



Válasz Prof. Dr. Kisvárday Zoltán

Pál Balázs „*Ioncsatornákon és gliasejteken érvényesülő neuromodulációs mechanizmusok hatása az idegrendszeri excitabilitásra*” című MTA doktori értekezésének

bírálatára

Tisztelt Prof. Dr. Kisvárday Zoltán!

Először is szeretném megköszönni a részletes, precíz bírálatot és a kérdéseket, bírálati pontokat, amelyek segítettek nekem egy kicsit más szempontból szemlélni eddigi munkámat. Hiszem, hogy mindezek a jövőbeli kutatási irányok meghatározásához, eredményesebbé tételéhez is hozzájárulnak.

Az értekezés szerkezete, a vizsgált struktúrák sokfélesége miatt szerteágazóak. Ennek az áll a háttérében, hogy a PhD védésem óta, posztdoktorként végzett munkámat, projektjeimet is szerettem volna megmutatni. Az egyik fontos hozzájárulásom az ANO2/TMEM16B knockout egér első elektrofiziológiai vizsgálata volt, amit Prof. Thomas Jentsch laboratóriumában (MDC/FMP, Berlin, Németország). A bemutatott, szaglóhámon végzett vizsgálatok mellett előkísérletes adatokat nyertem a retináról is. A központi idegrendszeri vonatkozásokat itt nem vizsgáltam, pedig ez is releváns volna az idegrendszeri excitabilitás szabályozásának megismeréséhez. A hippocampusban és a septum lateralisban is kimutatták, hogy ez az ioncsatorna az akcióspotenciál-tüzelést és a serkentő szinaptikus neurotranszmissziót is szabályozza (Huang és mtsai, 2012; Wang és mtsai, 2019; Lee és mtsai, 2023). A hallópálya vizsgálata a debreceni, Prof. Szücs Géza és Dr. Rusznák Zoltán által irányított laboratórium kutatási témája volt. Az én hozzájárulásom ehhez, és egyéni érdeklődésem a nagyobb témán belül a hallópálya kolinerg neuromodulációjának vizsgálata volt. A kolinerg és további más neuromodulációs hatások vizsgálatát, immár önálló kutatási területként egy olyan, ugyancsak agytörzsi struktúrán folytattam, ami számos neurológiai,



neuropszichiátriai megbetegedés esetén relevánsabb. Ez a retikuláris aktivációs rendszer és az ezen belül is kiemelten vizsgált mag, a nucleus pedunculo pontinus (PPN) volt. Az egyik főbb megállapításunk az volt a struktúra neuromodulációs szabályozásával kapcsolatban, hogy annak egy jelentősebb része asztrocita-függő. Ez vezetett arra, hogy az asztrocita-neuron kommunikáció elektrofiziológiai módszerekkel tetten érhető részének általános vizsgálatával folytassam a munkámat, efelé irányítsam a laboratórium fő profilját.

A Bíráló kérdéseire az alábbiakban kívánok válaszolni.

1. A disszertációban elsősorban egereket használtak vad és génmódosított törzseket. Más állatfajokban végeztek-e hasonló vagy azonos típusú összehasonlító vizsgálatokat?

A nucleus pedunculo pontinusról (PPN) megjelent korai tanulmányokban általános volt a patkány, mint kísérleti állat használata (Kang és Kitai, 1990; Kamondi és mtsai, 1992; Saitoh és mtsai, 2003). A patkányon végzett tanulmányok a PPN három funkcionális sejttypusát mutatták be. A mi (és mások) egéren készült tanulmánya ezt a három funkcionális sejttypust egy negyedikkel kiegészítette, de alapvetően megerősítette a korábban feltárt sejttypusok létét (Kang és Kitai, 1990; Kamondi és mtsai, 1992; Saitoh és mtsai, 2003). Az egyes sejttypusok aránya ugyan eltérő a mi és a patkányon készült tanulmányban, ami potenciális interspecies különbség is lehet, de leglényegesebben az áll a háttérben, hogy az első idézett tanulmány valamennyi PPN neuront bevonta a vizsgálatába, mi pedig kizárólag a kolinerg neuronokat (Baksa és mtsai, 2019).

A macska mint kísérleti állat szintén jelentős a PPN kutatásában, mert a mesencephalicus locomotor rendszer részeként betöltött szerepét először macskán végzett *in vivo* ingerléses kísérletek segítségével írták le (Shik és mtsai, 1969; Ryczko és Dubuc, 2013). Ritkán ugyan, de egyes újabb kombinált funkcionális és morfológiai tanulmányok is használnak macskát kísérleti állatként (Opris és mtsai, 2019).

