

## Bírálati vélemény

### Dr. Lőrincz László Magor „Fiziológiás és pathológiás állapotfüggő agyi aktivitások mechanizmusai” című MTA Doktori Értekezéséről

Az értekezés 11 „peer review”-d, színvonalas folyóiratban megjelent közleményen alapul. Ebből 4 első, 3 utolsó szerzős, ehhez csatlakozik még 6 review és könyvfejezet. A szöveg, mely 8 témát érint, 87 oldalon 80 ábrát tartalmaz és 19 oldal irodalomjegyzéket.

Az általános benyomásom az volt, hogy az értekezésben bemutatott anyag komoly, hatalmas munka és komoly technikai kihívások állnak mögötte, az Értekezés maga viszont ezt nem tükrözi. Néhány fejezet kivételével a mű hihetetlenül nehezen olvasható, rengeteg (az adatok komplexitását igénylő figyelmen túli) erőfeszítést igényel, mert nem építkeznek egymásra a részek, sok az épphogy érthető, vagy nyelvtanilag hibás mondat, hiányosan feliratozottak az ábrák. A rövidítéseket első használatukkor nem oldja fel a Jelölt, ezért folyton a rövidítéslistához kell lapozni.

Részletesen:

A Bevezető leírja a thalamus és kéreg összetett kapcsolatrendszerét, primer és asszociációs magokat, illetve a TC neuronok tüzelési mintázatait. Az LTS és tónusos tüzelés mellett a más mechanizmussal keletkező HT tüzelési mintázatot is, melyet ébrenlét alatt lehet elvezetni, szemben az alvás alatt megjelenő LTSel. Tárgyalja a kéreg-thalamusz rendszerben kialakuló egészséges és kóros oszcillációkat. Fontosnak tarja az ezeket megalapozó sejtszintű és kapcsolat függő folyamatok feltárását.

Sajnos a szövegben nem vehető ki egy, a korábbi eredményekből a kérdésekhez vezető ív, melyet az Olvasó követhetne. Nem derül ki mi a dolgozat vezérfonala, minek alapján vannak felfűzve a kérdések és a kísérletek. Az ábrák több segítő feliratot igényelnek, a szöveg nehezen követhető.

A **Céliküzések** 8 egy mondatos pontba szedett felsorolás. 5 thalamuszhoz kapcsolódó kérdés, két agykérgi, és egy raphe-laterális hipotalamusz kölcsönhatáshoz kapcsolódó kérdés. A 8 pontból ki lehet olvasni, hogy a dolgozat célja a ritmikus aktivitásmintázatok generálási mechanizmusainak megértése, de az olvasót sokban segítené ennek explicit megfogalmazása, illetve, hogy miért pont ezek a kérdések.

A **Módszerek** fejezet figyelemre méltó technikai fegyvertárat sorol fel. In vivo, in vitro egysejt és populációs elektrofiziológia a thalamusz az agykéreg és az agytörzs területein. Altatott és szabadon mozgó állatban anyagbeadással kombinált hegyeselektrodás és sokcsatornás multiunit elvezetés. A modern optogenetikai és vírus jelöléses technológiák professzionális használatát láthatjuk. Apróbb pongyolaságok itt is találhatóak.

**Az Eredmények:**

Nem tagadom itt a Jelölt tézisfűzetéből emeltem át az eredmények összefoglalását mivel az jobban összefoglalta eredményeket, mint ahogy azt én tenném.

