

Válasz Dr. Bereczki Dániel bírálói véleményére

Tisztelt Professzor Úr,

Nagyon köszönöm a disszertáció alapvetően pozitív megítélését és a gondos bírálatot. A következőkben válaszolok a feltett kérdésekre.

1.) A bevezetés első bekezdésében nem világos, hogyan értendő a megfogalmazás: „az epilepszia emberre jellemző betegségnek tartható”. Epilepsziás jelenségek előfordulnak különböző állatokban is, pl. a gerbilek esetében nagyon gyakran spontán konvulziók figyelhetők meg.

A gerbilek (mongol futóegér) epilepsziájának nagy valószínűséggel genetikai oka van. Epilepsziamentes tenyészetekből származó állatok epilepszia előfordulási valószínűsége igen alacsony. Hasonló lehetséges genetikai háttér figyelhető meg a fotoszenzitív páviánoknál is, de jó néhány kutyaajtánál is bizonyított a genetikai hajlam. Az állatorvosi gyakorlat azt mutatja, hogy a kutyák epilepszia előfordulási valószínűsége hasonló, vagy akár magasabb is, mint az emberé, de például a macskáknál, vagy nyulaknál ez a szám igen alacsony. Az epilepsziás manifesztációk állatgyógyászati megítélése és rendszerezése még meglehetősen gyerekcipőben jár, így sok esetben elsikkadhat az epilepsziára ténylegesen jellemző tünetek felismerése, ezért egyetértek a bírálóval abban, hogy nem feltétlenül faj specifikus, hanem vizsgálat specifikus faktorok is meghúzódnak a háttérben (Pákozdy és mtsai., J Vet Intern Med, 2014). A dolgozat másik bírálója Janszky József világít rá arra a lehetséges evolúciós szelekciós mechanizmusra az állatvilágban, melyben az epilepsziával élő, nem tenyésztett egyedek kiszelektálódnak, míg a tenyésztett állatok esetében - mint például a kutya - nem feltétlenül jelent szelekciós hátrányt az epilepszia megjelenése. Az ember esetében a hatékony egészségügyi ellátás következtében szintén nem jelent szelekciós hátrányt az epilepszia betegség, ez lehet például az egyik fontos oka az emberi epilepszia sűrűbb előfordulásának.

2.) A 12. oldalon szerepel, hogy „az elektród valamint a szúrt csatorna hosszából, és a rétegek méreteiből számították ki az egyes elektród pontok pontos helyzetét az agykéregben”. Kérdésem: mivel a szomszédos kontaktusok a rétegelektroda esetében kb. 150 mikronra helyezkednek el egymástól, történt-e a szövettani fixálás során szövetszugorodás, és ha igen, akkor ezt hogyan vették figyelembe az egyes anatómiai struktúrák és a regisztráló pontok megfeleltetésénél?

Hagyományos immunhisztokémiára és elektronmikroszkópiára való fixálást is használtunk, ezért több esetben megmértük a fixálás előtt a szövet méreteit a szúrt csatorna közelében. Emellett megmértük a szúrt csatorna legmélyebb pontját is, és ebből következtettünk az elektróda pontok szöveten belüli elhelyezkedésére. Az elektronmikroszkópiára való fixálás esetén a szöveti zsugorodás 15-20%- körüli volt, ami megfelel az irodalmi adatoknak (Turner és mtsai., J Comp Neurol, 1995, Wittner és mtsai., Eur J Neurosci, 2006). Az immunhisztokémiai fixálás esetében zsugorodást nem észleltünk. Állatkísérletekben a

humánhoz mindenben hasonló módszereket használva az immunhisztokémiai fixálás esetében is megvizsgáltuk a szövet zsugorodását horizontális és vertikális irányban, a natív agyban pontosan megejtett kalibráló léziók segítségével. Ebben az esetben is azt találtuk, hogy az immunhisztokémiára fixált szeletek zsugorodása elhanyagolható.

3.) A 13. oldalon nem túl szerencsés a fejezet címe: „A kísérleti személyek összeállítása”.

A megjegyzéssel egyetértek.

4.) A 17. oldalon az szerepel, hogy az ingerlés tartama eltérő módon változtatta meg a haemodinamikai és az elektrofiziológiai választ. Kérdésem: mi állhat ennek a szétkapcsolódásnak a hátterében? Esetleg a hypoxia, vagy más anyagcsere változások?