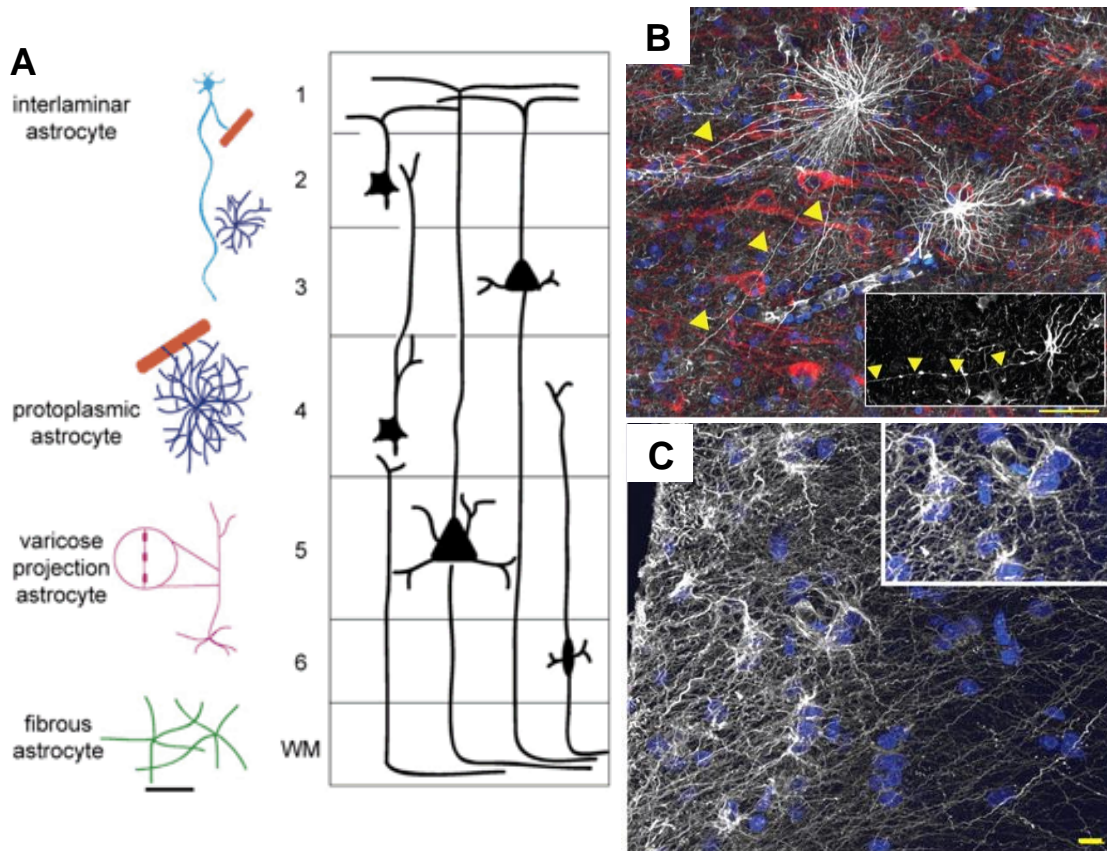


A hallópályán végzett vizsgálatainkat patkányon folytattuk le (Pál és mtsai, 2009). A későbbi kísérletek során azért döntöttünk az egér mellett, mert a transzgén egerek szélesebb körben voltak elérhetőek és az állat fejének a mérete *ex vivo*, szelet elektrofiziológiai kísérletekben nem számított.

A transzgén technikák elérhetőségéből származó előnyt leszámítva, nem szükségszerűen az egér a legideálisabb állatmodell azon struktúrák vizsgálatához, amelyek az alvás-ébrenlét ciklusokat szabályozzák. Az egérben a régióban található kolinerg neuronok száma jóval alacsonyabb (magonként 578 ± 50 ; Li és mtsai, 2018), mint az emberben (mintegy 20.000 a mesopontin régióban, ebből 17.000 a PPN-ben mindkét oldalon; Manaye és mtsai, 1999), és az egér –szemben az emberrel- éjszakai életmódot folytat. Talán megfelelőbb állatmodell volna két mókuscickány faj összehasonlító vizsgálata. A mókuscickányokat rendszertanilag egy ideig a főemlősök közé sorolták (elsősorban a központi idegrendszeri hasonlóságok miatt), kísérleti állatként a *Tupaia glis* szokványosan használt (Nowak, 1999; Tucholski és mtsai, 2014). Nagyon hasonló fajok léteznek, amelyek között a leglényegesebb különbség, hogy sok közülük (pl. a *Tupaia glis*) nappali, a nyílfarkú mókuscickány (*Ptilocercus lowii*) éjszakai állat (Helgen, 2005). Az utóbbi faj kísérleti állatként való elérhetőségéről –egy hivatkozás kivételével- nincs információ (Simmons, 1979).

Humán agytörzs funkcionális vizsgálatra nem elérhető, ezért a legrelevánsabb humán vizsgálatokat post mortem mintákon lenne érdemes végezni (és ezeket összevetni az állatkísérletes morfológiai és funkcionális adatokkal).

Az asztrociták vizsgálatánál talán még lényegesebb az interspecies különbségek figyelembe vétele. Filogenetikailag jelentős változásokat látunk az asztrociták morfológiájában és funkciójában csakúgy, mint az asztrocita-neuron arányban (*C. elegans*ban a glia/neuron arány 0,18; a patkány cortexben 0,4; a humán cortexben 1,4; Oberheim és mtsai., 2009; 2012; Ciani és mtsai, 2024). A főemlős és humán asztrocitáknak számos olyan jellegzetes és csak ezekre a fajokra jellemző altípusa van, mint az interlamináris és varikózus projekciós asztrociták (ld.1. ábra; Vasile és mtsai, 2017).



1.ábra. A humán neocorticalis asztróciták jellegzetességei. A. Az asztrócita típusok sémás rajza (Vasile és mtsai, 2017). B. Varikózus projekciós asztróciták humán mintában (fehér: GFAP jelölés; kalibráció: 50 μ m; Oberheim és mtsai, 2009). C. Interlamináris asztróciták (fehér: GFAP jelölés; kalibráció: 100 μ m; Oberheim és mtsai, 2009)