1. A jelölt éber egereken vizsgálta a thalamikus neuronális állapotfüggését. Kiderült, hogy a morfológiailag és fiziológiailag azonosított thalamokortikális sejtek aktivitása az ébrenlét mértékével egyenesen arányosan, a fiziológiailag azonosított lokális interneuronoké pedig fordítottan arányosan változik. In vitro és in vivo elektrofiziológiai vizsgálatokkal bebizonyította, hogy a thalamokortikális neuronok egy része az irodalomból ismert tónusos és alacsony küszöbű kisüléssorozat tüzelésen kívül nyugodt ébrenlét állapotában magas küszöbű kisüléssorozat tüzeléssel jellemezhető.
2. A jelölt in vitro és in vivo elektrofiziológiai módszerek kombinációjával meghatározta az  $\alpha$  oszcillációk keletkezésének celluláris és hálózati mechanizmusait a thalamuszban, illetve ezek lehetséges szerepét a vizuális percepcióban. Kiderült, hogy az  $\alpha$  hullámok alatt ritmikusan aktív thalamokortikális neuronok serkentik a lokális interneuronokat, amelyek fázikusan gátolják a tónusosan tüzelő thalamokortikális neuronokat. A gátlás időzítését a lokális interneuronok membránpotenciálja határozza meg.
3. Intracelluláris regisztráció és farmakológiai módszerek kombinációjával a jelölt kimutatta az agyi infralassú oszcillációk thalamikus mechanizmusait. Az infralassú oszcillációk vélhetően a thalamikus asztrocitákból származó ATP adenzinná való konvertálása során keletkeznek.
4. A jelölt feltárta a kolinerg neuromoduláció agykérgi alvási lassú oszcillációra gyakorolt hatását és meghatározta ennek sejt-specifikus aspektusait.
5. A jelölt in vivo és in vitro elektrofiziológiai módszerek és optogenetika kombinációjával meghatározta a szerotoninerg neuromoduláció szaglókérgi hatásait. Kiderült, hogy a szerotonin a szaglókéreg principális neuronjaira gátló-, lokális interneuronjaira pedig serkentő hatással. Az is kiderült, hogy a dorzális raphé mag szerotoninerg neuronjainak specifikus stimulációja csökkenti a szaglókérgi neuronok spontán aktivitását, de a szagingerekre adott válaszokat nem befolyásolja.
6. A jelölt vizsgálta az agytörzsi raphé mag és a laterális hipothalamusz kölcsönhatásainak szerepe az ébrenlét fenntartásában. Kiderült, hogy a laterális hipothalamusz gátló projekciói a raphé mag GABAerg neuronjait GABA<sub>A</sub> receptorok által gátolják, szerotoninerg neuronjait pedig AMPA/KA glutamát receptorok által serkentik. A GABAerg neuronok gátlása dc\_1964\_21 6 diszinhibíciót eredményez a raphé mag neuronjainak többségében, így a laterális hipothalamikus gátlás alvásból ébredést eredményez.
7. Az absence epilepszia tüske-hullám kisülései létrejöhetnek egyrészt a thalamikus neuronok intrinszek ritmikus kisüléssorozatainak hatására vagy thalamokortikális hálózati mechanizmusok által is. Azt tapasztaltuk, hogy az intrinszek ritmikus kisüléssorozat tüzelés inaktivációja a primer szomatoszenzoros thalamikus relémagban nem állította le a rohamokat, viszont a nucleus reticularis thalami vagy a primer szomatoszenzoros kéreg hasonló kezelése a rohamok gátlásához vezetett. Szimultán sokcsatornás thalamokortikális elvezetések során azt tapasztaltuk, hogy a szomatoszenzoros kéreg roham iniciációs zónájának aktivitásnövekedése számottevően serkenti a nucleus reticularis thalami neuronjait, ami egy előrecsatolt gátlás formájában szinkronizálja a thalamokortikális neuronok aktivitását, ami fontos szerepet játszik a rohamok létrejöttében. Az intrinszek mechanizmusok közül a thalamikus és az agykérgi hiperpolarizáció által aktivált nemspecifikus kationcsatornák játszanak fontos szerepet az iktogenezisban.

Itt teszem meg azt a nyilatkozatot, miszerint az eredmények minden pontját elfogadom, egyedi, új, fontos eredmények, hiteles adatokat tartalmaznak, hiszen a peer review szűrőjén már átestek.

És végül a **Diszkusszió** fejezet: A sokféle eredményt nyilván azok távolsága miatt egyenként tárgyalja, nem igyekszik összefonni az eredmények üzenetét. Ennek megfelelően mértéktartó, kizárólag az eredményeken alapul.

