

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. Toldi József

egyetemi tanár, az MTA doktora

*Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Kar Biológiai Intézet
Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék*

VÁLASZOK DR. TOLDI JÓZSEF OPPONENSI KÉRDÉSEIRE

Tisztelt Professor Úr!

Köszönöm, hogy elvállalta és időt tudott szánni pályázatom részletes áttanulmányozására és bírálatára.

A feltett kérdésekre válaszaim a következők.

Első tématerület

1. Az, hogy nem találtak dokkolt vagy fúzionált vezikulumokat a szinapszisokon kívül, az teljes mértékben kizárja az extraszinaptikus, esetleg extravezikuláris felszabadulást?

Az extraszinaptikus vezikulák hiánya a mintáinkban nem zárja ki, hogy ne lehetne mégis néhány vezikula, amelyek esetleg mégis a szinapszistól távolabb szabadul fel. Mi ilyet nem találtunk, de ezt 100%-osan kizárni aligha volna lehetséges. Ugyanakkor eredményünk azt mutatja, hogy a vezikuláris felszabadulás szinte kizárólag vagy akár teljesen szinaptikusan valósul meg a hippocampusban.

A nem-vezikuláris (extravezikuláris) felszabadulás lehetőségét korábban valóban feltételezték néhány munkában a hetvenes éve óta, így muslincában, T lymphocytákban és elektromos rája izomszinapszisában kimutatták egy mediatofores elnevezett molekula jelenlétét, aminek segítségével az acetilkolin ürülhet nem vezikulárisan. Emlős idegrendszeri szinapszisok esetében ilyen tanulmányt nem ismerek. De még ha elő is fordulna ez az emlős idegrendszerben, akkor is csekély hozzájárulás feltételezhető az ezekben a szinapszisokban megfigyelt gyors, pontosan időzített és hatékony jelátvitelhez képest, melyet nem vezikuláris jelátvitellel nem lehetne elérni.

A kérdés ugyanakkor azt sugallja, hogy meglepőnek látszik eredményeink azon következtetése, mely a nem szinaptikus ürülés hiányát állapítja meg, miközben sok irodalmi adat utal a kolinerg ingerületátvitel esetén térfogati transzmisszióra. Ugyanakkor, hadd irányítsam a figyelmet arra a tényre, hogy ezzel nem próbáljuk cáfolni térfogati transzmisszióra vonatkozó elméleteket. Csupán annak igazolása látható eredményeinkből, hogy a hippocampális kolinerg jelátvitel -az általános szakirodalmi vélekedéssel szemben- alapvetően szinaptikusan felszabaduló acetilkolintól ered. Így eredményeink nem vitatják hogy az így felszabaduló acetilkolin, erős aktivitás esetén a szinapszisokból túlcsoordulva (spillover) bőségesen eljusson olyan távolabbi nem-szinaptikus területekre és extraszinaptikus receptorokhoz melyek működését a térfogati jelátvitel esetén tartanak fontosnak.

2. Függ-e a kolinerg rostokon végigfutó ingerület paramétereitől, hogy az összetett GABAerg-kolinerg posztzinaptikus válaszban inkább az egyik vagy inkább a másik hatás lesz az erősebb? Másként fogalmazva, lehet-e úgy változtatni pl. az ingerlés frekvenciáját vagy annak mintázatát, hogy inkább a kolinerg vagy inkább a GABAerg vezikula populáció ürüljön?

(A kérdés hasonlósága miatt ez a válaszom hasonló Gábrriel Professor 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 termináisaiban. Mindenesetre, vélhetően feszültség és bizonyos lokális ionkoncentrációk képesek befolyásolni a vezikulák dokkolásának frekvenciáját és ürülését. Ennek vizsgálatára 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, 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+} csatornákhöz kapcsolt GABA és acetilkolin felszabadulás a retinában is szabályozható független módon.

