DEBRECENI EGYETEM

ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR
ANATÓMIAI, SZÖVET- ÉS FEJLŐDÉSTANI INTÉZET
KISVÁRDAY ZOLTÁN, PhD
4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98., P.O.Box:400.
Tel: +52/255-724, Fax: 52/255-115

Opponensi vélemény

Dr. Négyessy László: Agykérgi interakciók struktúrális alapjai: hálózatszerkezettől a szinapszisokig

című, az MTA doktora címért benyújtott értekezéséről

Az MTA doktori fokozat elnyerésére benyújtott értekezés a jelölt PhD fokozat megszerzését követő nagyjából húsz év eredményeit tartalmazza.

Formai észrevételekkel kezdem a bírálatom és ezután térek rá a tartalmi és szakmai véleményemre:

Dr Négyessy László a doktori értekezését nem a mostanában szokványos ún. kumulatív értekezés formájában nyújtotta be, hanem kifejtő módon állította össze. Ez a fajta prezentáció jóval hosszabb ugyan, 255 oldal, de a bírálónak módja van a részletes gondolatmenetet kielemezni, ami nem mindig mondható el egy kivonatszerű, olykor távirati rövidségű értekezés olvasása során. Persze ez utóbbi választást is lehet jól kezelni.

A disszertáció legfőbb hátránya, hogy magyarul íródott és nem angolul. Ezzel a nyelvi választással el is akadt a nemzetközi megismerés felé vezető útja.

Második formai kifogásom a disszertáció téma szerinti fejezeteinek beosztása és a tézis füzet témafejezeteinek beosztása közötti diszharmóniára vonatkozik. A disszertációban 4 fő téma kerül kifejtésre, ugyanakkor a tézisfüzet 3 témafejezetet tartalmaz, bár ugyanaz a tartalom, de a tagolás mégis más.

Inkább zavaró, mint tévedésen alapuló a disszertáció egyes fejezeteinek, alfejezeteinek és a további szövegtagoláshoz használt sorrendi jelölés megválasztása. Négy fajta jelöléssel találkozunk: szerző a főfejezetekre nagybetűt használ, az alfejezetekre római számot, a paragrafusokra arab számot és végül a főbb bekezdésekre kisbetűt. Az eklektikus jelölés helyett a jól bevált arab számokkal és ponttal való szövegtagolás segítette volna a mű könnyebb átláthatóságát.

Ettől komolyabb kifogásom, hogy a tézisfüzetben feltüntetett 15 saját publikáció közül, amelyek a disszertáció tudományos tartalmát megalapozzák csak részben jelennek meg a disszertációban, illetve annak irodalomjegyzékében. A szerző összesen 7 saját publikációra hivatkozik a disszertációban a tézisfüzetben található 15 helyett.

Nem számoltam meg pontosan, de kb. 5 oldalanként található egy-egy betű elütés, vagy szerkesztési hiba, ami a 250 oldalas disszertációban kevés hibát jelent.

További formai észrevételeim: néhány rövidítés kimaradt a rövidítések listájából, illetve két hivatkozás nem található az Irodalomjegyzékben (103.o., Wang et al, 2013). Egy ábrahivatkozás téves (104.o. 34.ábra) 5). A 34. ábra elektrofiziológiai adatokat mutat a kereszt-korrelációs feldolgozásban, azonban nem egyértelmű, kinek a munkájáról van szó (hiányzik a hivatkozás).

Szakmai észrevételek:

A disszertáció alapvetően az agykérgi ideghálózatok szerveződésével foglalkozik. A különböző szerveződési szinteket Szerző elméleti és kísérletes eszközökkel vizsgálja felhasználva a módszertan széles spektrumát. Négy fő témáról van szó, tételesen vizsgálja 1) a globális, vagy nagy léptékű agykérgi kapcsolatrendszerek, elsősorban a prefrontális, szomatoseznzoros-vizuális relációban a kérgi területek kapcsolati viszonyait alapvetően gráfelméleti szempontból, 2) az agykéreg área szintű sejtpopulációi közötti funkcionális és anatómiai összeköttetési mintázatokat és jelentőségüket a szomatoszenzoros modalitások feldolgozásában, 3) ugyanitt az ultrastuktúrális bélyegekből kikövetkeztethető és a vezetőképességre is utaló morfológiai bélyegek mennyiségi viszonyát, 4) és egy nem specifikus enzim réteg-specifikus jelenlétét és szinaptikus jelátviteli jelentőségét molekuláris hálózati szempontok alapján.

