

B 4049



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM ÁOK
ELETTANI INTÉZET
Igazgató: Dr. Benedek György egyetemi tanár

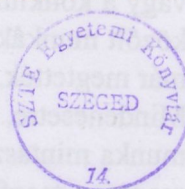
6720 Szeged Dóm tér 10.

Telefon: 62/545-101, Fax: 62/545-842

E-mail: benedek@phys.szote.u-szeged.hu

Ikt.sz.: XLIII-67/432-11/04.

Dr. Klukovits Lajos
Dékánhelyettes
SZTE TTK Dékáni Hivatal
Helyben



Tisztelt Dékánhelyettes Úr!

Megtisztelő felkérése alapján az alábbiakban részletezem Andrásfalvy K. Bertalan „**Modulation of dendritic AMPA receptors by different forms of synaptic plasticity**” című PhD értekezésének bírálatát.

Andrásfalvy Bertalan értekezése a modern neurobiológia egyik legégetőbb problémájával, a szinaptikus plaszticitással foglalkozik. A központi idegrendszer plaszticitása egy olyan jelenség, mely az emberi agy és tudat legfinomabb működésmechanizmusainak alapján áll. Természetének megismerése óriási lehetőségeket rejt magában az embernek saját agyára vonatkozó megismerési szándékon túl is.

Az értekezés modern témája mellett a problémák megoldásában használt módszerek is a tudomány frontvonalához tartoznak. A patch-clamp methodika szofisztikált alkalmazása és a lézer-vezérelt "uncaging" módszer kiemelkedő methodikai háttérrel kölcsönöznek az értekezésnek.

Az értekezés az alábbi új eredményeket tartalmazza:

1. *Kimutatták*, hogy az AMPA receptorok számának progresszív növekedése lehet az alapja a távolság-függő szinaptikus-behangolás mechanizmusának.
2. *Összehasonlították* aGluR-1 alegység hiányos egerek szinaptikus AMPA áramait és az apikális dendritről származó membrán mintákon mérhető AMPA áramok tulajdonságait a vad típusú egereken mért eredményekkel. Eredményei azt sugallják, hogy az extraszinaptikus AMPA receptor állomány szinte kizárólagosan GluR1-es alegységet tartalmazó receptorokból áll, és a plaszticitási folyamatokban ezen receptorok megnövekedett transzportja játszik szerepet.
3. *Megvizsgálták* felnőtt patkányokban a hosszú-távú potenciálódás (LTP) során az AMPA áramokon bekövetkezett változásokat. A potenciálódás során jelentősen megnövekedett az apikális dendrit membránjában az AMPA által képviselt glutamát áramok amplitúdója.
4. *Bizonyítékokat szolgáltatott* arra vonatkozóan, hogy a fenti plasztikus hatásokban az intracelluláris CAMK-II aktivitás fokozódása játszhat szerepet.

Fenti eredményeket az értekezés egy nagyon érdekes hypothesisbe foglalja össze, mely magyarázza a somától növekvő távolságban elhelyezkedő szinapszisok hatásának távolság-függetlenné történő kiegyenlítését.

Disszertáns fenti eredményeit kiemelkedő nemzetközi folyóiratokban publikálta. A londoni Journal of Physiology vagy a Journal of Neuroscience-ben történő közlés garantálja az eredményeket, és felmenti a bírálót abbéli köteleességétől, hogy a munka tartalmi értékeivel, vagy a konklúziókkal kapcsolatban kétségeket vessen fel vagy vitába bocsátkozzon, mikor a közölt munkák bírálói- akik nyilván a szakterület nemzetközileg elismert szaktekintélyei - ezt már megtették.

Mindenesetre, bíráló megállapítja, hogy az igen modern, nehéz methodikával kivitelezett munka mintaszerűen van prezentálva. Mind az elvégzett munka, mind a közölt tanulmányok magasan megfelelnek azoknak a követelményeknek, melyeket az SZTE Természettudományi Kara PhD disszertációkkal szemben állít.

