

DR. NYIRI GÁBOR / GÁBOR NYIRI, PH.D.
VEZETŐ KUTATÓ / PRINCIPAL INVESTIGATOR

KÍSÉRLETI ORVOSTUDOMÁNYI KUTATÓINTÉZET / INSTITUTE OF EXPERIMENTAL MEDICINE
☎: +361-210-9400 EXT.:190, ✉: NYIRI@KOKI.HU
H-1083, BUDAPEST, SZIGONY UTCA 43., HUNGARY

*Dr. Gábor Róbert
egyetemi tanár, az MTA doktora
PTE SzKK Neurobiológiai Kutatócsoport*

VÁLASZOK DR. GÁBRIEL RÓBERT OPPONENSI KÉRDÉSEIRE

Tisztelt Professzor Úr!

Köszönöm, hogy időt tudott szánni pályázatom bírálatára és külön köszönöm a megtisztelő méltató szavakat.

A feltett kérdésekre válaszaim a következők.

Első tématerület

1. Ugyanazon vezikulán belül van-e, lehet-e GABA és acetilkolin?

A különböző transzmitterek optimális vezikulába pakolásához mind az elektromos gradiensnek mind a proton gradiensnek megfelelőnek kell lennie. Az acetilkolin mindkét gradiensről erősen függ, míg a GABA ilyen függése gyengébb, de valószínűleg dominánsan az elektromos gradiensről függ inkább (Hnasko et al, 2012, 10.1146/annurev-physiol-020911-153315). Mindenesetre pusztán biofizikai okokból nehéz lenne kizárni, hogy a két transzmitter együtt is előforduljon egy vezikulában. Bár Takamori és mtsi. (J. Neurosci, 2000, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.20-13-04904.2000) általánosságban megállapították, hogy a GABA-tartalmú szinaptikus vezikulák populációja nem fed át az egyéb neurotranszmittereket szállító vezikulák populációival, azonban tekintettel a nagyszámú különböző idegsejt típusra egyetlen vizsgálattal nehezen bizonyítható, hogy ez egyetlen sejtben sem történik meg az idegrendszerben. És valóban, Peter Jonas és kollégái szerint (Science, 1998, DOI: 10.1126/science.281.5375.419) GABA-val együtt ürülhet ugyanazon vezikulából a glicin is a gerincvelőben, továbbá Zimmermann és mtsi. szerint például glutamát csomagolódhat ugyanabba a vezikulába a megfelelő körülmények között GABA mellé (Front. Synaptic Neurosci., 2015, DOI: 10.3389/fnsyn.2015.00016). Így a kérdésre hogy ugyanazon vezikulán belül lehet-e GABA és acetilkolin valószínűleg csak adott sejtek egyenkénti vizsgálatával lehet megbizonyosodni, bár eddigi tapasztalatok szerint valószínűleg mindig külön vezikulákban vannak.

2. Mi határozhatja meg az aktív zónába kerülést és a transzmitterek ürülésének sorrendjét?
3. Mi határozhatja meg az adott pillanatban kiürülő transzmitterek mennyiségi arányát?

(A kérdés hasonlósága miatt ez a válaszom hasonló Toldi Professzor Úr hasonló kérdésére adott válaszomhoz.)