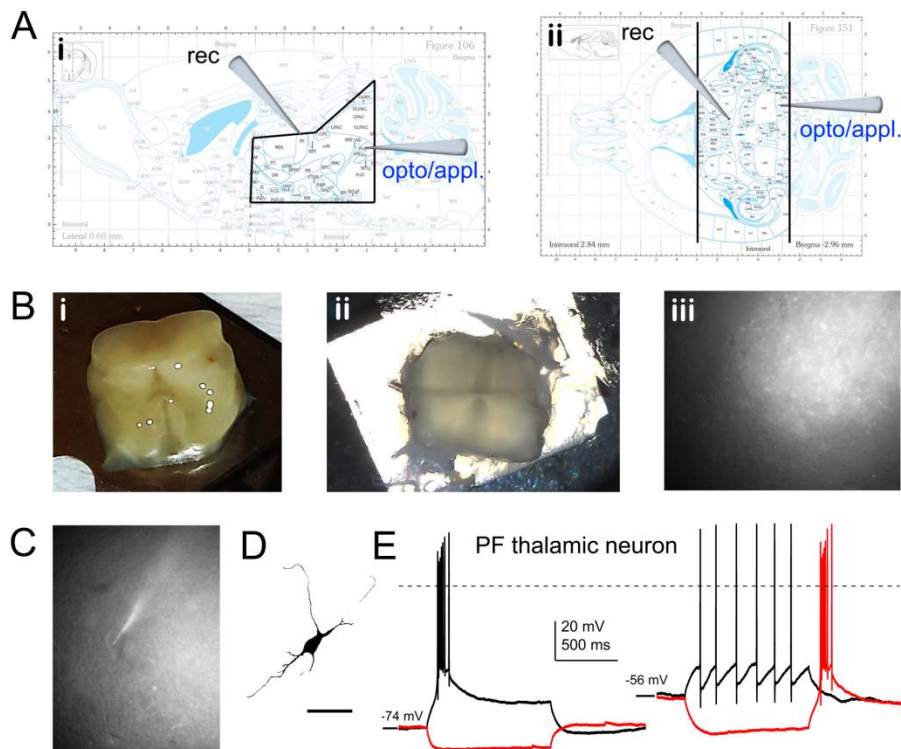
A humán asztróciták kalciumhullámainak terjedési sebessége is meghaladja a rágcsálókban megfigyelteket (Oberheim és mtsai, 2009). Ezen fontos különbségek miatt fordult a mi figyelmünk is a humán minták felé. A humán minták használatával megállapítottuk, hogy a humán SIC-ek paraméterei szignifikánsan különböznek az egéren mértékétől, a korfüggés és a szinaptikus plaszticitásra gyakorolt hatás is gyökeresen más (Csemer és mtsai, 2023). Mivel műtéti anyagokban elérhetőek a humán asztróciták funkcionális vizsgálatokra, a transzgén egérmodellek mellett –szemben az agytörzsi vizsgálatokkal- csak speciális esetekben gondolnám hasznosnak más állatmodellek bevonását.



2. Vékony szelet in vitro preparátumok (200 um vastag) kétségtelenül előnyösek a fenntarthatóság szempontjából, de minél vékonyabb a szelet annál jobban megfosztott az oda érkező idegrostoktól. Az ilyen preparátumból származó eredmény interpretálása során figyelembe vették-e a depriváltságot?

A vékonyszelet-preparátum nagy előnyei közé tartozik az egyszerűsége és a relatíve jó túlélése. Ezzel szemben nagy hátránya a távolabbi szinaptikus kapcsolatok és nagyobb hálózatok sérülése. Munkánk során szomatodendritikus lokalizációjú ionszatórnákkal vagy asztrocita-neuron kapcsolatokkal foglalkozva egyetlen hátrányát láttuk a vékonyszeletnek: az általunk vizsgált neuron nyúlványrendszerének az elkerülhetetlen sérülését. Különböző nyúlványok sérülése esetén különböző stratégiát követtünk az adatok feldolgozásakor. Fő dendrit sérülésekor a vizsgált neuront a tanulmányból kizártuk. Ennek az volt az oka, hogy a nyúlványrendszer egy fontos elemének elvesztése a membránsajátságokat kritikusán befolyásolhatja (pl. Stelescu és mtsai, 2012). Mivel egy ilyen sérülés befolyásolta a neuron életképességét és a giga-seal fenntarthatóságát, ilyen esetek szerencsére ritkán fordultak elő. Sokkal általánosabb volt az axon elvágása. Ez elkerülhetetlen volt coronalis szelet esetében, mert a PPN kolinerg neuronok axonjai (helyi kollateralisokat leszámítva) rostrocaudalisán futnak (sok esetben egy rostralis és egy caudalis collateralis ad ugyanazon neuron; Mena-Segovia és mtsai, 2008; ld. Mena-Segovia és Bolam, 2017). Az axon sérülése miatt nem zártuk ki a neuront a tanulmányokból, de a morfológiai analízisnél csak szomatodendritikus morfológiáról tudunk nyilatkozni (Baksa és mtsai, 2019; Dautan és mtsai, 2021).

Egy potenciális kísérletnél lehetett limitáló tényező a nagyobb hálózatok sérülése. A spontán szinaptikus események frekvenciáját valószínűleg csökkentette a hálózatok megszakadása. Ennek megoldására közepagi blokkokat kezdtünk alkalmazni (2. ábra), ami viszont a preparátum számát és annak fenntarthatóságát limitálta (állatonként maximum egy mérést lehetett csinálni). Egy esetben nem tudtuk elkerülni a blokkpreparátum használatát: a nucleus laterodorsalis tegmentalis optogenetikai stimulációja és párhuzamosan a PPN-ben történő M-áram mérése esetén (24. ábra a disszertációban, Bayasgalan és mtsai, 2021).



2.ábra. A thalamust és a középagyat is tartalmazó blokkpreparátumot bemutató előkísérletek. A. A mérőelektroda (rec) és az optogenetikai ingerlő optikai szál (opto/appl) helyét és a blokkpreparátum kiterjedését bemutató séma a Paxinos atlasz alapján parasagittalis (i) és horizontális (ii) síkokban. **B.** A blokkpreparátum képe (i-ii). A thalamus felszíne fluoreszcens mikroszkóp alatt. A fluoreszcens jelölés a kolin-acetiltransferáz-függően sárga fluoreszcens proteint (YFP) expresszáló axon terminálisoknak felel meg (iii). **C-E.** Mérés egy nucleus parafascicularis neuronon. **C-D.** A neuron in situ képe és kontúrjai (kalibrációs egyenes: 50 μ m). **E.** Repräsentatív feszültségmérések -30 (piros) és +100 pA (fekete) áraminjekciók alatt.