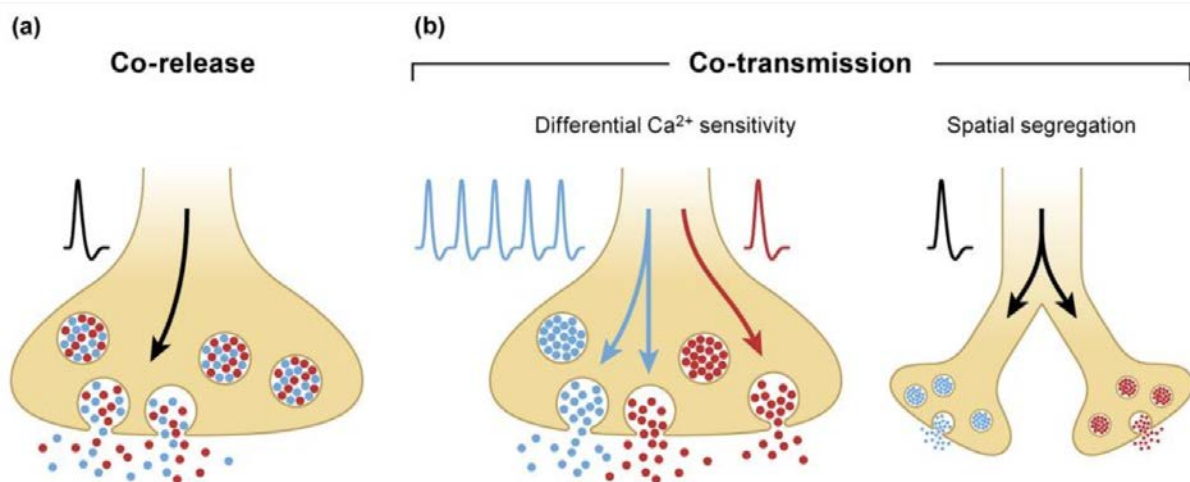
3. Visszatérve a fentebb már érintett kérdésre: teljes mértékben kizárható ezen bazális előagyi eredetű neuronok esetében a nem szinaptikus release?

Hadd utaljak vissza az első kérdésre adott válaszomra. Az extraszinaptikus vezikulák hiánya a mintáinkban nem zárja ki, hogy ne lehetne mégis néhány jelentéktelen számú

vezikula, amelyik esetleg a szinapszisoktól távolabb szabadul fel. Ezt 100%-osan kizárni aligha volna lehetséges. Ugyanakkor eredményünk azt mutatja, hogy a vezikuláris felszabadulás szinte kizárólag vagy akár teljesen szinaptikusan valósul meg a hippocampusban. Ugyanakkor ezzel nem próbáljuk cáfolni térfogati transzmisszióra vonatkozó elméleteket, hiszen a felszabaduló acetilkolin, erős aktivitás esetén a szinapszisokból túlcserélve (spillover) bőségesen eljuthat távolabbi nem-szinaptikus területekre és extraszinaptikus receptorokhoz melyek működését a térfogati jelátvitel esetén tartanak fontosnak.

4. Miután ebben a részben alapvető jelentőségű megállapításokról van szó, különösen, ha arra gondolunk, hogy az idők során a Dale-elvtől (vagy Dale-törvénytől), a Dale- Eccles –féle szabályon át, az itt közölt eredményekig, mennyit változtak ismereteink erről a kérdésről, szeretném, ha pár szóban, (legfeljebb néhány tőmondatban) ismételtlen megvilágítaná alábbi mondatuk lényegét, (rámutatva a kettő különbségére): „We also found that acetylcholine and GABA were not co-released but co-transmitted from the same synaptic active zone”.

Valóban, a korai vizsgálatok az „egy neuron, egy transzmitter” klasszikus hipotéziséhez vezettek, amelyet John Eccles formalizált Dale elvként az ötvenes években. Azonban ma már tudjuk, hogy az agy számos neuronja képes egynél több neurotranszmitter felszabadítására. Vaaga és mtsi. (Curr Opin Neurobiol. 2014 DOI: 10.1016/j.conb.2014.04.010) összefoglaló cikkének 2. ábrája pedig jól szemlélteti a co-release és co-transmissio különbségét.