Ma már elfogadott, hogy az idegsejtek több jelátvivő anyagot is tartalmazhatnak és szabadítanak fel. A co-transzmisszió szabályozását (pl. frekvencia függését) vagy funkcionális hatásait azonban még mindig csak alig ismerjük. A nagyszámú különféle neurotranszmitter kölcsönhatása számos nemlineáris vagy eddig nem is ismert hatást eredményezhet (Svensson et al., Front Neural Circuits. 2018; DOI: 10.3389/fncir.2018.00117). Co-transzmisszió esetén, amikor a két jelátvivő külön vezikulában van, meg van a lehetőség azok független szabályozására, de ezek szabályozása még csak alig ismert, ráadásul eltérő lehet a különböző típusú sejtek terminálisaiban. Mindenesetre, vélhetően feszültség és bizonyos lokális ionkoncentrációk befolyásolják a vezikulák dokkolásának frekvenciáját és ürülését. Ennek vizsgálatára éppen Professor Úr szakterületéről, a retinából ismerek példát, ahol szintén kimutatták a GABA és ACh co-transzmisszióját. Ezek a munkák részben nekünk is inspirációt adtak a hippocampális vizsgálatokhoz. A retinában leírták, hogy a Starburst amakrin sejtek (SAC) hozzájárulnak a gerinces retina irány-szelektív mozgásérzékeléséhez. Az SAC-ok sugárirányban szimmetrikus dendritmorfológiával rendelkeznek, amelyek átfedésben vannak a szomszédos SAC-októl származó dendritekkel, valamint az irány-szelektív ganglion sejtekkel (DSGC). Azt találták, hogy az SAC-k több GABA-t szabadítanak fel a DSGC-kre a nem kívánt irányban mozgó fényre, mint az előnyös irányban haladó fényre. Azaz úgy tűnik, hogy a SAC-okból származó GABA-felszabadulás elengedhetetlen az irány-szelektivitás szempontjából. Ugyanakkor a gátló GABA mellett az SAC-k ACh-t is felszabadítanak, melyek nikotinikus receptorokat (nACh) aktiválnak a DSGC-ken. Az irány-szelektivitáshoz azonban nincs szükség a nACh receptorok aktiválására. Ugyanakkor kimutatták, hogy míg az SAC-k általi GABA-kibocsátás szelektív a nem preferált (null) irányú mozgásra, a kolinerg válasz nagyobb a preferált irányú mozgásnál. Mind a GABA, mind az ACh áramok függenek a külső Ca^{2+} ionoktól, hiszen ez idézi elő a vezikuláris felszabadulást, de az ACh felszabadulás sokkal kisebb érzékenységet mutat a Ca^{2+} iránt, mint a GABA felszabadulás. Ez nem csak igazolta, hogy a két transzmitter a Ca^{2+} ionok szabályozásának segítségével különböző vezikulákból ürül, de azt is, hogy eltérően szabályozódik ürülésük. Így ezek a megfigyelések összhangban vannak az Starburst amakrin sejtek vélhetően kettős szerepével is, hiszen míg az irány-szelektivitás kódolását a GABA-kibocsátáson keresztül, addig a mozgásérzékenység kódolása az ACh-kibocsátáson keresztül tudják kódolni (Demb, Neuron, 2007, DOI: 10.1016/j.neuron.2007.07.001; Lee et al. Neuron, 2010, DOI: 10.1016/j.neuron.2010.11.031, Hnasko és mtsi. 2012 DOI: 10.1146/annurev-physiol-020911-153315). Mindezek alapján látható, hogy az általunk is kimutatott különböző Ca^{2+} csatornához kapcsolt GABA és acetilkolin felszabadulás a retinában is szabályozható független módon.

4. Mutatnak-e a Ca-csatornák térbeli szegregációt a szinapszisokon belül?

A jelenlegi technológiák (mikroszkópos és immunhisztokémiai) teljesítőképességének a határai miatt ez nehezen vizsgálható. Ennek ellenére már kimutatták, hogy a feszültség függő Ca^{2+} csatornák sajátos, a dokkolt szinaptikus vezikulákkal korreláló elrendeződést mutatnak az ideg-izom szinapszisokban, sőt az emlős központi idegrendszerben is sikeresen igazolták, hogy a pre-szinaptikus Ca^{2+} csatorna klaszterek száma korrelál a funkcionális vezikula felszabadulási helyek számával (Miki et al., PNAS, 2017, DOI:10.1073/pnas.1704470114). Ugyanakkor olyan tanulmányt nem ismerek, melyben a különböző Ca^{2+} csatornák külön klaszterekhez való asszociációját kimutatták volna.

5. Milyen támadáspontot tudna elképzelni a jelölt a disszertációban javasolt géntechnológiai eljárás támadáspontjául?

Bár kevéssé közismert, de orvostudományi kutatások keretén belül ma már több száz ember kapott virális géntranszfer kezelést. A géntranszfer régóta vonzó lehetőség, sőt az első génterápiás gyógyszerek lassan piacra is kerülnek, és hatalmas lehetőséget jelentenek az eddig gyógyíthatatlan megbetegedések kezelésének kidolgozásához. Számos idegrendszeri célpont esetén a legjobb vektor jelenleg az adeno-asszociált vírus (AAV), melyet mi is rendszeresen használunk kutatásaink során, ráadásul ennek emberben is igen jó a biztonsági profilja és hatékonyan fertőzi az idegsejteket is (Hudry et al. 2019, Neuron, DOI:10.1016/j.neuron.2019.02.017). A disszertációban említett géntechnológiai eljárás célja az lehetne, hogy hatékonyabbá tegye a kolinerg sejtek GABA felszabadító képességét, úgy hogy az specifikusan, lehetőleg mellékhatások nélkül legyen képes csökkenteni pl az epilepsziás rohamok súlyosságát. (Ennek részleteinek kifejtése meghaladná az itt célszerű kereteket és potenciálisan szabadalmi jogi problémába is ütközne.)