Az olvasó számára kérdés marad viszont, hogy az értekezés alapjául szolgáló távolságfüggő szinaptikus behangolás jelensége mennyiben általános az agyban és mennyire szorítkozik a Schaffer-kollaterálisok által képviselt szinapszisokra. Egyes területeken – például a thalamus egyes magjaiban – ennek a jelenségnek pontosan fordítottjára – a szinaptikus hatékonyság helyfüggő változására vezetnek vissza a különböző afferensek súlyozott jelentőségét.

A másik kérdésem a disszertánstól az, hogy ha valóban ANOVA vizsgálatot végzett, mint ahogy a "módszerek" részben leírja, akkor miért nem közöl F-értékeket, és n értékeket, amit egyes folyóiratok esszenciálisnak tartanak.

Bíráló számára még egy-két formai kérdés is felmerül. A nagyon szépen illusztrált értekezés fedőlapja szerint a szerző a József Attila Egyetem, Institute of Natural Science, Department of Zoology and Cellbiology (sic!) -ban Tamás Gábor szupervíziója alatt dolgozott (aki egyébként az Összehasonlító Élettani Intézetben dolgozik). A közleményekben magam egy New Orleans-i munkahelyet találtam, és Tamás Gábor nevét sem a közleményekben, sem az értekezés citációi között nem találtam. A PhD értekezések igen informatív része a köszönetnyilvánítás, melyből kiderül, hogy hol végezte a disszertáns a munkát, milyen viszonyban volt egyéb intézetekkel, kik segítették munkájában és korábban hol dolgozott. Jelen értekezés köszönetnyilvánítás részéből (vagy akármilyen másik részéből) semmi nem derül ki. Fogalmam sincs, hogy a fenti, nem létező intézet hogyan került a képbe. Nyilvánvalóan, valami nagyon egyszerű oka van ennek a problémának, és csak nekem okoz fejtörést, de kíváncsian várom a választ.

Másik formai jellegű kifogásom a disszertáció nyelvezetére vonatkozik. Mi magyarok - legalábbis azok, akik itthon élünk - sohasem fogunk igazán megtanulni angolul (tisztelet a kivételnek). Ezért nem illik és nem szokás az angol nyelvezetben hibákat keresni, Opponens mégis kénytelen megállapítani, hogy ennek a disszertációnak elmaradt az angol nyelvi korrektúrája.

Egyetlen példaként a disszertáció legelső mondata:

In recent years our laboratory we have mostly been focusing on single principal neurons and investigating the electrophysiological properties to get a better and more detailed picture of the basic unit of neuronal networks.

Ezek után nem kívánom a továbbiakat részletezni. A kötőjeles kifejezések is (pl. Sprague-Dawley) hol kötőjellel, hol kötőjel nélkül szerepelnek.

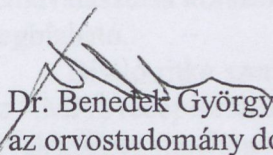
Hogy a problémát még kifejezettebbé tegyem, ide másolom a magyar nyelvű összefoglaló első mondatát:

A CA' hippokampális piramis sejtek szinaptikus kapcsolatai révén más idegsejtektől sok tízezer serkentő és gátló bemenetet kap, melyek integrációja meghatározza az adott idegsejt elektromos aktivitását.

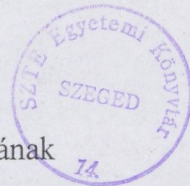
A magyar szöveg is hasonló módon folytatódik. Kár volt egy ilyen szép disszertációból egy utolsó, kritikus átolvasást kihagyni.

Természetesen a fenti néhány megjegyzés nem befolyásolja a bírálat lényegét, mely megállapítja, hogy a disszertáció tartalmi és formai szempontból megfelel a PhD disszertációkkal szemben támasztott követelményeknek, és ennek megfelelően az értekezés nyilvános vitára tűzését és disszertánsnak a PhD fokozat odaítélését javaslom.

Szeged, 2004. október 1.


Dr. Benedek György
az orvostudomány doktora

Melléklet: 1pld. disszertáció



Dr Andrásfalvy Bertalan doktori értekezésének bírálata

Köszönöm a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi Kar Doktori Tanácsának megtisztelő felkérését.