3. *Nagyon elegáns és előremutató paradigmának tartom a kettős elvezetést ugyanaból a sejtből. Sajnos a kettős elvezetés technikai nehézsége miatt ritkán találkozni vele még in vitro kísérletekben is. Kérdésem, a szómától mi volt a legnagyobb távolság sikeres páros méréssel és mi a leginkább limitáló tényező?*



A páros elvezetés technikáját először Dr. Marco Capogna laboratóriumában (MRC ANU, Oxford) volt alkalmam először látni és megtanulni. Bár az akkor született társszerzős cikkemhez történő hozzájárulásom nem ez volt, de néhány mérést én is végezhettem (Elfant és mtsai, 2008).

Páros elvezetést két helyen szerepeltettem a disszertációban. Az egyik annak vizsgálata volt, hogy a SIC-ek szinkronizálják-e a szomszédos kolinerg neuronokat, mint azt több tanulmány is bemutatta diencephalikus struktúrákban és a cortexben (40. ábra; ld. Pál, 2024). Az itt szereplő mérések jó része Dr. Kovács Adrienn munkája, aki PhD hallgatóként és posztdoktorként jól elsajátította a páros mérés technikáját.

A másik mérés a szómán és a dendriten mérhető magas küszöbű membránpotenciál-oscillációk bemutatása volt (33. ábra). A szómától átlagosan $29 \pm 4 \mu\text{m}$ távolságra mértünk (Baksa és mtsai, 2019), a legnagyobb távolság $58 \mu\text{m}$ volt.

A páros mérések valamennyi esetében a tdTomato fluoreszcens jelölő molekula segítette a vizsgált struktúrák megtalálását. Bár szomatikus patch clamp-hez nem feltétlenül lett volna szükség rá, a kolinerg neuronok mérés közbeni azonosításához elengedhetetlen volt.

Dendritikus patch clamp esetén egy gyakran használt kísérletes lehetőség az előzetes szomatikus patch clamp teljes sejtes konfigurációban, ahol a neuron feltöltődik fluoreszcens festékkel. Az így láthatóvá tett dendrit megtalálhatóvá vált a szeletben (ld. Johnston és mtsai, 1996; Hu és Vervaeke, 2018). A mi esetünkben a tdTomato fluoreszcens jelölőfehérje a dendritekben is jelen volt. A felszínhez közeli neuronok dendritfájának jó része látszott, nem csak a proximális dendritek. A túl felszínes neuronokat azonban ritkán választottuk a vizsgálataink tárgyául, mert itt valószínűbb volt a neuron nyúlványrendszerének a sérülése. A legfőbb limitáló tényező a dendrit láthatósága volt: ha mélyebbre futott a szeletben, nehéz volt azonosítani és megtalálni. Egy másik fontos limitáló tényező maga a műszerrendszer. A jelen konfiguráció mellett a proximális dendritek voltak számunkra elérhetőek.



4. *A kísérleti eredmények egyik feltűnő tulajdonsága, hogy szinte valamennyi modulációs hatás kevert eredményt adott, amiről a Jelölt úgy fogalmaz, pl. "A PPN kolinerg neuronjai membránsajátságait tekintve nem képeznek homogén populációt" (67.oldal). Másik példa, "...a CB1 receptor aktivációra bekövetkező háromféle neuronális válasz sajátságait vizsgáltuk.." (73.oldal), és még legalább 3 további példát sorolhatnék fel. Tipikusan, vannak idegsejtek, amelyek aktivációt mutatnak, vannak, amelyek szupresszálódnak, és vannak, amelyek nem reagálnak (változatlan membrán potenciál). Mi a véleménye a Jelöltnek a válaszok diverzitásával kapcsolatban?*

A válaszok diverzitása valós jelenség és nem műtermék. Erre a legjobb érvünk, hogy számos farmakológiai manipuláció (mint a különböző metabotróp glutamátreceptorok gátlása) és a CB1 knockout egerek alkalmazása kivédte az egyik vagy mindkét választ. A válaszok diverzitása nem példa nélküli, számos más struktúra sajátsága. A hypothalamus nucleus arcuatusában ismert, hogy a glükóz és az olajsav egyes neuronokat depolarizálnak, másokat hiperpolarizálnak (Silver és Erecinska, 1998; Song és Routh, 2005; Wang és mtsai, 2004; 2006). A nucleus subcoeruleus dorsalisban is leírták a kolinerg hatások hasonló diverzitását. A szerzők itt feltételezték, hogy az egyes neuronok REM alvásban betöltött ellentétes szerepe miatt van ez a kettősség (REM-on, REM-off populációk; Heister és mtsai, 2009). A PPN nem-kolinerg neuronjai in vivo tüzelési sajátságai szerint ugyancsak három, egymástól jellegzetesen elkülönülő populációra oszlanak („csendes”, „tónusos”, „irreguláris”). A „csendes” neuronok kifejezett tüzelési frekvencia emelkedést mutatnak a corticalis deszinkronizáció alatt, a „tónusos” neuronok nem mutattak változást, míg az „irreguláris” neuronok frekvencia emelkedést és csökkenést is mutathattak (Ros és mtsai, 2010).

A diverzitás jelentőségének a mechanisztikus magyarázata egyelőre várat magára. Kimutattuk, hogy neurokémiai sejtípustól független az, hogy egy neuron inkább depolarizálódik vagy hiperpolarizálódik. Kimutattuk azt is, hogy többféle hatás ugyanazt a választ váltja ki egy adott neuronon, tehát ez a hatás egyfajta mGluR-függő közös útvonala a neuromodulációs hatásoknak. Fontos és érdekes jövőbeli feladat lenne a depolarizációt vagy



hiperpolarizációt az adott neuron projekciójával korreláltatni; ez a vizsgálat eddig még nem történt meg. Mivel a PPN neuronok *in vivo* sajátságai szerinti csoportosítások egyike aszerint alakít ki kategóriákat, hogy az alvás-ébrenlét mely fázisaiban (REM, ébrenlét vagy mindkettő) aktív az adott neuron (Boucetta és Jones, 2009; Boucetta és mtsai, 2014), az ezen csoportokkal való korreláltatás is a jövő érdekes feladata lehet. Hasonlóan fontos feladat az *in vivo* tüzelési sajátságok (Ros és mtsai, 2010) és az általunk talált *in vitro* diverz válaszok korrelációinak megismerése.