Második tématerület

1. Kinutatható-e bármiféle összefüggés e rendszer aktiválása és a tobozmirigy melatonin termelése között?

A median raphe vGluT2 sejtjeinek működését és annak hatásait még csak most kezdhettük megérteni, hisz eddig létezése is ismeretlen volt. Világossá vált, hogy ezeknek központi szerepe van az állatok negatív élményeinek szabályozásában, méghozzá úgy tűnik, hogy elsősorban azért felelős, hogy az élőlény átélje és aktívan reagáljon is a negatív élményekre. Azt nem vizsgáltuk, hogy a vGluT2 sejt bármilyen hatást gyakorol-e a melatonin termelésére, de az érdekes párhuzam, hogy míg pl. e sejtek aktiválása jelentősen növelte az állatok agresszióját – vélhetően egy aktív negatív élmény megoldási stratégiájának részeként, addig a melatonin szintén növeli a kihívásokra adott argesszív reakciót emberben (Liu et al. 2017, Psychopharmacol., DOI: 10.1007/s00213-017-4693-7) Ezen összefüggések feltárásához további vizsgálatok szükségesek.

2. Megmutatható-e, hogy a mellékvese valamely része nagyobbodik meg szelektíven, avagy a mellékvese egészének a tömege növekszik meg?

Ezt a kérdést részleteiben nem vizsgáltuk.

3. Ismert-e másik olyan neuronális rendszer, amely segíti a negatív tapasztalatok feldolgozását és tárolását?

Általánosságban az idegrendszer evolúciósan úgy fejlődött, hogy az egyén és a faj túlélését biztosíthassa, így két fő feladata van: a pozitív és a negatív élmények állandó felismerése, feldolgozása, memorizálása, jóslása és a megfelelő reakciók végrehajtása. Tekintettel azonban arra, hogy a negatív élmények szélsőséges esetben az egyén vagy faj (családfa) fennmaradását, életét közvetlenül veszélyeztethetik, ezért agyunk jelentős mértékben a potenciális negatív élmények feldolgozására specializálódott. Nem véletlen, hogy a negatív hírek hírértéke mennyivel nagyobb, és nem véletlen hogy a negatív élmény feldolgozással kapcsolatos krónikus stresszel, szorongásos, depressziós, poszttraumás stressz rendellenességgel, fóbiákkal kapcsolatos rendellenességek olyan gyakoriak és egyben óriási gazdasági és társadalmi terhet jelentenek. Mind a pozitív élmények elérésére, mind pedig a

negatívak elkerülésére számos agyterület összehangolt működésére van szükség, melyek nem külön rendszerekként, hanem egymást kiegészítve működnek. A negatív élmények elkerülésében központi szerepe van a laterális habenula (LHb) és a mediális ventrális tegmentum (mVTA) területeinek abban, hogy kiértékeljék a már kialakult helyzetet és megjósolják a jövőben esetleg előforduló negatív élményeket. Természetesen fontos, de manapság már sokkal kevésbé egyértelmű szerepe van az amygdala területének, melyet korábban, mint kulcsingerhez kötött félelmi központként azonosítottak. Továbbá központi szerepe van a szepto-hippokampális rendszernek is, amely segít rögzíteni és visszahívni a negatív eseményekkel kapcsolatos emlékeket. Továbbá a frontális kérgi területek pedig az élmények tudatosabb feldolgozását végzik. De meg sem érdemes kísérlnem felsorolni mindazokat az agyterületeket melyek a negatív élmény feldolgozásában valamilyen szerepet játszanak, hiszen vélhetően alig volna olyan agyterület, mely egy erősebb negatív élmény hatására ne változtatná meg valamelyest a működését és így ne venne részt annak észlelésében, feldolgozásában. Ráadásul ember esetében még lateralizáció is megfigyelhető, mivel mind a frontális agykérgi területek mind pl. az amygdala esetében ismert, hogy a jobb félteke területei inkább a negatív, a bal inkább pozitív élmények hatására aktiválódnak. Mindennek ellenére, azonban vannak olyan területek az agyban melyek központi szerepet játszanak a negatív élmény feldolgozásában és úgy tűnik ennek egyik fontos központját adják az általunk felfedezett sejtek.

