vonatkozó utalás (POMC és NPY tartalmú sejtek és erek viszonya) valójában az ábra E részén látható.

Ha jól értelmezem, a SD és HFD állatok között az volna a különbség, hogy míg az előbbieknél a POMC ill. NPY perikaryon közvetlen appozícióba kerül kapillárisokkal, az utóbbiaknál mindig glianyúlvány közbejöttével létesül a kapcsolat. Központi idegrendszeri neuronok esetében általában az utóbbi a várható, bár meglehet, hogy a nucl. arcuatus sejtjei ebben (is) kivételesek. A glianyúlvány hiányát, tehát a valódi direkt appozíciót a perikaryon membrán és a kapilláris lamina basalis között azonban nagyobb feloldású képeken kellett volna bemutatni. Az eredeti közleményben (Horváth et al. Proc Nat Acad Sci USA 2010) az E ábrarész sokkal meggyőzőbb, viszont ott látható egy (igaz, vékony) glia-nyúlvány, amire a nyilak egyértelműen mutatnak is. Mindezek alapján én legfeljebb azt a következtetést vonnám le (megfelelő mérések alapján), hogy a glianyúlványok vastagabbak a HFD állatoknál mint SD állatoknál.

82.old. Az NTPDáz 3 nem szerepel a rövidítés-jegyzékben (bár a bevezetésben definiálta).

83.old. 4.6.1. ábra. Az immunreaktív sejttest jól megfigyelhető, a 'nyúlványok' (axonok?) azonban kevésbé. Különösen nehezen értelmezhetők azok az immunreaktív struktúrák, amelyek látszólag erek lumene fölé esnek.

A 4.6.2. ábra b1' képen a jelölések zavarók, mert a nyíl állítólag extracelluláris csapadékra mutat, ám a citoplazma fölött is van egy ugyanolyan fehér nyíl. A fehér nyílhegy (a leírás szerint ennek kellene a citoplazmatikus csapadékot jelölnie) viszont inkább a sejtmembránra mutat.

Az az állítás, hogy immunjelölt mitokondriumok aszimmetrikus szinapszisok 'közelében' helyezkednek el, túl általános, különösen annak fényében, hogy – a szöveg folytatása szerint – végül is számos helyen (dendritek, sejttestek, pre- és posztzinaptikus elemek) előfordultak.

86.old. A 4.6.4. ábra jelölése tévesen 4.4.4.

87.old. A 4.6.5. ábra angol feliratozása, és az oszlopdiagramokon feltüntetett csillagok (szignifikancia-szintek?) magyarázatát nem adja meg.

90.old. Az itt szereplő leírás repetitív, a 11. sorban „Például”...szóval kezdődő mondat néhány sorral feljebb már lényegében elhangzott.

Az NTPDáz-3-mal kapcsolatos kísérletek és a purinerg jelátvitel kérdései csak lazán kapcsolódnak a disszertáció fő vonalához. Ebben a fejezetben a megbeszélésben is meglehetősen sok a spekulatív elem.

Összességében elmondhatjuk, hogy a Disszertáns mintegy húsz évet átfogó, jelentős kísérletes munka eredményeit tárta elénk. A hipotalamikus szabályozás szerteágazó és bonyolult rendszerei között jó érzékkel választotta a táplálékfelvétel és energia homeosztázis szabályozásának kérdését, és dolgozatát lényegében e téma köré építette. Bemutatott anyaga, amely jórészt megjelent vagy elfogadott közleményekben is napvilágot látott, széleskörű megközelítésről, korszerű és több lábon álló metodikáról, eredeti felismerésekről és jó koncepcionális áttekintőkészségről tanúskodik. Elkerülhetlen, hogy a különféle módszerekkel és kísérleti rendszereken, különböző időben elért eredmények nem mindig és nem minden ponton kapcsolódnak hézagmentesen a központi koncepcióhoz. E dolgozatban is vannak ilyen elemek - talán leginkább a nucl. suprachiasmaticussal kapcsolatos, valamint a purinerg transzmisszióra (NTPDáz) vonatkozó kísérletek – azonban ezeket is hasznosan diszkutálja a anyag többségét kitevő eredmények és azok vezérgondolata fényében, rámutatva a kutatás potenciális hasznára mind az emberi mind az állatgyógyászatban ill. a takarmányozás-tudományban. A Bíráló tehát elismeri a Jelölt kiemelkedő munkásságát és fontos szerepét a hipotalamikus szabályozás hazai és nemzetközi kutatásában. Kiemelhető a kísérleti megközelítés célirányos és előremutató volta, jól megfogható mondanivalója. Feltétlenül kiemelhető a sokoldalú metodikai eszköztár, még ha ezek nem mindegyikét uralja is egyenlő szinten. Figyelemre méltónak tartom, hogy Jelölt mind a csapatmunkában, mind tudományos vezetőként kiválóan teljesített. Amit nem mindig sikerült optimálisan megoldania, az az, hogy a megjelent cikkekben olvasható metodikai részekből mennyit rekapituláljon a jelen munkában.

