

Opponensi vélemény

Az MTA Doktori Tanácsa 3/8/2024/DTT_D/2 iktatószámú felkérésére az alábbiakban fejtem ki opponensi véleményemet **Dr. Nádasdy Zoltán „Patterns of the brain – Az agy mintázatai”** című akadémiai doktori értekezésére.

Dr. Nádasdy Zoltán doktori munkájában pszichológusi szemmel közelíti meg az agyműködést, és matematikai, analitikai módszereivel arra keresi a választ, hogy az agy milyen lehetséges neuronális reprezentációkkal kódolja az információkat. Vajon a memória leképeződhet dinamikus agyi mintázatokban? Hogyan lehetne definiálni, milyen idegi reprezentációk formájában érkeznek be, tárolódnak és továbbítódnak a külvilágból érkező információk a neuronális hálózatokba? Angol nyelvű doktori munkáját öt részre osztja, melyek különböző, egyre komplexebb lehetséges információ kódolási mechanizmusokat mutatnak be. Az első részben a sejtüzelési szekvenciákról ír, mint a kódolás alapja. A második rész a sejhálózatokról/attraktorokról, mint kódoló rendszerekről szól. A harmadik részben az oszcilláció fázisa, mint kód a téma. A negyedik és ötödik rész az entorhinális kérgi grid sejtekről, illetve azok tüzelésének fázisáról szól a gamma oszcillációhoz viszonyítva. Minden témakörhöz tartozik egy néhány oldalas bevezetést-célkitűzést-eredményeket-megvitatást összefoglaló rész, illetve a hozzá csatolt eredeti közlemény(ek).

Formai szempontok:

Az értekezés 49 (referenciákkal 57) írott oldalból áll, amely az eredeti közleményekkel együtt összesen 139 oldalt tesz ki. Az angol nyelvű szöveg gördülékenyen olvasható, jól érthető, elírás, vagy elütés csak elvétve fordul benne elő. Az eredeti közlemények közül az első kettőben (amelyek 1999-ben, illetve 2006-ban lettek publikálva) néhány színes ábra hiányzik. Ezt végül külön kérésre a Szerzőtől megkaptam, de egyszerűbb lett volna, ha nem külön file-ban kell nézni. Megjegyezném, hogy a Szerző által megadott linkekről letölthető verziókban benne vannak ezek az ábrák, kár, hogy a doktori műből kimaradtak. A referenciákkal kapcsolatban találtam egy-két apróbb hibát (például a dolgozat végi összefoglalásban hivatkozik egy Nádasdy et al., 2017c cikkre, amely nincs benne a referencia listában, valamint a referencialistában szereplő Nádasdy et al., 2009 „submitted”-ként van feltüntetve, továbbá ugyanazok a cikkek többféleképpen vannak hivatkozva a szövegben, pl.: Nadasdy et al., 1999; Nadasdy, Hirase, Czurko et al., 1999; Nadasdy 1999). Ezek a referencia-beli pontatlanságok, következtelenség szerencsére nem mennek az érthetőség rovására.

Tartalmi szempontok:

A dolgozat egésze jól felépített, a különböző lehetséges információ kódolási mechanizmusokat mutatja be: az egyszerű szekvenciális kódtól a téri tájékozódást elősegítő grid sejtek tüzelésének fázismodulációjáig. A végén egy összefoglaló segíti megérteni a dolgozat ívét. A továbbiakban a különböző témakörök szerint fogom a megjegyzéseimet és kérdéseimet leírni.

1. Szekvencia, mint kód – Nádasdy et al., 1999

Ebben a fejezetben egy nagyon elegáns kísérletsorozatot végeztek annak kiderítésére, hogy a hippocampus piramissejtjei hogyan kódolják a téri információt patkányokban, és hogy ez az információ hogyan konszolidálódik alvás alatt. A hippocampus piramissejtjei által létrehozott tüzelési szekvenciákat detektáltak szabadon mozgó állatokban, míg azok egy kerékben futottak, és azt találták, hogy ezek a szekvenciák újra játszódnak az ezt követő lassú hullámú alvás során keletkező sharp-wave ripple (SPW) események során. A CA1 piramissejtek nem egyformán vettek részt a SPW-ek generálásában: míg egyes sejtek az események néhány százalékánál tüzeltek, más sejtek ennél sokkal megbízhatóbban, a SPW-ek majdnem felénél is tüzeltek. A CA3 piramissejtek esetében is hasonló jelenséget figyeltek meg korábban: a piramissejtek egy része tüzel a SPW-ek során, míg a nagyobb hányaduk inkább gátlódik. A jelenlegi elképzelés szerint a tüzelő CA3 piramissejtek továbbítják az információt a memória folyamatok során (Buzsáki 1986). Vajon a különböző megbízhatósággal tüzelő CA1 piramissejteknek mi lehet a szerepe a SPW-ekben és így a tanulási/memória folyamatokban?