A haemodinamikai és az elektromos válasz kapcsolatát vizsgáltuk előző munkáinkban mind kérgi, mind thalamikus szinten (Devor és mtsai., Neuron, 2003, Devor és mtsai., PNAS, 2005). Azt találtuk, hogy ez a kapcsolat a vizsgált struktúrákban nemlineáris. Később kimutattuk, hogy egy adott helyen az ingerléshez kapcsolódó kezdeti vazodilatáció után más területeken kiterjedt késői vazokonstrikció váltható ki, ami együtt jár az oxi- és deoxyhaemoglobin koncentráció eltérő változásával (Devor és mtsai., J Neurosci, 2007). A szétkapcsolás tehát egyrészt magyarázható az inherens nemlineáris kapcsolattal, másrészt azzal, hogy az ingerlés hatására bekövetkező haemodinamikai válaszok eloszlása térfüggő. Ha ennél mélyebb okokat keresünk, akkor feltétlenül figyelembe kell venni azt a tényt, hogy az elektromos és a haemodinamikai válaszok egy nagyságrenddel eltérő időskálán játszódnak le. Míg a vaszkuláris válasz éppen elkezdődik, a teljes elektromos válasz már lezajlik, ide értve a magasabb rendű feldolgozásokat és akár a motoros választ is. A haemodinamikai választ tehát egy nagyon komplex agyi elektromos és metabolikus aktivitás előzi meg, mely energetikai szempontból meglehetősen heterogén, hiszen függ például a válaszban aktivált serkentő és gátló működésektől és a membrán repolarizációs folyamataitól. A haemodinamikai válasz tehát integrálja mind térben, mind időben a szinte az egész agyban lejátszódó serkentő, gátló és reparatív folyamatokhoz kapcsolódó metabolikus változásokat. Nagyon fontos tehát az inger milyensége. Különböző ingerek különböző területeket aktiválnak és az aktivált területeken más és más a válaszhoz kapcsolódó serkentő, gátló és repolarizációs aktivitás. Az előzőek alapján tehát a különböző ingerekhez kapcsolódó haemodinamikai válasz egy adott helyen meglehetősen eltérő lehet, amiben elsősorban az inger milyenségének lehet meghatározó szerepe. Számos példa található a szakirodalomban, mely a rövid és a hosszú ingerek eltérő feldolgozását mutatja be. A rövid, egyes pulzusú elektromos ingerlés például ritkán vált ki rohamot, de a kéreg hosszan tartó magas frekvenciás ingerlése rohamhoz vezethet. Ebben az esetben az eltérő elektromos és haemodinamikai válasz különbségében nagy súllyal szerepelhet az a tény, hogy a haemodinamika jóval nagyobb térrésről ad információt, mint a lokálisan mért elektromos aktivitás. A hosszú ingerek térben kiterjedten változtatják meg a serkenthetőséget, ami a haemodinamikai válaszban valószínűleg látszani is fog, mivel az nagyobb térrésről ad információt, mint a lokális elektromos válaszok, amiben ez az információ elvész.

5.) A 18. oldalon az elülső cingularis kéreg szerepét vizsgálva a különböző kognitív feladatok során felvetődik, hogy ennek az agyterületnek fontos szerepet tulajdonítanak a fájdalom megélésében. Kérdésem: az elülső cingularis kéreg kognitív feladatra adott válaszát befolyásolhatja-e az egyéb okból egyidejűleg fennálló bármilyen fájdalom?

A kognitív feladatokat az etikai engedélynek megfelelően csak olyan pácienseken végeztük, akik komfortosan érezték magukat és nem számoltak be fájdalom, vagy egyéb diszkomfort érzésről. Abban az esetben, ha a páciens a legkisebb jelét mutatta annak, hogy például elfáradt, vagy fájdalma van, azonnal megszakítottuk a kísérletet. Kísérleteinkben tehát kifejezetten kerültük a páciensek minden nemű terhelését, tehát sajnos a nem volt módunk tesztelni direkt módon a fájdalom hatását a cinguláris kéreg kognitív folyamataira.

6.) A pályázó felveti a természetes alvás és az egyes állatkísérletes alvás modellek közötti különbséget (eltérő morfológia, altatószerek hatása, stb.). Ezek alapján mi a pályázó véleménye a szakirodalomban elfogadott azon véleményről, hogy az alvás alapvető idegi mechanizmusai hasonlóak a két esetben?