Ez utóbbi (TNAP) témával kapcsolat szeretném megjegyezni, hogy szerencsésebbnek tartottam volna, ha nem kerül a disszertációba, akármennyire is izgalmas téma. Míg az első három téma koherens abban a tekintetben, hogy az agykéreg área és sejtszintű huzalozásával, valamint funkcionális következményeivel foglalkozik, ugyanez közvetlenül nem mondható el a molekuláris szintű regulációt érintő TNAP jelátviteli szerepének vizsgálatáról. Tisztában vagyok azzal, hogy fenti véleményemet nem mindenki fogja osztani velem.

A disszertáció döntően a főemlősön elvégzett kísérletek eredményeinek bemutatása, illetve a primátákra vonatkozó hasonszőrű irodalmi adatok megvitatása. Vagyis a konkrét témák nagyon közeli kapcsolatba hozhatók az emberi agy szerveződésével, ami ritkán adódik a manapság egyre inkább egérre szabott idegtudomány világában. Ezért nagyra tartom a megfigyeléseket és komoly fontosságot tulajdonítok minden részletnek, amelyek kellő gondossággal születtek.

Általánosságban a választott módszer dönti el az eredmény felhasználhatóságát, megbízhatóságát, s az ebből leszűrhető tanulság megalapozottságát. Módszertani kérdéseim a disszertációval kapcsolatban a következők:

1) Az agykéregben vizsgált heterogén axon populációt felosztották myelinizált és nem myelinizált axonok társaságára. Véleményem szerint túlságosan is le van egyszerűsítve a feladat, azaz a myelinizált axonok forrását és terminációját is meg kellene határozni, ami szerintem nem mindig sikerült. Mivel az alkalmazott jelölőanyagról (BDA) korábbi tanulmányok igazolták, hogy képes a beadás központi régiójában átfutó axonokat jelölni, ezért

óvatosan kell kezelni a jelölt axonokat. Mely tulajdonságok alapján határozták meg, hogy a jelölt axonok tényleg a beadási helyről jelölődtek?

2) Az 53. oldalon találjuk az SI-ben jelölt axon terminálisok morfológiai kategorizálására használt kritérium leírását. Kérdésem, hogy a kis- és nagyméretű axon terminálisok közötti mérethatárt miért 1 um-re állították be?

3) Az optikai módszerrel felvett aktivitás térképek illesztése a szövettani metszetekkel a leírás szerint 10 um pontossággal történt. Azonban két dolog ellent mond a megadott pontossági értéknek. Az egyik dolog, az optikai térképek pixel mérete (él hosszúság) 15 um volt (58.o.), tehát az elérhető maximális pontosság legfeljebb 30 um, vagy annál nagyobb lehetett. Továbbá, irodalmi adatok alapján az optikai térképezés során a 3-4 rétegből visszaverődő fény szóródása kb. 100 um bizonytalansággal jár az agyfelszínen, ami a térképek funkcionális interpretálását, sajnos, nagyban befolyásolja a legpontosabb illesztés ellenére. Az intrinsic signal optikai térképezésnek ezzel a fajta hibával mindig számolnia kell. Kérdésem, fenntartható-e az illesztés 10 um-es precizitása és egyáltalán szükség van-e erre a meglehetősen nagyfokú térbeli pontosságra a funkcionális és anatómiai térképek közötti korreláció méréséhez?

4) A BDA jelölőanyag bejuttatása után 14 nap túlélést hagytak az állatoknak. Ez szokatlanul hosszú időnek számít összehasonlítva más munkákban végzett hasonló jelölési kísérletekkel. Végeredményben néhány (3-5) mm távolságra történő jelölőanyag transzportjáról beszélünk, amit a gyors típusú transzport mechanizmus elvileg kevesebb, mint egy óra alatt teljesíteni tud. Mindezek fényében mivel magyarázható a hosszú idejű túlélés alkalmazása?