- 5. Az optogenetikai kísérletekkel kapcsolatban szeretném észrevételezni, hogy a lézerfény által aktivált neuronok tekintetében többféle hatással lehetne számolni. Jó példa erre a disszertációban is érintett astrocita optogenetikai aktivációja, amely mGluR-függő depolarizációt és hiperpolarizációt is kiváltott. Ennek fényében az optogenetikai kísérleti eredményeket célszerű lenne árnyaltabban értékelni. Kérdésem, mi a Jelölt véleménye a megfigyelt diverz hatással kapcsolatban?***

A PPN asztrocitáinak az optogenetikai aktivációja csak részleges hasonlóságot mutatott a neuromodulációs hatások által kiváltott depolarizációval és hiperpolarizációval. A fontos különbség az volt köztük, hogy a depolarizáció nagyobb, a hiperpolarizáció kisebb arányban fordult elő. Ennek a háttérben valószínűleg az áll, hogy az asztrociták által kifejezett channelrhodopsin-2 aktivációja K^+ kiáramláshoz és a környező neuronok depolarizációjához vezet (Octeau és mtsai, 2019). Ezzel a torzítással együtt, legalább részlegesen sikerült reprodukálnunk az asztrociták optogenetikai aktivációjával a neuromodulációs hatások által keltett mGluR-függő depolarizációt és hiperpolarizációt; mivel a különböző mGluR gátlószerek ugyanúgy, szelektíven védtek ki az egyik vagy a másik membránpotenciál-változást.

- 6. A glutamát receptorokkal kapcsolatos SIC (slow inward current) jelek mennyiben feleltethetők meg, illetve hozhatók párhuzamba az LTP/LTD jelenségével? Továbbá,***



kijelenthető-e, hogy a SIC hiánya emberben, tipikusan 70 év után, a tanulási képesség radikális csökkenését, netán megszűnését jelenti?

Tanulmányunkban megmutattuk, hogy a SIC-ek képesek időzítésfüggő szinaptikus plaszticitást kialakítani. Időzítésfüggő módon és valószínűleg a szinapszisnak az asztrocita doménon belüli helyének a függvényében LTP vagy LTD alakulhat ki. Feltehetően ez a jelenség létezik és lejátszódik az egészséges agyban. A jelentősége azonban a SIC-ek alacsony frekvenciája miatt kérdőjelezhető meg. Elképzelhető, hogy a tanuláshoz csak mint a homeosztatisz szinaptikus plaszticitáshoz hozzájáruló egyik mechanizmus vesz részt. A SIC-ek 70 éves kor feletti eltűnése ennek megfelelően valószínűleg valamennyire hozzájárul a kognitív hanyatláshoz, de messze nem az egyetlen mechanizmus (pl. Kuijpers és mtsai, 2022; Marzola és mtsai, 2023). Érdekes lenne azonban a további kutatásokban vizsgálni a jelenség kórélettani vonatkozásait. Pathológiás körülmények között a SIC-ek frekvenciája és az általuk megvalósuló töltésáramlás megnő, ami a szinapszisokra, neuronhálózatokra feltehetően kritikus hatást fejt ki. Ilyenkor a megfigyelt SIC-függő plaszticitás gyakran fordulhat elő. Ennek megfelelően, a SIC-ek életkorfüggő eltűnése bizonyos esetekben akár előnytel is járhat. Ezt az elméletet látszik alátámasztani az a megfigyelés, hogy az életkor előrehaladtával a cortex egyre kevésbé sebezhető a kérgi kúszó depolarizációval (ld. Hertelendy és mtsai, 2019).

7. A disszertáció komplex eredményeinek tükrében kíváncsi vagyok a Jelölt véleményére a formatio retikuláris összetettségével kapcsolatban. Az agytörzs jelentős része a formatio reticuláris, amelynek neve is tükrözi, hogy összeköttetései nem mutatnak jól azonosítható egységeket, mint pl. a hippocampusban, striátumban. Változott-e ez kép az utóbbi időben, láthatók-e szerveződési stratégiák, akár morfológiai, akár funkcionális, akár molekuláris szempontból?

A formatio reticularis részeként a nucleus pedunculo pontinus a vizsgálataink nagy részének a tárgya volt. A nucleus pedunculo pontinus határait a kolinerg neuronok jelenléte alapján ítélni lehet meg. A mag pontos körvonalaiban azonban nem annyira körülhatároltak, mint például a



hippocampus esetében. A nucleus pedunculopontinus és a szomszédos magok között lehetnek átfedések, például a dendritek átnyúlhatnak a szomszédos magokhoz tartozó területekre. A másik jellegzetesség, hogy bár kolinerg, GABAerg és glutamaterg neuronok is vannak a magban, klasszikus értelemben egyik sem tekinthető interneuronnak. Bár kollaterálisokat jól azonosíthatóan leadnak a magon belül is, axonjaik elhagyják a mag területét (Mena-Segovia és Bolam, 2017).

Az általunk vizsgált struktúrák részei nagyobb, ismert hálózatoknak. A nucleus cochlearis a hallópálya agytörzsi szakaszaként ismert (Szücs és Rusznák, 2002), a nucleus pedunculopontinus és a raphe magvak a retikuláris aktivációs rendszer részei, de egymással is reciprok összeköttetésben állnak (Mena-Segovia és Bolam, 2017). A nucleus pedunculopontinus ugyanakkor a mesencephalicus locomotor rendszer része is. A startle reflexben és annak modulációjában részt vevő agytörzsi hálózatok is jól ismertek (Koch, 1999).

