

Válasz Dr. Tamás Gábor bírálói véleményére

Tisztelt Professzor Úr,

Nagyon köszönöm a disszertáció alapvetően pozitív megítélését és a gondos bírálatot. A következőkben válaszolok a feltett kérdésekre.

1.) Milyen fizioiógias állapotot modellez a kéregbe ültetett rácselektrodákön keresztül végzett rövid (500 ms) és hosszú (5 sec) bipoláris ingerlés?

Közleményünkben (Keller és mtsai., J Neurosci Methods, 2009) egyrészt olyan ingerlési paradigmákat teszteltünk, melyek a mindennapi neurológiai gyakorlatban is szerepelnek a fókusz és az elokvens területek meghatározása során, másrészt arra törekedtünk, hogy az alkalmazott paradigmák nagy eséllyel adjanak értékelhető elektrofizioiógiai és haemodinamikai egyes (single sweep) válaszokat akár a rövid ingerek szintjén is. A kérdéses közleményben tehát leginkább a módszertani részletekre koncentráltunk, mintsem a fizioiógias állapotok modellezésére. Ha az ingerlés hatásának fizioiógias állapotokkal való kapcsolatát vizsgáljuk, szembeötlő hasonlóságot látunk az ingerlésre adott korai kérgi válasz és lassú oszcilláció aktív fázisa között. Mindkét esetben domináns III rétegi nyelők és I-II rétegbeli források alakítják az elektromos választ. Az offset (inger megszűnése által kiváltott) válasz is mindkét esetben lényegében hasonlít, és a lassú oszcilláció inkatív fázisára emlékeztet. A kérdéses közleményben nem ismertettük, de még rövidebb, akár egyes impulzusú bipoláris ingerlés a fizioiógiasan kiváltható K-komplexumhoz hasonló választ eredményezett: egy rövid depolarizáció után kialakuló elhúzódó középső rétegi hiperpolarizáció az inkatív állapotra jellemző elektrofizioiógiai mintázatot mutatott (Entz és mtsai., Society Neurosci Abs, 2007). Ami a hosszú ingerlést illeti, ezt előszeretettel használják az elokvens terület térképezésére, és sokszor ez az inger típus okoz kiváltott paroxysmusokat, melyeket fel lehet használni az epilepsziás hálózat kiterjedésének vizsgálatában. A hosszú ingerlés tehát inkább provokáló tényezőként szerepel, inkább a patológiás, mint a fizioiógias állapotokat modellezi.

2.) A disszertáns bevezetésében hangsúlyozza, hogy az emberi agykérgi képességek nagymértékben különböznek az állatvilágban megjelenő képességektől. Ennek fényében nagyvonalúnak érzem mind az eredeti közleményben, mind a disszertációban a fenti rövid ingerlési paradigma során megfigyelt középső rétegi serkentés - felső rétegi gátlás tárgyalását, amely valószínűleg klasszikus, nem emberi kéregben megfigyelt előreccsatoló folyamatok megfelelője.

A transzkraniális mágneses ingerlés hatását skalp EEG elvezetésekben vizsgálva éberben és alvásban kimutatták, hogy az egyes mágneses impulzusok állapotfüggő módon váltottak ki agyi válaszokat (Massimini és mtsai., PNAS, 2007). Míg ébrenlétben a korai serkenési válasz gyorsan lecsengett, alvásban a lassú oszcilláció inkatív fázisához mindenben hasonló tevékenységet lehetett megfigyelni, ami sok esetben tartalmazott még egy aktív oszcillációs fázist is. Hasonló eredményeket kaptunk rétegelvezetésekben is, annyival kiegészítve, hogy

mind a kiváltott inaktív fázis, mind az azt követő aktív fázis soksejt, áramforrás sűrűség és oszcillációs teljesítmény - mind időbeli, mind térbeli - profilja igen nagy hasonlóságot mutatott a lassú oszcilláció megfelelő fázisainak profiljával (Entz és mtsai., Society Neurosci Abs, 2007). Véleményem szerint tehát az impulzusszerű kérgi ingerlés, ami lehet rövid hanginger, elektromos illetve mágneses impulzus, egy rövid előreccsatoló serkentési választ követően domináns inaktív állapotot vált ki, mely visszacsapó aktív állapotot eredményez később, így a megfelelő ingerlés lassú oszcillációs ciklusokat válthat ki alvásban (Marshall és mtsai., 2006, Nature).