5) Hogyan lehet a retrográd és anterográd axon jelölést megkülönböztetni?

6) A projekciós idegsejtek csoportosítása klaszterezési algoritmussal történt. Nagyon sokféle klaszterezési algoritmus létezik (pl. K-means, Mean-shift, Gaussian Mixture Models, DBSCAN). Miért a DBSCAN-t módszert használták?

7) Clasca és munkatársai (Cerebral Cortex, 2018) szerint a PSD kiterjedése lineárisan korrelál a posztszinaptikus tüskék felszín méretével. Szinaptikus kapcsolatok tekintetében nem ez az egyetlen strukturális paraméter, ami a PSD méretével korrelál. Ezért is meglepő, hogy a figyelembe vett preszinaptikus paraméterek egyike sem korrelált: sem a bouton-, sem a MIT-ok felszíni mérete. A dokkolt vezikulák sűrűségének megmérése talán segített volna, amiről kimutatták, hogy korrelál a transzmitter felszabadulás valószínűségével. Miért nem végeztek szinaptikus vezikula paraméter méréseket (méret, alak, távolság, denzitás)?

A benyújtott disszertáció több eredeti megfigyelést tartalmaz. Bírálóként az alábbi megállapításokat fogadom el a jelölt eredeti tudományos eredményeinek:

1) Hálózatelméleti vizsgálatokkal meghatározta a vizuo-taktilis relációban fontos agykérgi területeket, amelyek valószínűleg szabályozó szereppel rendelkeznek. Részben irodalmi adatok alapján, valamint a bevezetett konvergencia paraméterek és gráf-éltulajdonságok segítségével megmutatta, hogy Brodmann área 46 és FEF kéreg területek bírnak a fent említett funkciókkal.

2) Pályajelöléssel és funkcionális agytérképezéssel fényt derített az ujj és tenyér régiót képviselő szomatoszenzoros agyterületek belső összeköttetéseinek funkcionális topográfiájára, s ezen keresztül modalitás-specifikus működésük hátterére.

3) A szomatoszenzoros agykérgi áreák közötti szinaptikus összeköttetést biztosító axonokról kimutatta, hogy vastagok és myelin hüvellyel borítottak, feltehetőn a gyors szignál továbbítás érdekében. Ezzel szemben az áreán belüli rostok többsége vékony átmérőjű, boutonokat bocsát ki, és feltehetően lassúbb szignál továbbítást lát el. A nagy- és kisméretű boutonok ultrastruktúrális elemzése SI-ben, PFC-ben és humán agykérgi mintákban megerősítette a bouton osztályok méret szerinti elkülönítésének lehetőségét (felszín- és térfogat paraméterek), ami felhasználható funkcionális következtetések levonására is.

4) Új eredménynek könyvelem el a TNAP nem-szövet specifikus alkalikus foszfatáz réteg-specifikus eloszlásának kimutatását több fajban, így humán mintán is. A TNAP szinaptológiai vizsgálata mutatta meg az enzim hiányának következtében fellépő szinapszis és myelin hüvely degradációt, megerősítve a TNAP funkcionális jelentőségét a szinaptikus jelátviteli rendszerben.

A disszertáció bírálatát azzal zárom, hogy elismeréssel adózom az elért eredményekért. Véleményem szerint Dr. Négyessy László munkája jelentősen hozzájárul az emlős agy bonyolult felépítésének és működésének jobb megismeréséhez. A bemutatott megfigyelések és értelmezésük szerves részét képezik annak az egyetemes tudásnak, amely szükséges előfeltétele bármilyen gyógyászati célú terápia, biológiailag realisztikus prosztézis, vagy működési algoritmus kidolgozásának.

Végül, megállapítom, hogy Dr. Négyessy László tudományos munkája magas színvonalú, eredményei nemzetközi mértékkel is elismerésre méltók. Ezért doktori értekezését a fent ismertetett kritikai észrevételeim figyelembe vételével nyilvános vitára javasolom.

……
Dr. Kisvárday Zoltán
Tudományos tanácsadó
az MTA doktora

Debrecen, 2022. november 28.