OPPONENSI VÉLEMÉNY

Maglóczky Zsófia:

A HIPPOCAMPUS GÁTLÓ NEURONHÁLÓZATÁNAK ÁTALAKULÁSA TEMPORÁIS LEBENY EREDETŰ EPILEPSZIÁBAN

c. MTA doktori értekezéséről

A jelölt 175 oldalas (23 táblázatot és 63 ábrát tartalmazó) értekezést nyújtott be, melynek szerkezete formailag teljes mértékben megfelel a MTA Doktori Tanács pályázati feltételeinek.

A 13 oldalas ***bevezetés*** íve a halántéklebenyi epilepszia bemutatásától a humán hippocampus szerkezetén keresztül, a nem principális sejtek leírásán és funkcionális csoportosításán át a temporalis epilepsziákra jellemző hippocampalis sclerosis ismertetéséig terjed.

A tanulmány ***célkitűzés***ei között a jelölt a tudományos vizsgálat eredményességéhez szükséges módszertani fejlesztés szerepel, majd ennek alkalmazásával három további kutatási feladatot fogalmaz meg:

- a humán hippocampus gátlósejt-típusainak funkcionális csoportosítását (és a patkány gátlósejtjeivel történő összevetését),
- a dendritikus és periszomatikus gátlást kifejtő interneuronok (epilepsziás) érzékenységének és reorganizációjának elemzését, valamint
- a hippocampalis sejtpusztulás és reorganizáció együttes hatásának vizsgálatát a gátló neuronhálózatok kóros átrendeződése szempontjából.

Az ***anyag és módszerek*** leírása 14 oldal terjedelmű. Erre illetékességem híján részletesebben nem térek ki. (A „jó laboratóriumi gyakorlat” szempontjából a módszerrel történt vizsgálatok magas minőségű publikációja azonban színvonalára garanciát jelent.)

A jelölt ***eredményeit*** a célkitűzések témáiban és sorrendjében122 oldalon ismerteti.

Ad 1. A hasonló morfológiai elemzések és mérések bizonytalansági tényezőiből kiindulva meghatározta a fixálás optimális mennyiségi, méret- és időviszonyait. A humán mintán kidolgozott eljárást patkány hippocampuson kontrollálta. Meghatározta az optimális post mortem szövetfeldolgozási időt is.

Ad 2. A műtéti epilepsziás szövetekben a hippocampalis sejtpusztulás és sarjadzás komplex összképében négy altípust különített el.

Ad 3. Az interneuronok funkcionális kapcsolatait illetően vizsgálta 1./ a periszomatikus gátlást a gyrus dentatusban (a parvalbumin-immunreaktív, valamint a CCK-tartalmú sejtek tekintetében), 2./ a dendritikus gátlásban résztvevő interneuronokat (a calbindin-tartalmú, a SPR-t expresszáló, valamint a calretinin-tartalmú sejtek kapcsolatrendszerében),

Ad 4. Végül vizsgálta a hippocampalis CA1 interneuronok epilepsziás reorganizációját 1./ a periszomatikus és 2./ a dendritikus gátlásban résztvevő sejtek morfológiájában az előző pont szerinti sejttípusoknál.

Az értekezés ***megbeszélés*** részében a jelölt vizsgálatainak tükrében tárgyalja a különböző funkcionális jelentőségű gátló interneuronok érintettségét a humán epilepsziás hippocampusban. A periszomatikus, a dendritikus és interneuron szelektív gátlósejtek változásainak részletesebb leírását követően összegzi a szinaptikus reorganizáció hálózati következményeit, ezen túlmenően külön a növekedési, sarjadzási és pusztulásos jelenségeket.

A ***köszönetnyilvánítás*** az opponens számára is érzékelhetővé teszi az értekezésben szereplő vizsgálatok hatalmas volumenét mind a személyi és földrajzi térben és időben.

Az ***összefoglalás*** „saját munka részét” az új immerziós fixálásról 8 sor, az összes többi vizsgálatról 22 sor képezi. Ez az eredmények tükrében kifejezetten rövidnek és visszafogottnak tűnik fel.

Az ***idézett irodalom*** 181 tételes. A saját közleményeket három listából gyűjthetjük össze. Az értekezésben szereplő saját kutatások 14 (ebből 6 első szerzős munka), a témával kapcsolatos nem felhasznált saját irodalom 8, míg az értekezésben szereplő általános ismeretekkel kapcsolatos saját közlések száma 9 tételből áll.