3.) A disszertáció megállapítja, hogy „az áramforrás sűrűség szerkezete kevésbé dinamikusán változott” a hosszú ingerlés alatt a röviddel összehasonlítva. Ennek fényében nehezen értelmezhető a disszertáció ezt követő megállapítása, miszerint „az elektrofiziológiai válasz közel lineárisan változott az ingerlés hosszúságának változásával”. Az eredeti közlemény CSD adatai (1/6. ábra) inkább jeleznek egy lassabban kialakuló és rétegeket tekintve másképp struktúrált választ, mint lineáris összefüggést.

Elnézést kérek a pongyola fogalmazásért. A kevésbé dinamikus változáson azt értettem, hogy a források és nyelők mélységi profilja alapvetően keveset változott, hiszen lényegében a középső rétegbeli nyelők és felszínes rétegbeli források dominálnak a kezdeti válaszban is, míg az offset válaszban az áramforrások és nyelők fordított polaritással jelentkeznek mindkét esetben. A lineáris változáson pedig a hosszú inger által az kiváltott középső rétegbeli nyelők időbeli (szinte lineáris) fokozatos erősödését értettem, melyet az 1/6a ábra jobb alsó CSD térképén lehet megfigyelni mindhárom hosszú inger alatt.

4.) Az Eric Halgren hibás válaszokra vonatkozó korábbi munkáit részben megerősítő, a disszertációban bemutatott adatok (2/5 ábra) interpretációjával kapcsolatban felmerülhet-e a granuláris és a superficiális rétegekbe együttesen érkező bemenetek kombinációja? Hozzájárulhat-e a helyes/hibás, illetve a régi/új szómemóriával kapcsolatos válaszok hálózati szintű értelmezéséhez a megváltozott kéregalatti és kortikokortikális bemenetek közötti arány elülső cinguláris kéregben?

Az együttesen érkező bemenetek kombinációja nem merült fel az eredeti cikk diszkussziója során, de ennek feltételezése igen érdekes lehetőségeket vet fel. Az elülső cinguláris kéreg esetében inkább mély és felszíni rétegekről szeretnék beszélni a továbbiakban, egyrészt azért, mert kapcsolódó cikkünkben (Wang és mtsai., J Neurosci, 2005) nem tudtuk teljes pontossággal megadni a rétegek elhelyezkedését, másrészt ez az área agranuláris. Az időben átfedő, mindkét rétegre érkező serkentési folyamatok esetében feltételezhetően mind a mély, mind a felszíni rétegekben egy-egy nyelővel jelentkezik az aktivitás. Ez a konstelláció markánsan az egyszerű/választás reakcióidő feladatban a hiba esetben mutatható ki a CSD térképen (2/5a1 ábra). Hasonló, de jóval kevésbé feltűnő kettős serkentési profil az akusztikus kakukktójtás paradigma esetén alakult ki a ritka hangra, de itt a mélyebb nyelő időben hamarabb aktiválódott, mint a felszíni serkentés (2/5c1 ábra). A szómémória feladatban a régi hangokra adott válaszban szintén található egy aránylag kicsi, és a felszínes bemenethez képest későbbi nyelő (2/5b1 ábra). Mivel a fenti áramforrás mintázatok különbségének statisztikai analízisét nem végeztük el, ezért nem állíthatom bizonyosan,

hogy az együttesen érkező bemenetek valóban szignifikánsan szerepet vállaltak-e a válasz kialakításában, de a jövőre nézve a bíráló felvetése fontos eredményekkel szolgálhat. Hasonló módszerekkel lehetne a jövőben elemezni a bíráló által felvetett kéregalatti és kortikokortikális bemenetek hálózati szintű interakciójának a kérdését, de sajnos a bemeneti arányok moduláló szerepének tisztázására eddig nem végeztünk kellően alátámasztott, specifikus kísérleteket.

5.) Milyen mechanizmus lehet annak hátterében, hogy az entorhinális kéregben a perirhinális és inferotemporális mérésekkel összevetve az ismétlésre adott válasz korai és késő szakaszai eltérést mutatnak? A mindhárom területre érkező hippocampális bemenetek fényében mi lehet a magyarázata az entorhinális kéregben megfigyelhető, hosszabban tartó gátló-serkentő szekvenciának?