A formatio reticularis számos magjának érdekessége ugyanakkor, hogy a relatíve egyszerű felépítésű magok számos, egymástól számunkra eltérőnek látszó folyamatot szabályoznak. A nucleus pedunculopontinus nemcsak az alvás-ébrenlét ciklusokat, hanem az izomtónust és a mozgást, valamint a szenzoros kapuzást is szabályozza (Mena-Segovia és Bolam, 2017). A modern szemlélet szerint többféle folyamat szabályozására úgy képes, hogy a folyamatban levő aktivitást –mint egy mozgás vagy a non-REM alvás- megszakítja, hogy annak a helyét másféle aktivitás vehesse át (Mena-Segovia és Bolam, 2017).

Bizonyos agytörzsi területek általunk is leírt markere a KCNQ4 alegység. Ez az alegység a retikuláris aktivációs rendszer egyes magvaiban, a hallópálya magvaiban, a nervus trigeminus szenzoros magvaiban és a vestibularis magvakban fordul elő (Kharkovets és mtsai, 2000; 2006). Ezeket a látszólag legalább háromféle rendszerhez tartozó magvakat funkcionálisan az fűzi össze, hogy a startle reflex reflexívének kialakításában, vagy annak a modulációjában játszanak szerepet. Ezt a feltételezést funkcionális mérésekkel meg is erősítettük (Bayasgalan és mtsai, 2021; Maamrah és mtsai, 2023).

8. Miért esett Jelölt jövőbeni kutatási fókuszába a PSP szindróma?



A progresszív szupranukleáris parézis (PSP) egy, a Parkinson-kórral átfedő tünetekkel járó neurodegeneratív betegség. Az agytörzs érintettsége motoros tünetekhez vezet (mint akinesia, rigiditás, tremor, startle reflex deficit), amelyek azonban dopamin rezisztensek. A motoros tüneteken túl, a basalis ganglionok és más struktúrák érintettsége miatt kognitív hanyatlás is kialakul (ld. Ichikawa-Escamilla és mtsai, 2024).

Egérmodell használatával kimutatták, hogy a nucleus pedunculo pontinus kolinerg neuronok szelektív elpusztításával a PSP motoros tünetei létrehozhatóak (MacLaren és mtsai, 2018). A kolinerg neuronok pusztulását a tau proteinek a magban való kifejeztetésével elő lehet idézni (King és mtsai, 2021).

Eddigi, in vivo kemogenetikai és viselkedési előkísérleteink alapján úgy tűnik, hogy a krónikus asztrocita aktiváció a nucleus pedunculo pontinusban a kolinerg neuronok nagyarányú pusztulását és a progresszív szupranukleáris parézis motoros tüneteinek a kialakulását eredményezi. Ha rendelkezésünkre áll a betegség egy modellje, a továbbiakban vizsgálhatjuk az asztrocita aktiváció és a kolinerg neuron pusztulás lassításának lehetőségeit.

Végezetül ismételtlen szeretném megköszönni a Bíráló értékes idejét, amit dolgozatom áttekintésére és bírálatára szánt, értékes és érdekes tudományos problémákat előtérbe helyező kérdéseit és pozitív véleményét.

Tisztelettel,

Pál Balázs

Debrecen, 2024. 09. 12.



Irodalomjegyzék

Baksa, B., Kovács, A., Bayasgalan, T., Szentesi, P., Kőszeghy, Á., Szücs, P., Pál, B. (2019). Characterization of functional subgroups among genetically identified cholinergic neurons in the pedunculopontine nucleus. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 76(14), 2799–2815. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03025-4>

Bayasgalan, T., Stupniki, S., Kovács, A., Csemer, A., Szentesi, P., Pocsai, K., Dionisio, L., Spitzmaul, G., Pál, B. (2021). Alteration of mesopontine cholinergic function by the lack of KCNQ4 subunit. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 15, 707789. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.707789>

Boucetta, S., Cissé, Y., Mainville, L., Morales, M., Jones, B. E. (2014). Discharge profiles across the sleep-waking cycle of identified cholinergic, GABAergic, and glutamatergic neurons in the pontomesencephalic tegmentum of the rat. *The Journal of Neuroscience*, 34(13), 4708–4727. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2617-13.2014>

Boucetta, S., Jones, B. E. (2009). Activity profiles of cholinergic and intermingled GABAergic and putative glutamatergic neurons in the pontomesencephalic tegmentum of urethane-anesthetized rats. *The Journal of Neuroscience*, 29(14), 4664–4674. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5502-08.2009>

Ciani, C., Ayub, M., Falcone, C. (2024). Evolution of astrocyte-neuron interactions across species. *Advances in Neurobiology*, 39, 1–17. https://doi.org/10.1007/978-3-031-64839-7_1

Csemer A, Kovács A, Maamrah B, Pocsai K, Korpás K, Klekner Á, Szücs P, Nánási PP, Pál B. (2023) Astrocyte- and NMDA receptor-dependent slow inward currents differently contribute to synaptic plasticity in an age-dependent manner in mouse and human neocortex. *Aging Cell*. 22(9):e13939. doi: 10.1111/acel.13939.



Dautan, D., Kovács, A., Bayasgalan, T., Diaz-Acevedo, M. A., Pal, B., & Mena-Segovia, J. (2021). Modulation of motor behavior by the mesencephalic locomotor region. *Cell reports*, 36(8), 109594. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109594>

Elfant, D., Pál, B. Z., Emptage, N., & Capogna, M. (2008). Specific inhibitory synapses shift the balance from feedforward to feedback inhibition of hippocampal CA1 pyramidal cells. *The European Journal of Neuroscience*, 27(1), 104–113. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.06001.x>

Helgen, K.M. (2005). "Ptilocercus lowii". In Wilson, D.E.; Reeder, D.M (eds.). *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference* (3rd ed.). Johns Hopkins University Press. pp. 108–109. ISBN 978-0-8018-8221-0. OCLC 62265494.