A bírálót már elnevezésével felszólítják arra, hogy kritikai megjegyzéseket fogalmazzon meg. Továbbá az is hagyományos feladat, hogy kérdéseket is feltegyen a jelöltnek.

Az értekezés jó szerkezetű és nyelvezetű. Éppen ezért szinte bosszantó, hogy hemzseg az elütésektől (egy mondatban kettő is van 13.o.9.sor), apró tördelési hibáktól (alcímben is 167.o.V./5.). A 35. ábra pedig egyszerűen hiányzik! Egy bekötött munkában az olvasó nem szívesen találkozik ennyi hibával.

Tartalmi megjegyzéseimre, kérdéseimre térek át. Ezek nagy része valószínűleg a morfológiai és alapkutatásokban való járatlanságomból fakadhat. Kérem, nézzék ezt el nekem. Bizonyára sok kolléga el is csodálkozott azon, hogy egy ízig-vérig klinikus „epileptológus" (egyébként neurofiziológus, civilben elmegyógyász) mit keres a moha- és kosársejtek világában. Bírálatom végén megpróbálok erre némi magyarázatot adni.

Klinikusként tehát az általános bevezetéssel, annak is a hetedik szavával kezdem. Az epilepszia nem „elváltozás", annál sokkal bonyolultabb. Lehet tünet, betegség, kórfolyamat stb. Az (egyébként nem pontosan idézett) irodalmi jelzésekkel együtt sem érthetek egyet azzal a sommás kijelentéssel, hogy „roham alatt …..bizonyos sejtcsoportok kiterjedten pusztulnak". /10.o.7.sor/ Ez a gondolat tovább él a post mortem agyakban fellelt sérülések leírásánál, holott ekkor aligha lehet tisztázni, hogy az adott laesio primer (azaz az epilepsziát is létrehozó ártalom okozta, vagy valóban következményes-e (10.o.15.sor). (Őszintén remélem, kevés beteg talál rá ezekre a bekezdésekre a neten.) A klasszikus genetikusan meghatározott – ill. szerkezeti károsodáson alapuló betegségfelosztás valóban revízió alatt áll, de még messze nem „robbantották fel". /10.o. 18.sor/

Sajnálom, hogy a genetikai és strukturális feltételeken túlmenően az epilepsziás kórfolyamat alapjelenségének (mármint az epilepsziás rohamnak) a harmadik (kötelező!) feltételéről, azaz a roham indulási pillanatának különleges biológiai jelenségeiről a szerző nem tesz említést. Már csak azért is kár, mert érzésem szerint lehetséges, hogy roham indulásakor éppen a SPR expresszáló sejtek hálózata képezhet esetleg valamilyen fontos „hidat" a kül- és belvilági hálózati harmónia felborulásában.

A bevezetés második részében a jelölt kiemeli az emberi és a rágcsáló hippocampusának – az értekezés szempontjából fontos – különbségeit. *Kíváncsi vagyok, hogy az említett különbségek mennyiben befolyásolhatják az epilepsziás elváltozásokat?*

Az anyag és módszer fejezetben hiányzik az alkalmazott statisztikai módszerek leírása.

Az eredmények ismertetésekor az új immerziós fixálási módszer összefoglalásánál morfológiai módszerek esetében biztosan megszokott, de az inkább elektrofiziológiai standardokhoz szokott bíráló számára pontatlannak tűnik fel a definíció több eleme: „1-1,5cm x 1-1,5 cm blokknagyság" – azaz több, mint 125%-os területkülönbség, a kivágott blokkok „lehetőség szerint azonnali" fixáló oldatba helyezése, az oldat frissre cserélése „20-30 percenként", „legalább 6, de nem több, mint 8 órán keresztül", utófixálás egy „éjszakán át". *Kérdésem: ezek a határértékek hogyan alakultak ki, milyen mérések mutatják ezek létjogosultságát? Milyen különbségek voltak a fenti szélső értékekkel fixált minták között?Meddig tart egy éjszaka? Szükséges-e például az is, hogy sötét legyen?*

A hippocampalis sorvadásos-sarjadzásos változások csoportosítása számomra az egyik legizgalmasabb és a legtöbb gondolatot indító eredmény volt. Bár az összefoglaló ábra nagyon szemléletes, mégis hiányoltam a deklarált mennyiségi változások numerikus meghatározásának teljes hiányát (egyetlen kivétellel). *A szerző miért nem vette át az idézett 5*

csoportos felosztást? (Lamorelle) Hogyan magyarázza azt, hogy ők nem találtak moharost sarjadzást?