Mindezek alapján, az alant felsorolt kérdések megválaszolása, és amennyiben még lehetséges az ábrák és a szöveg érthetőbbé tétele után, a tézist vitára alkalmasnak tartom.

Dr. Gulyás Attila

Budapest 2023 november 27

Az MTA doktora

**Bevezetés:**

11. oldal: „Annak ellenére, hogy számos tanulmány vizsgálta már a  $\theta$  és a lassú oszcillációk celluláris és hálózati mechanizmusait, az  $\alpha$  és  $\theta$  oszcillációk szerepe és keletkezésük mechanizmusai kevésbé ismertek.” Nem teljesen világos a mondat. Az elején úgy tűnik theta és lassú oszcilláció két különböző dolog, a második felében alfa és theta keletkezési mechanizmusról beszél. Később a lassú hullámokról. A tézisekben  $\alpha$ , infralassú és  $\theta$  oszcillációkat említ. A célkitűzésekben  $\theta$  nem szerepel. Akkor most a  $\theta$ , a lassú és az infralassú megegyezik? Vagy kizárásos alapon a célkitűzések 5. pontja alapján a  $\theta$ , megegyezik a lassú oszcillációval? De az első mondatban ÉS szerepel. Mit ért a Jelölt lassú és ultralassú oszcilláció alatt a deltát? A szöveg deltát sehol sem említ.

2. ábra: Hasznos lett volna feltüntetni, hogy az alsó és felső panel milyen állapotokat mutat, ne csak az ábramagyarázatból lehessen kibogarászni.

3. ábra: Egy sematikusabb ábra hasznosabb lett volna, a valóságos dendrit és axonfák közül nehéz kibogarászni a kapcsolati motívumokat. A nehezen dekódolható ábrarész azután még többször előfordul alkotóelemként.

4. ábra: A laikus olvasónak nem derül ki, hogy a PO és a VB magok közül melyik primer és melyik asszociációs. Egy a különböző magtípusokat és vetítéseiket bemutató ábrán ennek egyértelműnek kellene lennie.

14. oldal és még sok máshol: A sokat használt intrinszek kifejezést még nem hallottam, az akadémiai szótár se tartalmazza. Sejttem nem így írják magyarul. Javaslom a „saját” vagy „belső” kifejezések használatát az egész dolgozatban.

12. ábra: a humán és a patkány modell absence epilepsziát hasonlítja össze. Az egyik egy fMRI ábra, a másik sok csatornás EEG. Ráadásul az agyterületek azonosítására más rövidítéseket használ a két ábrafelé. Ember legyen a talpán, akinek nyilvánvaló a hasonlóság. Egy ábramagyarázat segített volna.

Másik szóhasználati észrevétel: „hipopolarizált”. A hiperpolarizált ellentétéként használja, helyes, de erre általában a depolarizált kifejezést használja az irodalom. A google 10 versus 3800 találatot adott a két magyar változatra. Az angol megfelelőkre számos nagyságrenddel nagyobb különbséget adott (227 vs. 4 millió).

**Módszerek:** Az 5-el számozott módszerek fejezet számos alfejezete 3.x számozást visel, pongyolaság.

**Eredmények:**

6.1.2

24. ábra: Nem értem a szimultán kifejezést. Az alfa és a lassú oszcilláció két eltérő agyi állapotban jelenik meg. Magyarázatot igényelne az is, hogy a felső nyomok kinagyított részei az alsók.

25. ábra? Mi látható az egyes ábrarészekben? FFT: melyik szakaszon mi történik?

in vitro CGL kísérlet: Egy a témával akutan nem foglalkozó számára a szövegből nem világos milyen neuronális kapcsolatok vannak egy in vitro szeletben? Azaz milyen kontextusban kell elképzelni a farmakológiai hatásra kialakuló alfa aktivitást?

26. ábra: nagyon rövid a baseline? Nem látom mennyire szignifikáns a hatás! Tapasztalataim szerint a szelet oszcillációk nagy időbeli és szeletek közötti variabilitást mutatnak.