Napjainkban egyre több közlemény jelenik meg, melyben egyre szélesebb körben vitatják, hogy a narkózis és a természetes alvás egymásnak jó modellje lenne. Véleményem szerint a lassú oszcillációhoz kapcsolható alapjelenségek, mint például az aktív és inaktív fázisok megléte, a tüzelési ráta változása, a magas frekvenciás oszcillációk eloszlása, az alapvető membrán jelenségek hasonlóak narkózisban és természetes alvásban. Ami különbözhet a különféle ágensek által kiváltott narkózisban és a természetes alvásban, az lényegében a hálózati, például a thalamo-kortikális körökben kialakuló különböző neurális mintázata a lassú oszcillációnak. Ezek egyik oka lehet például a különféle ioncsatornákon a narkotikumok hatására fellépő enyhébb változások, mely egy sejt szinten kevésbé meghatározóak, viszont a hálózatban már jelentős moduláló tényezőként jelenhetnek meg.

7.) Az alvásvizsgálatok epilepsziás betegeken történtek. A vizsgálatok során bizonyos régiókban és bizonyos időperiódusokban a kóros jelenségek kizárására ugyan nem történtek mérések, mégis felvetődik a kérdés, hogy tekinthető-e általában egy epilepsziás agyon végzett vizsgálati eredmény úgy, hogy az teljesen egészséges viszonyokat tükröz?

Természetesen nem lehetünk abban teljesen biztosak, hogy az epilepsziás agy az egészséges viszonyokat hűen tükrözi, akár az általunk tett óvintézkedések mellett sem. Mint ahogyan azt közöltük is (Csécsa és mtsai., Brain, 2010) találtunk bizonyos jeleket, melyek nem voltak összhangban az egészségesben mérhető folyamatokkal (tüzelés az inaktív fázisban). Mindamellet, az epilepsziásokban mért eredményeket összehasonlítva az egészséges emberekről származó adatokkal, a lassú oszcilláció alapvető tulajdonságai nem mutattak jelentős eltéréseket. Ezért is gondoljuk azt, hogy azon a szinten, ahol vizsgáldtunk, az egészségeshez nagyban hasonló folyamatok zajlanak az epilepsziás agyban is.

8.) A lassú oszcilláció kérgi forrásait vizsgálva jelentős különbségeket talált a jelölt a humán mérések során általuk talált eredmények és az állatkísérletes korábbi közlések között (más

kortikális rétegek, más tüzelési frekvenciák, szinkronizáltság). Mi okozhatja ezt a különbséget a humán és az állatkísérletes leletek között (állatkísérletes vizsgálatok nemcsak rágcslókon, hanem gyrencephal fajan – macskán - is történtek).

Az irodalmi adatok meglehetősen vegyes képet mutatnak, ami a lassú oszcilláció kérgi eredetét illeti. Már a lassú oszcilláció kérgi mintázatát leíró cikkünkben is diszkutáltuk a lehetséges különbségeket és számos lehetséges okot mutattunk be. Hogy pontosabb összehasonlításokat tehessünk, az in vivo munkák mellett in vitro is elkezdtek vizsgálni a lassú oszcilláció kérgi eredetét és szintén szupragranuláris generátor túlsúlyt észleltünk. Sajnos definitív választ nem tudok adni a kérdésre, de a jelenség oka valószínűleg a humán piramis sejtek morfológiájának - dendritikus arborizáció, tüskék száma és sűrűsége – (Elston és mtsai., J Neuosci, 2001) és membrán jelenségeinek a különbözőségében lehet. Ezt vizsgáljuk jelenleg is.

9.) A 28. oldalon szerepel az „utazó hullám” megfogalmazás. Kérdésem: Mi ennek a jelenségnek a magyarázata, és valamilyen szempontból hasonlítható-e a sokkal lassúbb terjedésű „spreading depression” jelenséghez?