Az ábrán is demonstrált módon „co-release” esetén (a) mindkét neurotranszmitter (vegyes vörös és kék) ugyanabba a szinaptikus vezikulákba csomagolódik, így egy akciós potenciál a két neurotranszmittert egyszerre szabadítja fel a szinaptikus részbe. Ezzel szemben „co-transmission” esetén a különböző neurotranszmitterek külön szinaptikus vezikulákba kerülnek. Ennek megfelelően lehetőség van arra, hogy különböző Ca²⁺ + érzékenység mellett eltérő tüzelési mintázat a két anyag eltérő felszabadulását eredményezze. (Vaaga et al. Curr Opin Neurobiol. 2014 DOI: 10.1016/j.conb.2014.04.010)

Második tématerület

5. Milyen funkcionális következménye/eredménye lehet egy ilyen közvetlen reciprok kapcsolatnak, amelyet az LHb és az MRR vGluT2-pozitív sejtek között leírtak? Ez tulajdonképpen egy serkentő visszacsatolás, ami feltételezhető egy ellensúlyozó-fékező mechanizmust is. Van ilyen? Mi tartja féken, hogy ne egy kontrollálatlan öngerjesztő kör alakuljon ki?

Valóban megállapítottuk, hogy közvetlen reciprok kapcsolat van az LHb-ba vetítő vGluT2-pozitív MRR idegsejtek és az MRR-ba vetítő vGluT2-pozitív LHb neuronok között. Úgy gondoljuk, hogy ez a MRR és az LHb vGluT2-neuronjai közötti pozitív visszacsatolás fontos szerepet játszhat a negatív élményekre adott azonnali, gyors válaszban, ugyanis a visszacsatolás alkalmas arra, hogy gyorsan emelje e negatív élményekért felelős sejtek kölcsönös aktivitását a kritikus pillanatokban. Ezután mindkét sejtpopuláció a negatív élményeket kódoló mVTA-t is beidegzi, amivel mindkét aktív agyterület párhuzamosan tovább aktiválja a negatív kiértékelésért felelős agyterületeket.

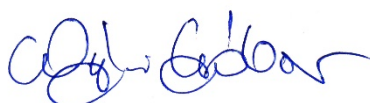
Ellensúlyozó-fékező mechanizmus is létezik ennek túlzott aktivitásának az elkerülésére, mely akár rossz adaptációt jelző pánikreakcióhoz is vezethetnek. A MRR gátlósejtek a MRR sejtjeinek több mint 60%-át adják. Ezek bizonyosan sok különböző típusú helyi és vetítő gátló sejt populációt alkotnak. Későbbi kísérleteink kimutatták, hogy a LHb serkentő rostjai a MRR területén bőségesen célozzák a gátló sejteket is. Valamint később azt találtuk, hogy csupán a LHb serkentő rostjainak MRR-ban való optogenetikai ingerlése önmagában nem vált ki jelentős félelmi reakciót, így nagyon valószínű, hogy a MRR-ban a megfelelő helyi feedforward gátlósejtek képesek fékezni a visszacsatolás erősségét – legalábbis akkor, amikor azok a gátlósejtek már nem kapnak saját maguk is gátlást.

6. Itt ugyan azt mondhatnám el, mint a korábban tett megjegyzésben. Egy, az eredményeket (és a vonatkozó korábbi ismereteket) szintetizáló sematikus ábra nagyban segítette volna a folyamatok megértését.

Valóban tovább növelte volna a szöveg teljességét, ha az összefoglaló ábrákat magyar nyelven is beemelem a rövid értekezés szövegébe. Így csak az eredeti közlemények részeként mellékelem értekezésemhez a 60., 97., 102., 140. és a 158. oldalon található megfelelő publikációkban.

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

Budapest, 2021. május 28.



Nyiri Gábor
vezető kutató