Állíthatjuk, hogy erősebb oszcilláció nagyobb frekvenciájú volt? Az Amp-fr összefüggés mondhat valamit a generálási mechanizmusról. Vizsgálták ezt?

41.o: „, Meglepő módon, az átlagolt mezőpotenciál amplitúdója szignifikánsan alacsonyabb volt akkor, amikor egyetlen ritmikusan tüzelő sejt aktivitását korlátoztuk.” Ezt az állítást az ábra nem támasztja alá. Nincs kvantifikálás, nem meggyőző, hogy a Vm és EEG ingadozás mennyire esetlegesen korrelál.

35. ábra: A Bn a kék a spikleteket jelöli? A szöveg nem említi. Honnan jönnek a spikletek? Más a fázisuk, mint az APknak és kétszer annyi csúcsuk van. A 35 B és a 37 ábrán az AP csúcs és EEG fázis nem egyezik.

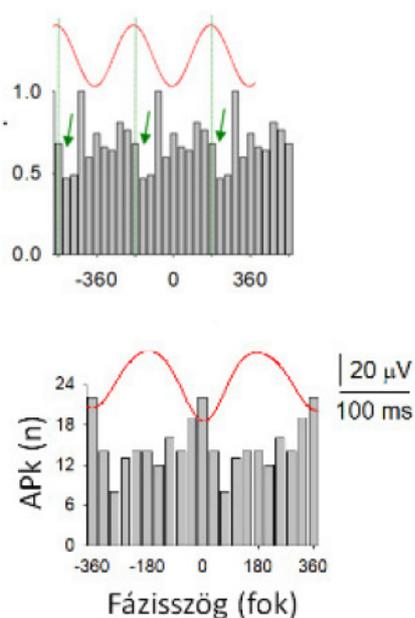
36. ábra és szöveg: Mi az az alfa sűrűség/denzitás amit a PZP csökkentett? frekvencia?

6.1.3:

Miért ez az alcím?: lehetséges szerepei. A fejezet a sejtek tüzelési tulajdonságairól beszél, a serkentés és gátlás időzítéséről.

38.ábra: mit jeleznek a kis piros nyilak?

Miben más a 37 és a 39 ábra? Azt leszámítva, hogy más konklúziót mutat be, ugyanazokban a rendszerekben: 39 tónusos és a 37 tónusos nem ugyanott tüzel?



A 40. ábrán vagy össze vannak cserélve a panelek vagy nem a szövegben írt konklúziót mutatja. Az in vivo fázisos és ellenfázisos ábrákon ugyanott van az AP csökkenés. Illetve ellentétes dolgokat mutat az in vivo és in vitro....

45.o alja: „Az aktivitáscsökkenés és a membránpotenciál hiperpolarizációja alapján aktív inhibíció jelenlétét feltételeztük.” Az eddigiek alapján ezt nem igazolja semmi. 3 mondattal lejjebb már említenek IPSPket. A gondolatmenetet át kellene rendezni, hogy az eredményeket kövesse a következtetések levonása.

42. ábra: Mennyire jellegzetes a két IPSP alak? Az A-n szépen szummálódó (vagy nagy egyedi), lassú IPSPk látszanak a B-n sok, nem pontosan időzített gyors IPSP. Ez csak esetleges a két ábrán elvezetett sejt esetében, vagy trendszerű?

47.o. eleje: „a tónusosan tüzelő thalamokortikális sejtek  $\alpha$  hullámokkal való fáziskapcsoltsága majdnem teljesen megszűnik akkor, ha blokkoljuk a GABA<sub>A</sub> receptorokat ” Mi történik a HT sejtekkel?

#### 6.1.4

A címben említeni illene, hogy in vitro mérésekről van szó.

„A kolinerg aktiváció a thalamikus hálózatban az  $\alpha$  oszcillációk mellett egy ún. infralassú oszcillációt (<0.1 Hz) is generálhat,” Az állítás in vitro vagy in vivo esetre igaz? In vivo honnan tudjuk, hogy kolinerg aktiváció van? Nem ez a lassú oszcilláció nyilvánul meg a 35. ábrán a megkérdőjelezett állapotváltozások okaként?