Az entorhinális kéreg összekötő kapocsként, mintegy csomópontként működik a hippocampus és a neokortex között, ahol reciprok összeköttetések is megvalósulhatnak az entorhinális kérgen belüli interakciók során (I-II és az V réteg között). Ez a terület magasrendűen feldolgozott bemeneteket kap szinte minden szenzoros modalitásból, ráadásul a kognitív feldolgozásban is magas szinten képviselteti magát. Kimutattuk, hogy a kognitív feldolgozás egy szekvenciális, és térben elosztott rendszerben valósul meg, tehát egy adott terület időben különböző aktivitást mutathat a feldolgozás során. A szekvenciális és térben elosztott feldolgozás során a hippocampális rendszerből visszakapott információk szintén az entorhinális kéregbe vetülnek, melyet a területen belüli neuronális interakciók során különböző módon dolgozhat fel az entorhinális rendszer. Elképzelhető, (de koránt sem bizonyított) hogy a perirhinális és inferotemporális feldolgozás azért nem változik, mivel az entorhinális kéreg a hippocampusból visszajövő információt a helyi feldolgozás mellett, feldolgozatlan formában rögtön vetíti is vissza ezekbe a kéregbe.

Kérdés második felére válaszként azt említeném meg, hogy legalábbis patkányban létezik egy erős előre csatoló gátlási mechanizmus az entorhinális kéregben, mely az afferens pályák ingerlése hatására prominens gátlási választ vált ki az entorhinális principális sejtjein (Finch és mtsai., J Neurosci, 1988), bár ez a pálya emberben tudomásom szerint nem ismert. A tovább vetített információ mind az inferotemporális, mind a perirhinális kéregben függ a piramis sejtek kimenetétől. Mivel hasonlóan erős gátlási folyamatokról nincsen ismeretünk ebben a két kéregben, ezért lehetséges, hogy az előre csatoló gátlás hiányában, ezeken a területeken az aktivitás időben rövidebb lefutású.

6.) A tézisekben érdeklődve olvastam, hogy a szerző kimutatta, hogy „az ember nagyagykérgi neuronjai lényegesen kisebb frekvenciával tüzelnek (5/10. ábra), mint a rágcsálók és macskák kérgi idegsejtjei”. Ismereteim szerint ez már korábban másoknak is feltűnt és ebben a hitemben meg is erősít a disszertáns, hisz eredeti közleményben idézi is Ravagnati et al. (1979) munkáját. Ennek kapcsán érdekelne a jelölt véleménye, hogy a különféle invazív módszerek, beleértve az általa is használt, a mért sejtektől viszonylag távoli, de ugyanakkor nagyméretű és emiatt szövetkárosodást is okozó elektródák felől érkező mérések és a direktebb, de szintén többé-kevésbé sejt- vagy szövetkárosító eljárások (cell attached, juxtacelluláris, whole cell) módszereket összevetve mit gondol, a közölt

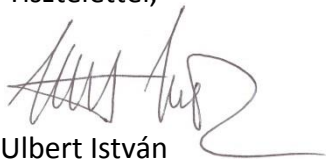
humán frekvencia milyen viszonyban lehet az intakt emberi agyban meglévő tüzelési gyakorisággal.

