



Válasz Prof. Dr. Sík Attila

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

bírálatára

Tisztelt Prof. Dr. Sík Attila!

Először is szeretném megköszönni pozitív, támogató bírálatát és az elismerő szavakat. Köszönöm a megjegyzéseket, felvetéseket is, amelyekkel segített számomra, hogy átgondoljam a múltbeli és további kutatói pályafutásomat.

Először a humán mintákkal kapcsolatos felvetésre szeretnék reagálni. A humán mintákhoz való hozzáférés valóban körülményes, aminek az egyik oka az etikai vonatkozás. Evidens mindenki számára, hogy csak úgy szabad ezeket a mintákat gyűjteni, hogy a műtétet és a diagnózist ne hátráltassa. Éppen ezért, valóban ép mintákhoz nem lehet hozzáférni, csak a fizioiógias állapothoz többé-kevésbé közel álló mintákhoz. A minták kisebb hányada epilepszia műtéteiből származik, a többség peritumoralis terület. Az esetszámunkat tovább szűkítette, hogy egyrészt kizártuk azokat az eseteket, ahol epilepsziás tünetek voltak, másrészt a temporalis és parietalis cortexre igyekeztük korlátozni a vizsgálatot. Ha az esetszám kicsi is, és a mintákat csak tágan értelmezve lehet kontroll mintáknak tekinteni, az asztrocita-neuron kommunikációban tapasztalható lényeges interspecies különbségek miatt mégis fontos ezen minták használata.

A szelet elektrofizioiogiában általánosan használt a carbogen gázkeverék (95% O₂/5% CO₂). A folyamatosan buborékoltatott arteficiális cerebroszpinális folyadékot (aCSF) 1 ml/perc sebességgel áramoltatjuk keresztül a mérőkamrán. Az 5% CO₂ legfontosabb szerepe a pH pufferelése; a mérőadatainkban bikarbonát pufferrendszert alkalmazunk. Az agy kipeparálásától kezdve a peparáló-, inkubáló- és mérőoldatot folyamatosan buborékoltatjuk,



az oldat pH-ját fél óra buborékolatást követően újra ellenőrizzük. A kísérleti protokoll megfelel más laboratóriumokban használatnak (Edwards és mtsai, 1989; Lipton és mtsai, 1995; Lee és mtsai, 2020; Ting és mtsai, 2014), ezáltal a más laboratóriumok által produkált eredményekkel összehasonlítható. A mérőoldat oxigenizációját és a szelet feletti folyadék réteg vastagságát stabilan tartottuk valamennyi mérésünk alatt. Amennyiben váratlan hiba miatt ezek a paraméterek megváltoznak, a szeletek gyorsan használhatatlanná válnak (a giga-seal képzése ellehetetlenül, a neuronpusztulás jól látható lesz). Ezekben az esetekben a hiba kijavításáig felfüggesztettük a mérést, az ilyenkor esetlegesen (meglétősen ritkán) nyert adatokat nem vettük figyelembe. Mivel a szeleteket a disszertációban szereplő elrendezésben maximum 12 (reálisabban inkább 6-8) órán át tudtuk használni, hosszú távú hatásokat nem tudunk megfigyelni.

Egyes kutatócsoportok szerint *in vivo* rendszerekben 5% CO₂ lélegeztetése neuroprotektívnek bizonyult (Zhao és mtsai, 2024; Fan és mtsai, 2014; Zheng és mtsai, 2017). Az *in vitro* és *in vivo* modellek ugyanakkor nem összevethetőek, hiszen az utóbbi esetben – sok más hatás és rendszer mellett – működik a szervezet pH szabályozása, az agyi keringés és a légzésszabályozó központok, míg a szelethez a keringés kizárásával, diffúzió útján jutnak el a gázok.

Fontos ugyanakkor átgondolni a régi, elfogadott módszereket; különösen, ha erre a téma elismert kutatója tesz javaslatot. Nem példa nélküli a 95% O₂/5% N₂ gázkeverék használata agyszeleten (Voss, 2020). Érdemes lenne a hagyományos karbogén gázkeveréknek és más gázkeverékeknek az összevetése, a szelet vitalitására kifejtett hatásának az összehasonlítása.

Teljes mértékben egyetérték a Bírálóval a külföldön szerzett kutatási tapasztalatok hasznosságával kapcsolatban. Otthoni témavezetőim, kollaborációs partnereim és közvetlen munkatársaim mellett nagy hálával tartozom külföldi témavezetőimnek. Első tanulmányutam Oxfordba, a Somogyi Péter professzor úr által vezetett MRC Anatomical Neuropharmacology Unit-ba vezetett, ahol Dr. Marco Capogna laboratóriumában megtanulhattam a szelet-elektrofiziológiai vizsgálatok és a morfológiai analízis számos módszerét (spontán, miniatűr és kiváltott EPSC-k mérése és elemzése, páros mérések). Fontos kiemelni, hogy nemcsak



metodikát, hanem tudományos és életvezetési szemléletet is tanultam tőle. Megrázó vesztesége az európai és nemzetközi agykutató közösségnek, hogy Dr. Capogna nincs már velünk (Ferraguti és mtsai, 2023).