A 4. táblázat (43-44. o.) az előző részletezése, felesleges (legfeljebb függelékben szerepelhetne). Ez a terjedelmes lista akkor kapna értelmet, ha a jelölt itt mutatta volna be, hogy melyik vizsgálatához mely mintákat használta fel. Itt vetem fel azt a (feltehetően laikus) kérdést, hogy *milyen alapon választották ki a későbbi részvizsgálatokhoz az egyes epilepsziás és kontroll mintákat? Mitől függött a felhasznált minták száma? A kiválasztási kritériumok alapján mennyire tekinthetőek reprezentatívnak a kapott eredmények?Például mely szempontok szerint választották ki a 2 kontroll, 1 enyhe, 3 foltos és 5 sclerotikus szövetet a PV-poz interneuronok vizsgálatához? A mintaszámok még a csoportarányokat sem tükrözik. (51.o.)*

Hogyan történik a szemcsesejtek „szétvándorlása" és mikor következik ez be? (63.o.)

Mi lehet a szerepük az egyébként épnek látszó óriás szómájú hiláris interneuronoknak a reorganizációban?(66.o.)

A 49.ábra értékelésével nem értek egyet: a szimm/aszimm szinaptikus borítottsági arány NEM emelkedik meg a scleroticus mintákban. (139.o.)

Izgalmasnak és feltétlenül továbbgondolkodásra, –vizsgálásra érdemesnek tartom annak a hipotézisnek az ellenőrzését, miszerint a GABA serkentő hatással is ugyanazzal a végeredménnyel mediálhat, mint gátló szereppel. Ugyanis éppen a temporális lebeny eredetű epilepsziában jelennek meg gyakran jellegzetes inaktivitásos „mínusz" tünetes rohamok (pl. az ún. „motionless stare"). (Tehát – a szerzővel ellentétben - én el tudom képzelni, hogy klinikailag „nem ugyanaz az eredmény".)

A növekedési jelenségek értékelésénél a gap-juncion szerepével kapcsolatosan tett állítását idézettel nem támasztja meg. (Ezzel az opponenst izgalmas, ám jelentős többletmunkára sarkallja a vonatkozó 2006-os az Epilepsia-ban megjelent Gajda Z, …Szente M közlemény felkutatása érdekében).

A megbeszélés utolsó fejezetben, a sclerosis - pusztulás – sarjadzás többdimenziós tengelyén jelennek meg leginkább az alapkutatási/funkcionális morfológiai munka legfőbb közvetlen klinikai vonatkozásai. A korlátok és lehetőségek egyaránt. A jelen helyzetemben – klinikai tapasztalataim alapján - leginkább további kutatási lehetőségeket szeretnék felvillantani. A szerző a ma már klinikailag erősen vitatható egységes epilepszia koncepcióhoz ragaszkodik. Ebben pedig régóta hullámzó hevességű szakmai vita folyik. Vannak, akik - más mintákra – az „epilepszia spektrum" fogalmát javasolják. Pszichiáterként – több, mint négy évtizedes epilepszia praxisom alapján – kis túlzással azonban azt is mondhatnám, hogy ahány beteg, annyi fajta epilepszia létezik. Ezért különlegesen fontos, hogy a kórfolyamat alapvető, az összes epilepsziás tünetre képes fajra és egyedre jellemző funkcionális elváltozásait megleljük. Nem vagyok benne biztos, hogy ebből a szempontból például egyetlen, a betegségfennállás konvencionálisan használt mutatója optimális. Vajon súlyosabb-e a biológiai állapota a 10 éven át 2 havonta 1 rosszullétet produkáló betegnek a fél éve naponta rohamozó betegénél? Sőt, a status epilepticus magas spontán mortalitását figyelembe véve a betegségtartam adat még „súlytalanabbnak" imponál. Véleményem szerint a rohamfrekvencia mellett az értekezésben szintén mellőzött további fontos tényező a rohamforma. Miután a video-EEG-gel történő szemiológiai elemzés alapján ma már a roham indulása és terjedési variációi viszonylag pontosan tisztázhatóak, ezek figyelembe vétele hálózati megközelítésekben elkerülhetetlen. Végül utalok arra, hogy bármilyen súlyos epilepsziás kórállapotot veszünk, maga a klinikailag és/vagy elektroencephalographiásan észlelhető epilepsziás működészavar az időnek csupán töredékében van jelen. Tehát a roham kialakulásához (a genetikai és stukturális-morfológiai alapokon túl) mindenképpen kell még valami!!! Itt üzenek az alapkutatóknak, hogy célozzák meg ezt a biológiai dimenziót is!