A disszertációban vizsgált neuronok neokortikális eredetűek voltak, míg Ravagnati és munkatársai a hippokampális formációból nyertek tüzelési adatokat. Ezek a ráták egyébként állatban is jelentős különbségeket mutatnak a neokortex és a hippokampusz között, különösen lassú hullámú alvásban. A kérdés második felére válaszolva, összefoglalva azt mondhatom, hogy ezen a téren igen nagy heterogenitás figyelhető meg a szakirodalomban, már ami az elfogadható tüzelési ráták mértékét illeti. Igazán átfogó, mindenre kiterjedő összehasonlító közlemény mind a mai napig nem jelent meg a témában, ezért is nehéz válaszolni erre kérdésre. A legjobb kiindulási alap talán Mizuseki és Buzsáki munkája lehet (Mizuseki és Buzsáki, Cell Rep, 2013) melyben nagy entorhinális és hippokampális principális neuron populációk tüzelési rátát vizsgálták nagyon finom extracelluláris elektródokkal. Azt találták, hogy a tüzelési ráta eloszlása logaritmikusan normális, log-normál (mint pl. a jövedelmek eloszlása). Ez az eloszlás meglehetősen aszimmetrikus, tehát az átlagos tüzelési gyakoriság, amivel általában leírjuk a tüzelési rátát, ebben az eloszlásban nem igazán rendelkezik jelentéssel. További probléma az, hogy sok sejt valószínűleg egyáltalán nem tüzel spontán egy adott időintervallumban, például lassú hullámú alvás alatt. A csendes sejtek természetesen ingerelhetők, de ehhez speciális körülmények szükségesek, például szenzoros ingerek. Az egyes elektrofiziológiai módszerek között nem csak technikai, kivitelezésbeli különbségeket láthatunk, hanem az adatok feldolgozása is különböző. Sok esetben nem is veszik számításba azokat a sejteket, melyek ritkán tüzelnek. Ilyen alapvetően az extracelluláris elvezetés. Ebben az esetben fizikailag nem is láthatjuk a ritkán vagy egyáltalán nem tüzelő sejteket. Intracelluláris esetben tüzelési aktivitás nélkül is identifikálni lehet a neuronokat a membrán potenciáljuk, valamint az ingerelhetőségük alapján, ebben az esetben lehetőségünk van az egyébként csendes neuronok kimutatására is, melyek extracelluláris mérésekkel kimutathatatlanok. Látható tehát, hogy még a mérésekkel járó szövetkárosítás diszkussziója előtt is mennyi eltérés fedezhető fel az egyes módszerek között. Ha egy technikára kellene letenni a voksomat, akkor az extracelluláris és esetleg a juxtacelluláris méréseket választanám, mivel megítélésem szerint ezek okozzák a legkevesebb direkt roncsolást a megfigyelt sejtek szerkezetében. A patch technika nagy tisztítást végezhet, mivel a pipettát sokszor nagy mélységbe kell letolni. Egy ilyen pipetta egyébként igen vastag, akár az extracelluláris elektródoknál is nagyobb volumenű lehet. Mind a cell attached, mind a perforated technikák során a pipetta fizikai kontaktusba kerül a sejtmembránnal, whole cell konfigurációban betör a sejtbe, dializálhatja is a sejtet. Sharp intracell technika esetében a membrán átszúrása mellett a szivárgó áramok okozhatnak kellemetlen mellékhatásokat a sejtnek. Jól megválasztott, kisméretű extracelluláris elektródok által okozott szöveti sérülés minimális lehet, a sejtrel sincsenek közvetlen kontaktusban a mérési pontok, tehát megítélésem szerint ez a módszer kínálhatja a legkevésbé torzító mérési eredményeket.

7.) Szép megfigyelés, hogy az emberi lassú oszcillációk aktív fázisa kisebb szinkronitási eltolódást mutat a supra- és infragranuláris rétegek között az állatkísérletekhez képest. Tudna-e erre mechanisztikus magyarázatot adni?

A supra- és infragranuláris rétegek közötti szinkronizációs eltolódást a szakirodalomban eddig állatmodellekben, leginkább primer szenzoros kérgeken vizsgálták. A humán kísérletekben viszont igyekeztünk kerülni az elsődleges érző funkciókkal rendelkező területeket, és a frontális, prefrontális területekre koncentráltunk. Ahogyan az ide kapcsolódó közleményben is diszkutáljuk, egy kézenfekvő magyarázat az eltérő szinkronizációs hajlamra a frontális területek piramis sejtjeinek evolúciós változásaiban érhető tetten. Emberben és főemlősben a frontális, és prefrontális piramis sejtek dendritfája térben kiterjedtebb és komplexebb is (Elston, Cereb Cortex, 2003), több tüskét tartalmaz (Elston és mtsai., Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2006) ami növelheti a dendritikus integráció hatásfokát, és egyben a neuronális válasz téri kiterjedését, ami egyben a térbeli szinkronitás fokozódásához vezethet.

Tisztelettel,



Ulbert István

Budapest, 2014. május 1.