Hertelendy, P., Varga, D. P., Menyhárt, Á., Bari, F., Farkas, E. (2019). Susceptibility of the cerebral cortex to spreading depolarization in neurological disease states: The impact of aging. *Neurochemistry international*, 127, 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.10.010>

Hu, H., Vervaeke, K. (2018). Synaptic integration in cortical inhibitory neuron dendrites. *Neuroscience*, 368, 115–131. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.06.065>

Huang WC, Xiao S, Huang F, Harfe BD, Jan YN, Jan LY. (2012) Calcium-activated chloride channels (CaCCs) regulate action potential and synaptic response in hippocampal neurons.

Ichikawa-Escamilla, E., Velasco-Martínez, R. A., Adalid-Peralta, L. (2024). Progressive supranuclear palsy syndrome: an overview. *IBRO Neuroscience Reports*, 16, 598–608. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2024.04.008>



Johnston, D., Magee, J. C., Colbert, C. M., Cristie, B. R. (1996). Active properties of neuronal dendrites. *Annual Review of Neuroscience*, 19, 165–186.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ne.19.030196.001121>

Kamondi, A., Williams, J. A., Hutcheon, B., Reiner, P. B. (1992). Membrane properties of mesopontine cholinergic neurons studied with the whole-cell patch-clamp technique: implications for behavioral state control. *Journal of Neurophysiology*, 68(4), 1359–1372.
<https://doi.org/10.1152/jn.1992.68.4.1359>

Kharkovets, T., Hardelin, J. P., Safieddine, S., Schweizer, M., El-Amraoui, A., Petit, C., Jentsch, T. J. (2000). KCNQ4, a K⁺ channel mutated in a form of dominant deafness, is expressed in the inner ear and the central auditory pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(8), 4333–4338.
<https://doi.org/10.1073/pnas.97.8.4333>

Kharkovets, T., Dedek, K., Maier, H., Schweizer, M., Khimich, D., Nouvian, R., Vardanyan, V., Leuwer, R., Moser, T., Jentsch, T. J. (2006). Mice with altered KCNQ4 K⁺ channels implicate sensory outer hair cells in human progressive deafness. *The EMBO journal*, 25(3), 642–652. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600951>

King, G., Veros, K. M., MacLaren, D. A. A., Leigh, M. P. K., Spernyak, J. A., Clark, S. D. (2021). Human wildtype tau expression in cholinergic pedunculo-pontine tegmental neurons is sufficient to produce PSP-like behavioural deficits and neuropathology. *The European Journal of Neuroscience*, 54(10), 7688–7709. <https://doi.org/10.1111/ejn.15496>

Koch M. (1999). The neurobiology of startle. *Progress in Neurobiology*, 59(2), 107–128.
[https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(98\)00098-7](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00098-7)

Kuijpers M. (2022). Keeping synapses in shape: degradation pathways in the healthy and aging brain. *Neuronal Signaling*, 6(2), NS20210063. <https://doi.org/10.1042/NS20210063>



Lee D, Lim H, Lee J, Ha GE, No KT, Cheong E. (2023) Intracellular loop in the brain isoforms of Anoctamin 2 channels regulates calcium-dependent activation. *Exp Neurobiol.* 32(3):133-146. doi: 10.5607/en22045.

Li, X., Yu, B., Sun, Q., Zhang, Y., Ren, M., Zhang, X., Li, A., Yuan, J., Madisen, L., Luo, Q., Zeng, H., Gong, H., Qiu, Z. (2018). Generation of a whole-brain atlas for the cholinergic system and mesoscopic projectome analysis of basal forebrain cholinergic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(2), 415–420. <https://doi.org/10.1073/pnas.1703601115>

Maamrah, B., Pocsai, K., Bayasgalan, T., Csemer, A., Pál, B. (2023). KCNQ4 potassium channel subunit deletion leads to exaggerated acoustic startle reflex in mice. *Neuroreport*, 34(4), 232–237. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001883>

MacLaren, D. A. A., Ljungberg, T. L., Griffin, M. E., Clark, S. D. (2018). Pedunculopontine tegmentum cholinergic loss leads to a progressive decline in motor abilities and neuropathological changes resembling progressive supranuclear palsy. *The European Journal of Neuroscience*, 48(12), 3477–3497. <https://doi.org/10.1111/ejn.14212>

Manaye, K. F., Zweig, R., Wu, D., Hersh, L. B., De Lacalle, S., Saper, C. B., German, D. C. (1999). Quantification of cholinergic and select non-cholinergic mesopontine neuronal populations in the human brain. *Neuroscience*, 89(3), 759–770. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(98\)00380-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(98)00380-7)

Marzola, P., Melzer, T., Pavesi, E., Gil-Mohapel, J., Brocardo, P. S. (2023). Exploring the role of neuroplasticity in development, aging, and neurodegeneration. *Brain Sciences*, 13(12), 1610. <https://doi.org/10.3390/brainsci13121610>

Mena-Segovia, J., Bolam, J. P. (2017). Rethinking the pedunculopontine nucleus: from cellular organization to function. *Neuron*, 94(1), 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.02.027>



Mena-Segovia, J., Sims, H. M., Magill, P. J., Bolam, J. P. (2008). Cholinergic brainstem neurons modulate cortical gamma activity during slow oscillations. *The Journal of Physiology*, 586(12), 2947–2960. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.153874>

Neuron. 74(1):179-92. doi: 10.1016/j.neuron.2012.01.033.

Nowak, R. (1999). Walker's mammals of the world (6th Ed.) Vol 1. Baltimore and London: The Johns Hopkins University Press. pp.245-246.

