



OPPONENSI VÉLEMÉNY

Tárgy: dr. Kozsurek Márk jelölt „A kokain- és amfetamin-regulált transzkript (CART) peptid a gerincvelői szintű nociceptív információfeldolgozásban szerepet játszó neuronális hálózatokban” című Doktori értekezése (Semmelweis Egyetem, Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola, Neuromorfológia és sejtbiológia program, értekezés-szám: 1124)

Értékelő: Dr. Rónai András Zoltán

Nagy élvezettel olvastam a jelölt által benyújtott dolgozatot. Egy opponensi véleményezési folyamat, ha a feleket „illesztő” irányítási mechanizmus jól működik, az opponens számára legalább annyi, elmélkedésre ösztönző értékes információt tartalmaz, mint –reményeim szerint- az opponens által megfogalmazottak a jelölt számára.

A dolgozat metrikus paramétereinek (oldalszám, ábraszám, hivatkozások száma) taglalásától eltekintenek. A formai észrevételek közül kiemelném az elenyésző számú helyesírási, fogalmazási hibát. Az angol háttérű szakirodalom és saját közlemények magyar nyelvre történő átfogalmazása számos, de nem feltétlenül kerülendő heterogenitást eredményez. Egyaránt elfogadható és egyértelmű az „exprimálás” és „expresszáls” kifejezés, mely hazai iskolánként változhat. Engedtessek meg egy kísérletes farmakológustól származó nomenklátúra-beli preferencia. Az akut nociceptív tesztek megnevezésekor a „lábelrántás” analógiájára talán jobbnak tűnik a „farokelrántás” (tail-flick) kifejezés.

Igen dicséretes a dolgozat szép, didaktikus felépítése, külső szakirodalomból átvett illetve saját közölt- és nem-közölt illusztrációkkal.

A hazai, jóindulattal mérsékeltnek is minősíthető általános kutatási színvonal tükrében opponens számára igen nagy örömet jelent annak a funkcionális neuromorfológiai iskolának stabil, kiemelkedően magas szintű kutatómunkája, amely megjelenik az iskola neveltjeinek teljesítményében is. Jelölt elsőszerezős cikkei igen színvonalas folyóiratban jelentek meg, s a kumulatív impakt faktor a Semmelweis Doktori Iskola adott szakágra érvényes követelményszintje feletti.

A dolgozat az iskolára jellemző, egyes idegelemekhez, idegsejtekhez, pályákhoz sajátosan hozzárendelhető funkcionális markerek magas érzékenységgű, specifikus detektálásán, és megfelelő kromogének alkalmazása melletti megjelenítésén alapul. Ehhez társul, s ennek előfeltétele a szövetelemek precíziós, standardizált preparálása, illetve a standardtól eltérő alkalmas módosítások kidolgozása. További feltétel a különböző markereket, markercsoportokat hordozó metszetek, sejtalkotók programvezérelt átfedése,

korrelációba vonása. A dolgozat és a mellékelt saját cikkek különlenyomatai alapján jelölt a módszerek alkalmazásában, az eredmények értékelésében és interpretációjában megfelelő jártasságú.

A dolgozat témájául választott kutatási irány, azaz a CART peptid résztvétele a gerincvelői szintű nociceptív információ-feldolgozásában ún. extenzív fázisban van, azaz a különböző közelítésű alapinformációk biztosítása az elsődleges cél. Ezt a célt kiválóan szolgálja a bemutatott –és megfelelően publikált- adategyűttes. Az összetett értelmezést nehezíti, hogy a CART receptor(ok) egyelőre nem definiálhatók egyértelműen.