Andrásfalvy doktor „Dendritikus AMPA receptorok stb” című, angol nyelven írott értekezésének nyilvános vitára bocsátását és elfogadását kiváló minősítéssel javasolom. Megállapítottam, hogy a publikált és értekezésében megjelenő információ egymást jól fedő értékes, eredeti, meggyőzően dokumentált részletekben gazdag ismeretanyag.

Indoklás.

Doktorandusz az értekezéssel szemben támasztott formai követelményeknek megfelel, bár műfaja inkább a szakfolyóiratok cikkeihez hasonlít. A fokozat elnyerés publikációs elvárásainak két, kiváló folyóiratokban megjelent és egy közlésre elfogadott elsőszerzős közleménnyel eleget tett. Témaválasztása korszerű érdekes, metodikája sokrétű, az efféle célokra legjobb, munkaigényes és megbízható.

Bíráló ritka szerencséje, hogy jelölt eredményeit nagyon egyszerű pontos állításba sűrítetheti: Az AMPA receptorok száma a CA1 pyramis sejt apikális dendritján a szomától távolodva növekszik, ez hatékonyan kompenzálja az elektrotonikus vezetéssel járó veszteséget. E strukturális elrendezésben valamint dendritre jellemző DDSS típusu plaszticitásban a GluR-1 receptor alegység meghatározó szerepet játszik.

Bíráló szintén ritkán kapott nehéz feladata említésre méltó hibákat találni egy ilyen jó értekezésben. Jelölt nemcsak a pozitív leleteket támogatja vitathatatlan kvantitatív bizonyítékokkal, hanem alternatív lehetőségek kizárására is gondot fordít. Alábbi kifogásaim inkább jószándékú javaslatok, melyek a nagyon értékes leletek ismertetésének jobbítását segíthetik.

Elsőként egy kis berzenkedés. Látom, hogy a csatolt közlemények és az értekezés szövege igen nagymértékben azonos. Ez helyes, mert a publikált anyag jelenik meg az értekezésben, de kihasználhatta volna a lehetőséget egyes, a kompakt fogalmazásban rejtve maradt részletek bővebb kifejtésére. Persze könnyebb egy félmondatba sűrített állítást és néhány referenciát adni, mint valamit kínos pontossággal és a kíváncsok terjedelemben magyarázóan elmondani.

Az első részben felvetett kérdést eldöntő leletét a 25. oldalon írja le. Ezt a rövid szakaszt jobb lett volna bővíteni pár mondatnál arról, hogyan derül ki az NSF analízisből a receptorok száma. Hasznos lett volna a többször említett egyenletek általános formáit egy, a konkrét kísérleti adatokat tartalmazó példa segítségével értelmezni. Nem árt bevallani, mi volt az egyedi, kísérletesen mért adat és mi a többi, csupán belőle számolt érték. Indokolnia kellene, hogy miért vetheti egybe az áramerősség értékeket, hiszen a disztális és proximális membránrészeket külön vizsgálja, márpedig az éppen észlelt áramintenzitás a lokális elvezetési viszonyoktól (pld seal, access) függ.

Az analízis végeredményeként megjelent számok pontosságáról szeretném elfogult véleményét hallani. Világos, hogy a kalkuláció határozott eredménye például az, hogy a mintában értékelt áram hány nyitott csatornán (AMPA receptoron) folyik. Ezt a származtatott értéket azonban elég sok ismeretlen biofizikai és néhány becsült mérés technikai összetevő árnyalja, durvábban fogalmazva torzítja. Kérdem, hogy pld az $N=1509$ illetve 2876 AMPA receptor szám vajon mennyire pontos közelítés? Saját becslése szerint mekkora, 1-10%, vagy nagyobb „hibafaktoral” dolgozik? Nyilván legpontosabbak a mért értékekkel viszonylag egyszerűen összefüggő átlagos peak áramintenzitás adatok. Viszont a kalkulált single channel conductance és a maximum channel open valószínűség értékek hibafaktoral árnyaltak. Mit gondol erről?