A skalp EEG kísérletek azt mutatják, hogy a lassú hullámok negatív csúcsa a térben folyamatosan terjed (Tononi és mtsai., J Neurosci, 2004). Állatkísérletekben is hasonló terjedést tudtak kimutatni (Mohajerani és mtsai., J Neurosci, 2010). Szerintem legalább két elmélet, vagy ezek kombinációja magyarázhatja a hullámok folyamatosan tűnő kérgi mozgását. Az egyik elmélet szerint a kéreg rekurrens szinaptikus kapcsolatai mentén terjedhetnek ezek a hullámok, a másik elmélet szerint a kialakuló kortiko-thalamo-kortikális szinaptikus hurkok hozhatják létre a kérgi terjedés illúzióját. Természetesen ezek kombinációja is elképzelhető. A cortical spreading depression (SD) kialakulásának és terjedésének mechanizmusa a legújabb eredmények tükrében eléggé valószínű, hogy alapvetően vaszkuláris eredetű, a neurális változások ezek következményei, mivel időben később jelennek meg, (Brennan és mtsai., J Neurophysiol, 2007) így meglehetősen eltérnek a szinaptikusan hajtott lassú aktivitás terjedésétől. Ezért nem gondolom, hogy a terjedés tényén kívül más mechanisztikus hasonlóság lenne a két jelenség között.

10.) A migrén és az epilepszia kapcsolata a klinikumban régóta vitatott kérdés. Lehet-e kapcsolat az utazó hullámként viselkedő lassú oszcilláció és a kortikális tovaterjedő depolarizációs hullám (cortical spreading depression) patomechanizmusa között, és ha van, ez magyarázhatja-e az epilepszia és a migrén között gyakran feltételezett klinikai kapcsolatot.

Mint az előző kérdésre adott válaszomban kifejtettem, véleményem szerint nincsen mechanizmusbeli kapcsolat a lassú oszcilláció és a SD között. Hozzátenném még, hogy a SD depolarizációs blokádba viszi a sejteket, amihez hasonló jelenséget a lassú oszcilláció alatt nem lehet megfigyelni, valamint az SD egy nagyságrenddel magasabb időskálán játszódik le.

11.) A 32. oldalon szerepel, hogy az altatás ellenére kivétel nélkül minden betegben kimutatható volt tüskéző vagy oszcillátoros aktivitás a hippocampus CA1 régiójában és a gyrus dentatusban. Kérdésem: mi lehet annak a magyarázata, hogy az anesztetikum nem szüntette meg a tüske tevékenységet? Hasonlóképpen a subiculum is képes volt in vivo az altatószer ellenére magas frekvenciás, epilepsziára jellemző oszcilláció generálására. Kérdésem: az altatószerek miért nem kapcsolták ki ezt az aktivitást?

Sajnos technikai okok miatt nem végezhattünk szisztematikus kísérleteket annak kiderítésére, hogy az adott betegekben hogyan változott az ébrenlét-altatás ciklus alatt a mély struktúrákban (CA régió, szubikulum) az epileptiform tevékenység intenzitása. Irodalmi adatok szerint az általános altatás valóban csökkenti az epileptiform aktivitás gyakoriságát, de például magnetoencefalográfiás (MEG) vizsgálatokban kimutatták, hogy alacsonyabb dózisok esetén - melyek még eszméletlenséggel és immobilitással jártak - az interiktális kisülések hasonló arányban jelentek meg narkózisban, mint az altatószert nem kapott páciensek esetében (Balakrishnan és mtsai., 2007, Anesth Analg). Nagyobb adagban használt propofol etiológia függő módon csökkentette, de nem szüntette meg az interiktális tevékenységet, (Fujimoto és mtsai., 2009, Brain Dev). Eredeti cikkünkben (Fabó és mtsai., 2008, Brain) a propofol mellett isoflurane altatást használtunk a betegek egy részénél, ami irodalmi adatok szerint dóziszfüggő módon még növelheti is az interiktális tevékenység intenzitását (Watts és mtsai., 1999, Anesth Analg). Nagyon valószínű tehát, hogy az alkalmazott altatószer típusa, az altatás mélysége, valamint az epilepszia etiológiája együttesen határozza meg az altatás alatti epileptiform tevékenység intenzitását.

12.) A pályázónak sikerült először kimutatni emberi subiculumban legalább két különböző típusú interiktális tüskét. Klinikai jellegű kérdés: lehet-e ennek prognosztikai jelentősége? Tehát az interiktális tüske jellege alkalmas lehet-e annak előrejelzésére, hogy egyes betegeknél lesznek-e majd klinikai rohamok, illetve hogy az adott esetben milyen típusú gyógyszert érdemes alkalmazni az epilepszia kezelésére?