In vitro hippokampuszban a túl magas kolinerg tónus gammalepsziát válthat ki, közel gamma frekvenciával érkező kisüléssorozatok. Az ábrán mutatott periodikus változás nem valami ciklikus epilepszia-depresszió ciklus? Ezt a K<sup>+</sup> csatornák megnyílása is támogathatja. Számomra az 51.oldalon említett ritmikusan felszabaduló adozin is erre utal. Az adozin receptorok blokkolása megszünteti az oszcillációt, mert kikapcsolják a patológiás aktivitást megállító biztosítékot.

„Tehát az infralassú oszcillációt valószínűleg nem a TC neuronok intrinszek konduktanciái, hanem valamilyen külső tényezők.” A mondat nyelvtanilag helytelen, nincs ige a mellékmondatban, „okozzák”?

48. ábra „. Infralassú és a TC neuronok membránpotenciáljának a kapcsolata.” Az infralassú után vélem hiányzik az oszcilláció szó.

#### 6.1.5

51-52. ábra diszkusziójában az RS sejteknél a szöveg, mint az ábra is két eloszlást említ. Az IB sejteknél is két eloszlás van az ábrán, de a szöveg csak egyféle sejtről beszél. Miért?

53. ábra: Az LFP mire van átlagolva? A szkopolaminos esetben két kisebb csúcs van, ezt hogy kell értelmezni? Vagy annyira gyorsult az oszcilláció, hogy két egymás utáni csúcs látszik? A B rész 3 frekvencia eloszlás ábrájának a skálázása miatt kivehetetlen a domináns frekvencia.

56. ábra: Mi a különbség a hálózat meghajtó és a korai tüzelésű neuronok között? A szövegben előbb beszél a korairó majd a hálózat meghajtóról, az ábrákon meg fordított a sorrend. A korait miért az RS-ekkel veti össze a hálózatmeghajtót meg az IB-vel?

57. ábra: Hiányolok egy lassú oszcilláció-AP korrelogramot, ez sokat mondana a sejtek tüzelésének szerepéről.

58. o: „A kolinerg receptorok aktiválása során keletkezett lassú oszcilláció során tehát a kérgi principális neuronok és a lokális interneuronok egyaránt aktívak, így feltételezhetően nem a csökkent gátlás hatására fellépő epileptikus aktivitás következménye.” Nem világos milyen csökkent gátlásról van szó. Mi okoz ilyet és hol?

illetve: „A kolinerg aktiváció hatására létrejött lassú oszcilláció során a kérgi hálózat aktivációja nem volt teljes, ugyanis noredrenalin hatására az addig szinkron lassú hullámokkal jellemezhető LFP deszinkroniált, a neuronok membrénpotenciál hiperpolarizációja csökkent, aminek következtében aktivitásuk tónusos tüzeléssé alakult.” Ez megmagyarázható lenne serkentés csökkenéssel is, nem indulnak be a gátlósejtek. Mi szól ez ellen? Vezettek el gátlósejtekből?

6.1.6-7: A többtől teljesen eltérő. Jól megírt, olvasható, üdítő két fejezet. Mintaként szolgálhatna az egész dolgozat számára.

6.1.8: A szövegből nem derül ki honnan történtek az elvezetések. Honnan vágta in vitro szeletet és annak melyik részéből vezettek el. Nem szerepelnek elemszámok a 72. ábra eredményeinél, a „jelentős résznél” még százalék sem.

### 6.2.1

71.o eleje: „Kísérleteink során 139 TC neuron aktivitását monitoroztuk; akcióspotenciáljaik időtartama  $11.5 \pm 4.4$  s volt.” Nem érthető! Vélem a roham alatti tüzelési szakaszok időtartalma lehet a 11sec. Mit jelent a tónusos és kisüléssorozatos? Ez a roham típusokat vagy a sejtek tüzelési típusát azonosítja? Az SWD rövidítésért megint lapozgatni kell. A 74. ábrán szinte semmi felirat. Az aláírásból bizonyos dolgok kiderülnek, de sok minden nem.