A disszertáció értékes megállapításai az alábbiak

1. A CART immunoreaktivitás a legmagasabb a patkány gerincvelői hátsó szarv I. laminájában, jelentős a II. laminában, csökkenő mértékű a mélyebb laminákban
2. A széli laminákban található immunoreaktivitás jeletősebb hányada a CGRP-vel markerezett primér peptiderg afferensekben, kisebb hányada a GLUT2 pozitív, CGRP negatív interneuronokban lokalizált
3. Nincs kolokalizáció a C-rost afferenciához rendelhető nem peptiderg bemeneti markerrel, valamint az A δ rostkontingenshez rendelhető bemeneti markerrel
4. Ugyanezen területen, jelentős a kolokalizáció az afferensekben az immunoreaktív galaninnal, jelentős a CART jelenléte a SOM pozitív, CGRP negatív neuronokban, kismértékű az NT pozitív neuronokban. Igen kismértékű a CART kolokalizációja GABA-erg neuronális markerrel, elhanyagolható a kolokalizáció glicinerg markerrel
5. Kedves háttérinformáció, hogy azokban a sejt-testekben, ahol a végkészülékekbe való lokalizáció alapján az előfordulás elvárható (spinális ganglion kisméretű sejtjeinek releváns hányada, hátsó szarvi interneuronok releváns hányada), az immunoreaktív CART egyértelműen kimutatható, de a megjelenés mértéke a terminálisokban észlelt készlethez képest alacsony. Ezt, logikusan, a jelölt a gyors axonális transzport valószínűsítésével magyarázza (ez a későbbiekben kísérletesen is igazolható volna).
6. A CART immunoreaktív axonterminálisok fő célpontjai a lamina I. projekciós neuronjai. A szinapszis aszimmetrikus, jellemzően dendritikus, kisebb hányadban sejttesten lokalizált.
7. A CART peptid nem kolokalizált a leszálló szerotonerg és noradrenerg pályák markereivel.
8. Mindezek alapján jogos annak valószínűsítése, hogy gerincvelő hátsószarvi szinten a CART jelentős szerepet játszhat a nociceptív információ feldolgozásában

A kritikusként is értelmezhető észrevételek nem érintik a dolgozat egészének magas színvonalát. Sokkal inkább tekinthetők úgy, hogy a nocicepció farmakológiájában érintett kutató (azaz az opponens) él azzal az alkalommal, hogy kommunikációra alkalmas közelítések közös kidolgozására serkentse a dolgozat íróját. Az észrevételek egy része kérdés is (ezt majd konkrétan jelzem), más esetben csupán figyelemfelhívás néhány, tartalmilag nem kellően árnyalt szövegrészre. Ezen észrevételek az alábbiak:

- Talán telhetetlenség, de a 2.1.1. szekcióban (p.5→) hiányoltam Julius és Basbaum (Nature, 413, 203-210, 2001) áttekintő jellegű közleményének feldolgozását, bár igaz, hogy hasonló jellegű cikkekre számos hivatkozás történt.
 - Ugyanezen szekcióban (p.6): a spinális ganglionokban található „kis sejtek egy csoportjában” megtalálható neuropeptidok vonatkozásában a hivatkozott irodalmi forrás értelmezésem szerint egy kissé liberálisan magas peptidpopulációt nevezett meg. *Kérdés:* kérem, nevezze meg a listából azokat a peptideket, melyek esetén az állítással ellentétes irodalmi adatok is szép számmal adódnak.
 - 2.2.4. szekció (p.24→): bár a CART receptora(i) egyértelműen nem definiált(ak), számos lehetséges jeltovábbítási út körvonalazódik. *Kérdés:* hány különböző családba tartozó G proteint nevezne meg, melyeket a jeltovábbításban érintettek sejtethünk? Milyen következtetést fogalmazna meg az elágazó jeltovábbítási utak lehetőségéből?
 - Bár egy esetben hivatkozik Tony L. Yaksh egy közleményére, fiatal kollégáimnak ajánlani szoktam ugyanezen szerző Trends in Pharmacological Sciences-ben megjelent áttekintőjét (20, 329-337, 1999). Bár egyszerűsített formában, a közlemény jól követhetővé teszi a különböző krónikus nociceptív modalitások terápiás közelítéseit. Ugyanakkor jelzi, hogy az ugynevezett neuropátiás modalitás (melynek az idegsérüléssel háttérű jelenségek is részei) mennyire összetett patomechanizmusú.
 - Egy erősen önös indítatású *kérdéscsoport*: Jelölt igen helyénvaló módon állapítja meg, hogy a legtöbbet tanulmányozott természetes CART-peptid a CART(55-102), bár a propeptid poszt-transzlációs „előhívása” során CART(62-102) is keletkezhet. A diszulfid-hidak által „védett” régiótól N-terminálisan a bázikus aminosav-pár mellett más peptid-hidroláz számára is kínálkozik hasítási hely.
- Konkrét kérdések:*
1. Van-e olyan antitest, amely differenciáló módon ismeri fel a CART(55-102) illetve CART(62-102) peptidet?
 2. Van-e irodalmi adat arra, hogy az extracelluláris térben a CART(55-102)-nek mik a hidrolitikus produktumai, és ezek között van-e domináns produktum?
 3. Van-e irodalmi adat arra, hogy a nociceptív információ spinális feldolgozása tekintetében eltérő hatású volna a CART(55-102) illetve a CART(62-102)?

Mindezen észrevételek / megjegyzések nem érintik a dolgozat alapvető értékeit. Összefoglalóan javaslom a dolgozat vitára bocsátását, és a doktori fokozat megítélését.

Dr. Rónai András Zoltán
opponens

Budapest, 2009. szeptember 08.