Hosszabb posztdoktori periódust töltöttem Prof. Thomas Jentsch laboratóriumában (FMP/MDC, Berlin), ahol a transzgén technikákba nyert bepillantás mellett megtanulhattam azt is, hogy a szakterületének egy vezető kutatója hogyan kezd el és épít fel egy projektet. Az irántam való bizalomból nekem átadott transzgén egértörzsnél és a fél évre kölcsönkapott nagy értékű műszernél sokkal fontosabb volt a tőle hozott szemléletmód. Azt tanultam tőle, hogy ne azt próbáljam megmagyarázni, miért nem lehetséges valamilyen kísérletet elvégezni, projektet véghez vinni; hanem megtalálni annak a módját, hogyan tudjuk a kutatási ötleteinket megvalósítani.

Nagy megtiszteltetés ért Záborszky László professzor úr által (Rutgers University, NJ, USA), hogy az első önálló kéziratomat szerkesztőként látva nemcsak közlésre alkalmasnak tartotta azt, hanem a szerzőjére is kíváncsi volt; így meghívott egy nyárra a laboratóriumába.

További fontos külföldi tapasztalatom volt az argentin kollaborációs partneremnél tett rövidebb tanulmányi út (Dr. Guillermo Spitzmaul, Universidad Nacional del Sur, Bahia Blanca). Itt az a fontos benyomás ért, hogy léteznek olyan kutatócsoportok, amelyek jelentős tudományos támogatás nélkül is képesek nemzetközileg kiemelkedő kutatást folytatni. Példájuk kénytelen volt sokáig inspirálni.

Végezetül ismételtelen 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. 03.



Irodalomjegyzék

Edwards FA, Konnerth A, Sakmann B, Takahashi T. (1989) A thin slice preparation for patch clamp recordings from neurones of the mammalian central nervous system. *Pflugers Arch.* 414(5): 600-12.

Lipton P, Aitken PG, Dudek FE, Eskessen K, Espanol MT, Ferchmin PA, Kelly JB, Kreisman NR, Landfield PW, Larkman PM, Leybaert L, Newman GC, Panizzon KL, Payne RS, Phillips P, Raley-Susman KM, Rice ME, Santamaria R, Sarvey JM, Schurr A... Wallis R (1995) Making the best of brain slices: comparing preparative methods. *J Neurosci Methods* 59: 151–156

Lee K, Park TI, Heppner P, Schweder P, Mee EW, Dragunow M, Montgomery JM. (2020) Human in vitro systems for examining synaptic function and plasticity in the brain. *J Neurophysiol.* 123(3):945-965.

Ting JT, Daigle TL, Chen Q, Feng G. (2014) Acute brain slice methods for adult and aging animals: application of targeted patch clamp analysis and optogenetics. *Methods Mol Biol.* 1183:221-42.

Zhao Z, Zhang X, Zhang X, Xie S, Chen Y, Lai L, Xin L, Guan J, Lin Y, Wu R (2024) Five percent CO₂ inhalation alleviates hippocampal glutamate and water homeostasis disturbance, neuronal damage, and learning-memory impairment in sleep-deprived rats. *Neuroprotection.* 2024;1-12. doi:10.1002/nep3.53



Fan Y-Y, Shen Z, He P, Jiang L, Hou W, Shen Y, Zhang XN, Hu W, Chen Z (2014) A novel neuroprotective strategy for ischemic stroke: transient mild acidosis treatment by CO₂ inhalation at reperfusion. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 34(2):275-283. doi:10.1038/jcbfm.2013.193

Zheng, Y., Shen, Z., Wu, X., Jiang, L., Hu, W., Chen, Z., Zhang, X. (2017) Experimental models to study the neuroprotection of acidic postconditioning against cerebral ischemia. *J. Vis. Exp.* (125), e55931, doi:10.3791/55931

Voss LJ (2020) Relationship between artificial cerebrospinal fluid oxygenation, slice depth and tissue performance in submerged brain slice experiments. *Neuroscience Letters*, 736:135275, <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135275>.

Ferraguti F, Fredes F, Hou WS, Somogyi P, Thompson S (2023) Marco Capogna, a pioneering neuroscientist and true European. *European Journal of Neuroscience*, 57:10. doi.org/10.1111/ejn.15950