Oberheim, N. A., Goldman, S. A., Nedergaard, M. (2012). Heterogeneity of astrocytic form and function. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 814, 23–45. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-452-0_3

Oberheim, N. A., Takano, T., Han, X., He, W., Lin, J. H., Wang, F., Xu, Q., Wyatt, J. D., Pilcher, W., Ojemann, J. G., Ransom, B. R., Goldman, S. A., Nedergaard, M. (2009). Uniquely hominid features of adult human astrocytes. *The Journal of Neuroscience*, 29(10), 3276–3287. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4707-08.2009>

Octeau, J. C., Gangwani, M. R., Allam, S. L., Tran, D., Huang, S., Hoang-Trong, T. M., Golshani, P., Rumbell, T. H., Kozloski, J. R., Khakh, B. S. (2019). Transient, consequential increases in extracellular potassium ions accompany channelrhodopsin2 excitation. *Cell Reports*, 27(8), 2249–2261.e7. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.04.078>

Opris, I., Dai, X., Johnson, D. M. G., Sanchez, F. J., Villamil, L. M., Xie, S., Lee-Hauser, C. R., Chang, S., Jordan, L. M., Noga, B. R. (2019). Activation of brainstem neurons during mesencephalic locomotor region-evoked locomotion in the cat. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 13, 69. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2019.00069>

Pál B. (2024). On the functions of astrocyte-mediated neuronal slow inward currents. *Neural regeneration research*, 19(12), 2602–2612. <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-23-01723>



Pál, B., Koszeghy, A., Pap, P., Bakondi, G., Pocsai, K., Szucs, G., & Rusznák, Z. (2009). Targets, receptors and effects of muscarinic neuromodulation on giant neurones of the rat dorsal cochlear nucleus. *The European Journal of Neuroscience*, 30(5), 769–782. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06868.x>

Ros, H., Magill, P. J., Moss, J., Bolam, J. P., Mena-Segovia, J. (2010). Distinct types of non-cholinergic pedunculopontine neurons are differentially modulated during global brain states. *Neuroscience*, 170(1), 78–91. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.06.068>

Ryczko, D., Dubuc, R. (2013). The multifunctional mesencephalic locomotor region. *Current Pharmaceutical Design*, 19(24), 4448–4470. <https://doi.org/10.2174/1381612811319240011>

Saitoh, K., Hattori, S., Song, W. J., Isa, T., Takakusaki, K. (2003). Nigral GABAergic inhibition upon cholinergic neurons in the rat pedunculopontine tegmental nucleus. *The European Journal of Neuroscience*, 18(4), 879–886. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02825.x>

Shik, M. L., Severin, F. V., Orlovsky, G. N. (1969). Control of walking and running by means of electrical stimulation of the mesencephalon. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 26(5), 549.

Silver, I. A., Erecińska, M. (1998). Glucose-induced intracellular ion changes in sugar-sensitive hypothalamic neurons. *Journal of Neurophysiology*, 79(4), 1733–1745. <https://doi.org/10.1152/jn.1998.79.4.1733>

Simmons R. M. (1979). "The diencephalon of *Ptilocercus lowii* (pen-tailed tree-shrew)". *Journal fur Hirnforschung*, 20(1), 69–92.

Song, Z., Routh, V. H. (2005). Differential effects of glucose and lactate on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes*, 54(1), 15–22. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.1.15>



Steleescu, A., Sümegi, J., Wéber, I., Birinyi, A., Wolf, E. (2012). Somato-dendritic morphology and dendritic signal transfer properties differentiate between fore- and hindlimb innervating motoneurons in the frog *Rana esculenta*. *BMC Neuroscience*, 13, 68. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-13-68>

Szucs, G., Rusznák, Z. (2002). Cellular regulatory mechanisms influencing the activity of the cochlear nucleus: a review. *Acta Physiologica Hungarica*, 89(4), 375–414. <https://doi.org/10.1556/APhysiol.89.2002.4.1>

Tucholski, J., Pinner, A. L., Simmons, M. S., Meador-Woodruff, J. H. (2014). Evolutionarily conserved pattern of AMPA receptor subunit glycosylation in Mammalian frontal cortex. *PloS One*, 9(4), e94255. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094255>

Vasile, F., Dossi, E., Rouach, N. (2017). Human astrocytes: structure and functions in the healthy brain. *Brain Structure & Function*, 222(5), 2017–2029. <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1383-5>

Wang L, Simms J, Peters CJ, Tynan-La Fontaine M, Li K, Gill TM, Jan YN, Jan LY. (2019) TMEM16B calcium-activated chloride channels regulate action potential firing in lateral septum and aggression in male mice. *J Neurosci*. 39(36):7102-7117. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3137-18.2019.

Wang, R., Cruciani-Guglielmacci, C., Migrenne, S., Magnan, C., Cotero, V. E., Routh, V. H. (2006). Effects of oleic acid on distinct populations of neurons in the hypothalamic arcuate nucleus are dependent on extracellular glucose levels. *Journal of Neurophysiology*, 95(3), 1491–1498. <https://doi.org/10.1152/jn.00697.2005>

Wang, R., Liu, X., Hentges, S. T., Dunn-Meynell, A. A., Levin, B. E., Wang, W., Routh, V. H. (2004). The regulation of glucose-excited neurons in the hypothalamic arcuate nucleus by



**DEBRECENI
EGYETEM**

ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR / Élettani Intézet

MTA Kiváló Kutatóhely

H-4002 Debrecen, Pf. 400.

Tel: 52/255-575, Fax.: 52/255-116

email: office.phys@med.unideb.hu

Honlap: <http://physiology.unideb.hu>

glucose and feeding-relevant peptides. Diabetes, 53(8), 1959–1965.

<https://doi.org/10.2337/diabetes.53.8.1959>