A 10. ábra kapcsán nem ártana jelezni, honnan származik, mit jelent pontosan az „NMDA charge” és hogyan származik az áramleletből.

Miért nem végezte el az NMDA-receptorokon folyó áramadatok fluktuáció analízisét?

Miként lehet használni az MK-801 tesztet a szub- és az extraszinaptikus receptorok differenciálására? Hogyan lehet egy outside out membrándarabon mért áram komponenseiből kiválasztani az extraszinaptikus receptorokon folyó részt?

Pontosabban ki kellene fejtenie a 31. oldalon említett nem publikált, tehát számomra is ismeretlen Tovar-Westbrook megfigyelést.

Elismeri (33-34 oldal), hogy saját következtetése mellett más értelmezés sincs kizárva, de érveket nem mellékel. Miért döntött, ahogy döntött?

Elfogadom, hogy a receptor szám növekedés (egyedül vagy egyéb faktorokkal) hatékonyan kompenzálja a dendritvezetés során észlelt amplitudó csökkentést az eleve nagyobb jel indításával. Korábban a kompenzáció magyarázatát a dendritmembrán magasabb specifikus ellenállásában vélték megtalálni. Hova lett ez az elképzelés? A dendriteken keltett szinaptikus áramból származó szomatikusan mért EPSP a gyors proximális eredetű válaszoknál lassabban emelkedik. Ez persze izolált membrándarabokon nem látszik, de whole cell elvezetésben észlelni kellene, hogy hiányzik a PSP jelek időgörbéje és amplitudója közt a Rall-modell szerint várható, sőt a gerincvelői motoneuronokon jól dokumentált összefüggés. Mit gondol erről?

Hiányzik a magyarázat, (az utalás a 41. oldalon nem elég) hogyan okoz hyperozmotikus oldat (szelektív? non szelektív?) AMPA aktivációt.

Paraméter x vagy parameter *felülvonás* – x szerepel a GluR1 and quantal size alcím alatt (lásd szöveg és Fig 14.B). Mit jelöl x egyáltalán, még ha szokványos is?

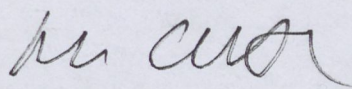
Lenyűgöző a technikai színvonal és a feloldás mértéke a 15. ábrán, de nem látom, honnan származik a „spine head volume” érték?

Kicsit bővebben leírhatta volna az LTP tesztek paradigmáját. Ha jól értem még VC konfigurációban, de a membrán átszakítása nélkül győződik meg arról, hogy adott esetben a tetanizálás növeli vagy sem a preszinaptikus ingerlés hatásfokát. Majd a sejt tetanizálása után 20 perccel, belőle kitépett membrándarabokat használt glutamát pulzusokkal keltett jelek NSF analizisére. Ilyenformán nincs közvetlen konkrét lelete a membránrész glutamát érzékenységről tetanizálás előtt, illetve a szinapszisok hatásfokáról a tetanizálás után. Így az LTP rováására irt elég goromba kvantitativ különbség mértéke mégiscsak fenntartással kezelendő. Ismétlem, csak a kvantitativ eltérés mértéke kétes, nem maga a megfigyelés, vagy az érdekes magyarázat.

Néhány szerkesztési kifogás: Kevés gépelési hibát is találtam (pl a 10. ábra magyarázatában biCCucculine). Hasznos lett volna egy értelmező listát mellékelnie a gyakran használt betűszavak jelentéséről. Szébb lett volna a Part I, Part II stb főbb részeket rendre új oldalon kezdenie.

Összefoglalóan megállapítom, hogy az értekezés igen magas színvonalon elkészített, rangos szakfolyóiratokban közölt, számottevő új eredményeket és azok kritikus értékelését tartalmazza. Feltétlenül alkalmas a PhD fokozatért tervezett vita bonyolítására és sikeres védekezés után a cím elnyerésére.

Pécs 2004-09-13 .



Tisztelettel Dr Czéh Gábor
címzetes egyetemi tanár
az orvostudományok doktora