A Disszertáns új eredményeinek tehát a következőket tekintem:

1. BrdU inkorporációs kísérletek alapján a patkány nucl. suprachiasmaticus területén szexuális dimorphismust mutató sejtpopuláció fordul elő, nőstényekben megnövekedett számban. A 18. embrionális nap körül (amely az aromatizációs aktivitás csúcsával esik egybe) az újonnan keletkező sejtek száma tesztoszteronra érzékenyen változik. Koexpressziós kísérletekkel értékes adatokat szolgáltatott e sejtpopuláció kémiai természetéről valamint magon belüli megoszlásáról.
2. Majmokon kimutatta a hypocretin (orexin) tartalmú neuronokat a laterális hypothalamusban, elsőként bizonyította, hogy e sejtek éheztetésre aktivitásnövekedéssel reagálnak, továbbá valószínűsítette, hogy a nucl. arcuatus táplálkozás-szabályozó NPY neuronjai hypocretin bemenettel is rendelkeznek. Ezáltal fontos lépést tett a hypocretin táplálék-bevitellel kapcsolatos, rágcsálókban részben ismert, szerepének főemlősre való kiterjesztésében.
3. Patkányokon és egereken kimutatta a ghrelin tartalmú neuronok pontosabb elhelyezkedését a hypothalamusban. Megállapította a ghrelin tartalmú axonok innervációs területeit is, köztük a nucl. arcuatus NPY/AGRP és POMC sejtjeihez futó bemenetet. Elektrofiziológiai kísérletekben ghrelin hatására aktivációt mutatott ki a nucl. arcuatus NPY sejtjeiben, és ezzel ellentétes hatást írt le azonosított POMC idegsejteken. A nucl. paraventricularis ghrelin-szenzitív neuronjainak jelentős része CRH pozitívnak bizonyult. Kísérletei alapján modellt állított fel a központi idegrendszeri ghrelin tartalmú neuronok táplálkozás-szabályozó körökben elfoglalt szerepére vonatkozóan.

4. Patkány nucl. arcuatusban ösztrogén kezelés hatására jelentősen megnövekedett a parvalbumin tartalmú neuronok száma. Korrelatív vizsgálatokkal valószínűsítette, hogy a parvalbumin populáció egybeesik a táplálékfelvétel regulációjában kulcsszerepet játszó POMC tartalmú neuronokkal. Ez a megfigyelés, valamint a POMC neuronok kimutatható (nem szinaptikus) GnRH bemenete fontos adalék annak megértéséhez, hogyan befolyásolhatja az ösztrogén közvetve a táplálékbevitelt ill. a testzsír mennyiségét.

5. Szelektált patkánytörzsek (elhízásra hajlamos ill. diéta-rezisztens) összehasonlításával, standard (SD) ill. magas zsírtartalmú (HFD) táppal etetve jellegzetes szinaptikus változásokat mutatott ki a nucl. arcuatus POMC neuronjain. Az elhízásra hajlamos állatokban standard diétával etetve több szimmetrikus (gátló) mint aszimmetrikus (serkentő) szinapszis fordul elő, míg a magas zsírtartalmú táp hatására jelentősen csökkent a gátló szinapszisok száma, ugyanakkor a glia-borítottság mértéke növekedett. NPY-hoz ill. POMC-hoz kötött zöld-fluoreszcens proteint kifejező egereken igazolta, hogy míg a HFD táplálást követően a POMC neuronokon a szimmetrikus, gátló szinapszisok száma, addig az NPY sejteken az aszimmetrikus, serkentő bemenetek száma csökkent. E vizsgálatok fontos információt nyújthatnak az elhízásra hajlamosító agyi tényezők feltérképezésében.

6. A purinerg szignál-transzdukcióban szerepet játszó NTPDáz-3 a lateralis hypothalamus és a nucl. arcuatus neuronjaiban fordul elő, szubcellulárisan elsősorban riboszómákhoz kötötten valamint mitokondriumokban. Expressziója ösztrogén-függő, a lateralis hypothalamusban egy csúcsú, a nucl. arcuatusban két csúcsú karakterisztikával. A vizsgálatok felvetik a hypocretin rendszerrel, ezen keresztül az alvás-ébrenlét ciklus szabályozásával való összefüggés lehetőségét.

Fentiek alapján a disszertáció nyilvános vitára bocsátását és elfogadását javaslom.

Budapest, 2011. augusztus 16.

Dr. Csillag András
a biológiai tudomány doktora (MTA doktora)