(Mindkét saját értekezésem szorosan érinti ezt a témát, de akkoriban kutatása rendkívül korlátozott volt.)
Maglóczky Zsófia értekezésében bíztató eredményeket fedeztem fel e vonatkozásban is. A patológiás csoportosítás elvileg megfelelhet a további elemzéseknek, amennyiben az operált betegek fenti klinikai mutatóit is figyelembe veszik, illetve ezzel kapcsolatos, klinikailag kiszélesített adatbázist hoznak létre. Így új értelmezést kaphatnának az enyhe, foltos és scleroticus típusok. Bizonyos eredmények szerintem máris ígéretesek.

Az interneuronok sajátos funkcionális átrendeződése, új hálózati szerepeinek feltérképezése az alapfeltétele annak, hogy az epilepszia kórfolyamatának tényleges alakulásához közelebb jussunk. Ezekre a morfológiai módosulásokra alapozva válhat csak lehetségessé az első rohammanifesztáció, a rohamaktiváció és -forma (azaz az epilepsziás izgalom kiterjedése, illetve demarkálódása) pontosabb megismerése. Továbbá a betegség progressziójának vagy megszűnésének, a terápiás válaszkészségnek, illetve a rohamokon túli peri- és interiktális tünetek kockázatának meghatározása.

Összefoglalva

A pályamű nagyszámú epilepsziás beteg műtéti anyagán az „epilepsziás hippocampus" nem-principális neuronjainak funkcionális morfológiai eltéréseit térképezi fel. Vizsgálja a pusztulás-reorganizáió különféle együttállásait, és ezeket az epilepszia dezinhibiciós elmélete mentén értelmezi. Kiemelem, hogy a kutatás-sorozat kiváló példáját adja az idegtudományi alap- és klinikai kutatói együttműködésnek, hiszen a vizsgálatok hátterét az egyik legnagyobb hazai epilepszia centrum adta. Meggyőződésem, hogy az ilyen együttműködések mindkét oldalon eredményesebb munkára ösztönözhetik a szakembereket. Ezért is vállaltam el a bírálatot, hátha megjegyzéseimmel ezt az együttműködést a jövőre vonatkozóan is megerősíthetem.

Felvetéseim, fenntartásaim a jelölt megállapításainak lényegét nem érintik. A feltett kérdésekre adott válaszok is elsősorban nem mint bírálót, hanem mint epilepsziával foglalkozó szakembert érdekelnek.

A munka eredetiségét is kötelességem volt vizsgálni. Az értekezés anyaga a saját eredmények mellett döntően három doktori munkára támaszkodik (Wittner Lucia, Tóth Kinga és Karlócai Mária Zita). A jelölt mindhárom kutatónak témavezetője volt. Ezeket is áttekintve, szövegátemelést nem találtam, a jelölt értekezésében a megfelelő hivatkozások megtalálhatóak. Fontos originális adalék, hogy a jelölt számos részeredmény szintézisét 2010-ben két dolgozatban első szerzőként is közölte.

Fentiek alapján véleményem szerint értekezésében a jelölt értékes és eredeti kutatás sorozatot ismertetett. Új, reprodukálható módszert dolgozott ki a humán epilepsziás hippocampus funkcionális morfológiai elemzésére. Klinikusként a munka legfontosabb originális eredményének a hippocampalis változások patológiai csoportosítását, valamint az epilepsziás reorganizációt mutató gátlósejtek rost-sarjadzásának analízisét tekintem. Az értekezés formai hiányosságai nem akadályozzák az anyag megértését, a bevezetésre vonatkozó érdemi bíráló megállapítások pedig a klinikai szemlélet érthető gyengeségéből fakadhatnak. Az értekezés anyagát összességében elegendőnek tartom az MTA doktora cím odaítéléséhez. Az értekezés nyilvános vitára bocsátását és a jelöltnek az MTA doktori címének odaítélését javasolom.

Dr. Rajna Péter

Budapest, 2013. február 18.