

Válasz Prof. Dobolyi Árpád bírálatára

Dr. Lőrincz László Magor: Fiziológiás és pathológiás állapotfüggő agyi aktivitások mechanizmusai- című MTA Doktori pályamű

Nagyon köszönöm az építő jellegű kritikai megjegyzéseit és támogatását. Kérem, engedje meg, hogy kérdéseire az alábbiakban pontról pontra válaszoljak.

1. Az ébrenlét aktív és nyugodt szakaszainak elkülönítése valóban mind az elsődleges vizuális kéreg mezőpotenciál szinkronitás, mind pedig pupilometria segítségével történt. A nyugodt ébrenléti szakaszokat a szűk pupillaátmérő és a szinkronizált kérgi mezőpotenciálok egyaránt jellemezték. Hasonlóképpen, az aktív ébrenléti szakaszokat a tág pupillaátmérő és a deszinkronizált kérgi mezőpotenciálok egyaránt jellemezték. A szinkronizált mezőpotenciálokkal jellemzett szakaszok és a szűk pupillaátmérő alatt regisztrált mezőpotenciálok teljesítményspektrumai, illetve a deszinkronizált mezőpotenciálokkal jellemzett szakaszok és a tág pupillaátmérő alatt regisztrált mezőpotenciálok teljesítményspektrumai is jelentős hasonlóságot mutattak.

Az autonóm idegrendszer (AI) aktivitás-fluktuációi jól korrelálnak a központi idegrendszer (KI) aktivitásfluktuációival. Jó példa erre a alvás és ébrenlét közötti, illetve a különböző alvástádiumok közötti AI által szabályozott funkciók, mint például légzés, vérnyomás, szívműködés. Mint a legtöbb központi idegrendszeri neuron, az AI sejtjei is minden bizonnyal állapotfüggő aktivitást mutatnak, de ezek aktivitásának direkt regisztrálására és az aktivitás KI állapotokkal való korellálására nem találtam irodalmi adatot.

2. A 29 ábrán bemutatott interneuron egyik első interneuron elvezetésünk volt és történetesen ennek a neuronnak a tüzelési rátája minden előbbi neuronnál magasabb volt. Bár mind a thalamokortikális sejtek, mind az interneuronok átlag tüzelését mindkét állapot esetén kvantifikáltuk, a továbbiakban nem a tüzelési ráta, hanem az irodalomban is elfogadott akciók potenciál tulajdonságok alapján csoportosítottuk a thalamikus neuronokat. Amint a 17. ábrán is látható, vannak viszonylag magas és alacsony tüzelési rátával rendelkező thalamokortikális sejtek is, meg interneuronok is. Itt megjegyezném, hogy az átlag tüzelési ráták meghatározására az alkalmazott juxta-celluláris regisztráció nem a legobjektívebb módszer. Ennek egyik oka, hogy a regisztráció ideje alatt az elektróda hegye nagyon közel helyezkedik el a neuronhoz, azt akár meg is érintheti, így nem zárható ki a neuronális membrán mérsékelt sérülése és ennek következtében a nyugalmi membránpotenciál depolarizációja. A másik oka pedig az, hogy az éber, immobilizált állapotban történő regisztrációkor a rendelkezésünkre álló idő limitált volt, ezért amikor neuronokat „kerestünk” akarva-akaratlanul előnybe részesítettük a magasab alapaktivitással rendelkező neuronokat, hiszen ezek által generált aktivitást könnyebb észre venni.

3. A morfológiailag azonosított neuronok mind fokozottabb aktivitást mutattak aktív ébrenlét alatt, ezért nem tudni, hogy az ébrenlét mértékével nem korreláló thalamokortikális neuronok morfológiájára mi jellemző. Úgyszintén, eredményeink alapján nem jellemezhetők ezen sejtek bemenetei, vetületei sem.

4. A muszkimol beadása az infragranuláris kérgi rétegekbe történt (200 nl, 1 mM). Nem vizsgáltuk a beadott anyag terjedését, mert az oldatba kevert jelölő anyagok terjedése és a muszkimol terjedése valószínűleg nem azonos. A CGL-ben tapasztalt változások alapján azt feltételeztük, hogy a látókéreg kortikothalamikus neuronjainak egy részét a beadott anyag érintette. Valószínű, hogy nem az egész vizuális kéreg lett inaktíválva, de ez nem is volt célunk. Az anyagbeadásos kísérleteknél nem végeztünk V1 mezőpotenciál mérés, az agyi állapotváltozásokat ezekben a kísérletekben kizárólag a pupilometria alapján határoztuk meg. Feltételezzük, hogy az inaktiváció időtartama néhány óráig tartott.