Véleményem szerint fontos diagnosztikai jelentősége lehet a különféle kisülési mintázatoknak, de ennek a direkt prognosztikai jelentőségében már kevésbé vagyok biztos. Ami a diagnózist illeti, azok a mediális tüskék, melyek nem vezetődnek laterális területre, sokkal benignusabbak lehetnek, mivel lokalizáltak maradnak. Azok a tüskék, melyek széles laterális területekre vezetődnek, jól jellemezhetik azt a kiterjedt epilepsziás hálózatot, melyben a tüske fókuszról kiindulva akár a rohamtevékenység is szabadon terjedhet széles agyi területekre. Véleményem szerint jelenleg nem rendelkezünk megfelelő információval annak kiderítésére, hogy az egyes tüske típusok bírnak-e prognosztikai jelentőséggel a rohamtevékenységgel kapcsolatban. Az viszont tisztán látszik eddigi kutatásainkból, hogy a különféle tüske típusokhoz különféle hálózatok tartoznak, így az egyes epilepsziás hálózatok aktivitásának jelzésére igen alkalmas lehet az interiktális tüskék morfológiájának tanulmányozása. Abban az esetben, ha ezek közül a hálózatok közül vannak olyanok, melyek aktivitása rohamhoz vezet, akkor az adott interiktális morfológia például roham előrejelző tulajdonsággal bírhat. A kérdés második fele egy igen érdekes kutatási irányt vázol fel, a gyógyszeres kezelés és az interiktális tüskék morfológiai változásának együttes vizsgálatát. Mi magunk is gondolkodtunk hasonló típusú kísérletek tervezéséről, de ez mindeddig erőforrások hiányában nem valósulhatott meg.

13.) A 35. oldalon szereplő terjedő tüskézéssel kapcsolatosan is felvetődik a kérdés, hogy a jelenségnek valamilyen módon szerepe lehet-e az epilepszián kívül a migrén aurában is?

Sajnos nincsen elég kísérletes információ arra, hogy ezt a kérdést definitíven megválaszoljam. A vizsgált betegek közül egyetlen páciens sem számolt be sem migrénről, sem átmeneti vibráló, káprázás jellegű látási zavarokról – migrén auráról - pedig jelentős interiktális aktivitás volt kimutatható a vizsgált területeken. Bár anekdotális információ és negatív eredmény, úgy gondolom érdemes megosztanom a bírálóval, hogy az a kettő beteg, akinek a vizuális kérgét vizsgáltuk implantált rétegelektroddal, valamint elektroktikográfiával, az intenzív tüskézés ellenére sem számolt be érdemleges vizuális tünetekről.

14.) A 36-37. oldalon megállapítja, hogy a tüskézés alatt a sejtek igen heterogén módon viselkednek. Lehet-e a heterogén jelenségek mellett valamilyen jellegzetességek alapján csoportokat képezni?

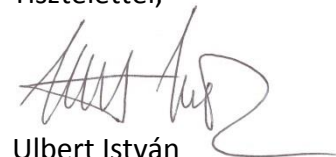
A tüskézés heterogenitását leíró közleményünkben megpróbáltuk csoportokba sorolni az egyes tüzelési mintázatokat (Keller és mtsai., 2010, Brain). Azt találtuk az öt legvalószínűbb esetet ismertetve, hogy a modulált sejtek (48 %) közül a legtöbb (36 %) érdekes módon csökkenti a tüzelési frekvenciáját a tüske utáni hullám alatt, a sejtek 15 %-a növeli a tüzelési rátáját a tüske alatt, 9 %-a növeli a tüzelési rátáját a tüske alatt és csökkenti a hullám alatt, 8 %-a csak a hullám alatt növeli a tüzelési rátát, 5 %-a viszont mind a tüske, mind a hullám alatt csökkent rátát mutat. Ezeken kívül még számos variáció lehetséges, összesen 16 csoportot tudunk megkülönböztetni. Ez az eredmény azt mutatja, hogy az interiktális epilepsziás aktivitás kialakításához nem feltétlenül kell sok sejt együttes, szinkronizált aktivitása.

15.) Gépelési hibák:

- a. 10. oldal: „így a zajos lesz az elvezetés” helyesen: „így zajos lesz az elvezetés”
- b. 12. oldal „a vizsgált szövetet” helyesen: „a vizsgált szövet”
- c. 13. oldal: „A szövet 4-5 mm széles” helyesen: „A szövetet 4-5 mm széles”
- d. 15. oldal: „a kísérleti személyek” helyesen: „a kísérleti személynek”
- e. 17. oldal: „hamodinamoikai” helyesen: „hemodinamikai”

Köszönöm a korrekciókat.

Tisztelettel,



Ulbert István

Budapest, 2014. április 20.