4. Milyen terápiás javaslatok képzelhetők el hangulati rendellenességek kezelésére az itt ismertetett eredmények alapján?

Szeretnék visszautalni az előző fejezet 5. pontjára adott válaszomra, melyben részleteztem, hogy a virális géntranszfer kezeléseknél milyen rendkívüli potenciál rejlik. Tekintve hogy az idegrendszeri betegségek terápiáját gyakran még mindig olyan molekulákkal kísérlik meg folytatni melyek célpontjai szerte a szervezetben fellelhetők, nem meglepő hogy azok mellékhatásaival is számolni kell. Csupán egyetlen agyterület rosszul adaptálódott egyetlen sejtpopulációjának modulálása esetén vélhetően sokkal kevesebb mellékhatással is kell számolnunk. Az egyes sejtcsoportok funkciójának pontos megismerése ezeknek a lehetőségeknek a kiaknázásában segíthet. Így a géntranszfer olyan vonzó lehetőség, mellyel a rosszul adaptálódott vagy sérült sejtpopulációk működése célzottan állítható helyre. Az első génterápiás gyógyszerek lassan piacra is kerülnek, és hatalmas lehetőséget jelentenek az eddig gyógyíthatatlan megbetegedések kezelésének kidolgozásához és ezek sejtspecifikussá tétele is lehetséges lesz a jövőben. (Ennek részleteinek kifejtése meghaladná az itt célszerű kereteket és potenciálisan szintén szabaddalmi jogi problémába is ütközne.)

Harmadik tématerület

1. Milyen tüzelés frekvencia mellett hatékony az OLM szomatosztatin sejtjeinek beavatkozása a hálózati működés kontrolljába?

Külön nem vizsgáltuk az incertus rostok különböző tüzelési frekvenciáinak hatékonyságát. A használt frekvenciát azért választottuk, mert az az ezen agytörzsi sejtekből való elvezetések során tipikus volt.

2. Milyen a pálya ingerlésének hatása a hippocampus többi interneuronjára?

Tekintve, hogy a pálya meglehetősen specifikusnak mutatkozott a szomatosztatin tartalmú interneuronokra, ezért az ingerlés hatását a többi gátló sejt esetében korábban

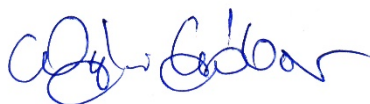
külön nem vizsgáltuk. Tekintettel arra, hogy a fősejtek gátlástalanítása azok válogatott populációjának aktivációjához vezet, ezért a fősejtek aktivitása várhatóan emelnie kellett az interneuronok aktivitását a területen. Ez rámutat arra is, hogy a gátlástalanítás önmagában nem jelenti a hálózati gátlási egyensúly felborulását, hiszen a számos egyéb interneuron megnövekedett gátló működése kompenzálni képes azt.

3. Van-e olyan pálya, amelyik képes ellensúlyozni a nucleus incertus GABAerg neuronjainak működését?

Az incertus általi helyi gátlástalanító hatást az előző válaszomban részletezett módon a többi interneuron illetve a nem célzott és így nem gátolt szomatosztatin pozitív interneuron fokozott aktivitása képes kompenzálni hálózati szinten, azonban ez nem jelenti a közvetlenül gátlástalanított fősejtek aktivitásának a gátlását, hiszen azokra éppen az engramok kialakulásához van szükség. A szomatosztatin sejtek szintjén pedig a hálózati egyensúlyt egyrészt a dolgozatban is részletezett és mediális szeptumból érkező kolinerg sejtek megbízhatóan elvégezhetik, hisz azok azonnal aktiválódnak fontos környezeti ingerek hatására és erősen beidegzik a hippocampusz szomatosztatin sejtjeit. Másrészt ugyanígy a mediális szeptum glutamaterg neuronjai az állat fontos ingerekre válaszul indított mozgásával korreláló aktivitás növekedést mutatnak, és szintén beidegzik a hippocampusz szomatosztatin sejtjeit. Ezek erős ellenpontot képeznek az incertális gátlással szemben, megfelelő időzítéssel.

Végezetül köszönöm Professzor Úrnak, hogy bírálatában támogatta számomra az MTA doktori fokozat odaítélését.

Budapest, 2021. május 28.



Nyiri Gábor
vezető kutató