5. A thalamikus réskapcsolatok tekintetében számos ellentmondásos adat született. Barry Connors munkássága alapján tudjuk, hogy rágcslókban a relésejtek között fiatal állatokban viszonylag ritkán található réskapcsolatok, de ezek a fejlődés során eltűnnek és felnőtt állatokra nem jellemzőek annak ellenére, hogy a retikuláris mag GABAerg neuronjai között ezek megmaradnak. A thalamikus neuronok között Cx36 típusú réskapcsolatok találhatóak. *In vitro* macska thalamikus túlélő szövetszeletben végzett intracelluláris regisztrációink során nem ritkák a réskapcsolatokon áterjedt akciós potenciálok jelei, a „spikelet”-ek. Abban az esetben, amikor egy macska CGL szeletben egyetlen TC neuronba injektáltunk intracellulárisan Biocitint az esetek 1/3-a esetén a szeletben további 1 vagy 2 jelölt TC neuront véltünk felfedezni. Lokális interneuronok között ezt soha nem tapasztaltuk. Úgyszintén, nem tapasztaltunk TC neuronok és glia sejtek közötti réskapcsolatokra utaló jeleket. Irodalmi adatok alapján ismert, hogy a thalamikus asztrociták gyakran expresszálnak Cx30-at, az oligodendrociták Cx32-t, valamint Cx47-et és nem ritkák a két sejt típus közötti réskapcsolatok sem (Griemsmann és mtsai., 2015).

6. A használt szaganyagok mind kémiai szerkezetükben, mind a szubjektív illat alapján különbözőek voltak. A következő anyagokat használtuk: S-2-octanol, R-2-octanol (alkohol, édes, föld), amil-acetát (észter, banán), -pinene, + pinene (terpén, fenyő), S-pulegone (monoterpén, borsmenta), diallil szulfid (szerves kén alapú, fokhagyma). A szaganyagokat 1/10-es hígításban paraffinolajba oldottuk be, majd egyszer használatos fecskendőszűrőre csepegtetve bevezettük egy szolenoid szelepbe, innen egy gyűjtőcsőhöz csatlakoztatva, ebben keveredett a szállító áramlattal (900 ml/perc). A szag- és szállító áramlatokat számítógép vezérelt áramlásszabályzó segítségével állítottuk be. A szag- vagy blank inger (szaganyag nélküli paraffin olaj) időzítését szolenoid szelepek biztosították. Egyszerre egyetlen szolenoid szelep volt megnyitva 2 mp-ig, 100 ml/perc áramlási sebesség mellett. Két szaginger között 20 vagy 30 mp telt el.

A neuronok szagválaszainak szerotonerg fotostimuláció általi modulációjának kvantifikálása érdekében a maximális választ kiváltó szagingert vettük figyelembe, de a neuronok szagválaszai meglehetősen heterogének voltak. A neuronok 52%-ában találtunk szignifikáns aktivitásváltozást valamely szagra, a neuronok 48%-a nem mutatott szignifikáns aktivitásváltozást egyik prezentált szaganyagra sem. A legtöbb válaszoló neuron egyetlen szagingerre adott választ (36%), a sejtek 10%-a 2 szagingerre, 6%-a 3 szagra.

7. A raphé mag neuronális heterogenitása, illetve az egyes neuronok kotranszmissziója izgalmas téma. Valószínű, hogy a szaglókéregbe vetítő különböző neurokémiai identitású és eltérő bemeneti mintázatokkal rendelkező raphé neuronok aktivitása más típusú és időzítésű válaszokat eredményez, de ezt nem állt módunkban vizsgálni. Vizsgálatainkhoz a SERT-cre egértörzset használtuk, ugyanis célunk a szerotoninerg moduláció általános jellemzése volt. Nem zárható ki annak lehetősége, hogy a raphé mag fotostimulációjakor a szerotoninnal együtt egyéb neurotranszmitterek is ürültek, de a stimulációs protokollt a szerotonerg hatások monitorozására optimalizáltuk. Az *in vitro* fotostimulációs kísérleteink során egyetlen szaglókérgi interneuronon esetén tudtunk gyors EPSP-t regisztrálni, 5 interneuron esetén lassú 5-HT<sub>2</sub> mediált depolarizációt regisztráltunk, de a principális sejteken csak mérsékelt hiperpolarizáció jelent meg annak ellenére, hogy az exogén szerotonin igen prominens hiperpolarizációt eredményez az összes tesztelt sejt esetén. Összességében elmondható, hogy a szerotonerg rostok elvileg képesek a szerotoninon kívül glutamát és/vagy GABA leadására is aminek lassabb vagy gyorsabb hálózati hatásai a posztzinaptikus neuron identitásától, az expresszált receptoroktól és a stimuláció paramétereitől függ. Az egyes szerotoninerg neuron alcsoportok hatásainak differenciált vizsgálata további vizsgálatokat igényel.

Végül szeretném megköszönni a Professzor Úrnak a bírálat megírásába fektetett munkáját és kérem, fogadja el a kérdéseire adott válaszaimat.

Szeged, 2024. 01. 10.

Tisztelettel:  
Lőrincz L. Magor