2. Sejthálózat, mint kód – Wagenaar et al., 2006

Ebben a fejezetben a spontán keletkező, nagyszámú neuront bevonó burst-ök és a burst-ökből összeálló „superburst”-ök tulajdonságait vizsgálták, és kötötték össze az attraktorok fogalmával. E18 korú patkány embrióból készített sejtenyészetben nézték, hogyan keletkeznek a burst-ök, és azt találták, hogy ez a neuronális hálózat önszervező módon generálja a burst-öket és superburst-öket. Ugyan gyakran különböző neuroncsoportok tüzelnek, a burst-ök keletkezése és lefutása mégis nagyon hasonlóan történt, akár csak egy attraktor esetében, ahol a különböző kiindulási állapotok mégis ugyanabba a végállapotba vezetnek. Vajon mennyire tudható be a burst-ök megjelenése annak, hogy embrionális agyból (E18) készítették a tenyészeteket? A neuronok a fejlődés során elég jelentős változásokon mennek keresztül, ami a gének, a fehérjék, és ennek megfelelően a sejtek viselkedését és funkcióit illeti. A közismerten gátló neurotranszmitterként ismert GABA hatása például serkentő embrionális korban, és csak posztnatális P5-P9 környékén kezdik el a sejtek expresszálni a GABA gátló hatásának kiváltásához szükséges KCC2 transzportert (Rivera et al., Nature, 1999). Vajon egy ilyen feltételezhetően főleg (vagy kizárólag) serkentő sejtkapcsolatokat tartalmazó rendszerben kapott eredmények mennyire extrapolálhatók egy felnőtt agyra, amelyben nem csak serkentő, de gátló folyamatok is jelen vannak?

Vajon mi indítja be ezeket az önszerveződő burst-öket/superburst-öket? Celluláris szintre gondolva kellene lennie néhány/sok összekapcsolt, hatékony jelátvitellel rendelkező sejtnek, amelyek egyszerre beindítják a rendszert (ld. in vivo CA3 piramissejtek rendszere a SPW-ek során). Csak itt nincs gátlás, míg ott van, amivel szintén lehet növelni a szinkronitást, mint pl. a gap junction-ökkel összekötött kosár- és axo-axonikus sejtek, amelyek hatékony periszomatikus gátlósejtek. Mi történne az attraktorokkal (és ezen a gondolatmeneten továbbmenve, az egész neuronális hálózattal), ha beletennénk a rendszerbe egy funkcionális gátlósejt hálózatot?

Érdekes jelenség a superburst-ökben előforduló burst-ök fenotípusa. Vajon mi lehet az oka annak, hogy az első burst jelentősen különbözik a többitől? Az első burst-ben találták a legnagyobb sejt-tüzelést, amely ráadásul valamivel szinkronizáltabb volt, mint a többi burstben (az első burst félszélessége a legkisebb, és ahogy haladunk előre az időben, úgy nő a félszélesség, és csökken az amplitúdó). Vajon mi lehet az oka, hogy a sejtek egyre kevésbé képesek szinkronizálódni? Továbbá, mitől áll le ez a fajta szinkronizáció? Mi vet véget a burst-öknek és a superburst-nek?

Ezek a superburst-ök rendkívüli módon hasonlítanak egyes epilepsziás aktivitásokhoz, mint amilyen például egy komplex interiktális tüske. Az epilepsziás rohamok is állhatnak ehhez hasonló eseményekből, csak ott nem áll le a szinkron események sorozata 6-7 burst után, hanem gyakran folyamatosan folytatódik akár percekig is. Vajon mennyire lehetne ezt a modellt epilepszia modellnek használni, ismerve a fent említett hátrányait, miszerint nincsenek benne gátlósejtek, de még ha volnának is, akkor is embrionális korúak, és jó eséllyel nem gátolnak? Vajon találhatnánk-e olyan beavatkozási pontot a burst, vagy még inkább a superburst kialakulásában, amelyben megállítható lenne a burst/superburst all-or-none típusú lefolyása? És ezen továbbmenve, meg lehetne próbálni leállítani egy epilepsziás kisüléssorozatot?

Egy másik, a pszichológiához közelebb álló kérdésem is kapcsolódik ehhez a részhez. A valósághoz valószínűleg elég közel áll az emléknymok kialakulásának hipotézise, amelyet a Szerző tárgyal a 2. részben. Ennek alapja az, hogy a szervezetet ért külső hatásokra adott idegi válaszok során az idegsejtek egymással való kapcsolatai aktivitás-függő módon megszilárdulnak, és ez vezethet az emléknymok/engramok kialakulásához. Ez az alap hipotézis komplexebbé lesz azáltal, hogy a neuronok nem egy „tabula rasa” állapotból indulnak, hanem egy korábbi külső hatásokra adott aktiváltsági állapotból, illetve, hogy bizonyos sejtüzemi szekvenciákat/kapcsolatokat gyengébb, vagy erősebb inputok is meg tudnak erősíteni. Ez a komplex hipotézis végeredményben azt mondja, hogy ha egy szekvencia, vagy hálózat sokszor aktiválódik, akkor nagy eséllyel megerősödik, így az emléknym kialakul. Továbbfűzve a gondolatmenetet, egy hálózatban meglévő, vagy spontán generálódó attraktorok is hasonlóképpen működnek, mint az aktiválódó szekvenciák, és a külső hatásokra ezek közül az attraktorok közül egyesek aktiválódnak és fennmaradnak, mások pedig elhalnak. Ezt tulajdonképpen mindannyian tapasztaljuk a mindennapokban, minél többször találkozunk egy adott információval, annál valószínűbb, hogy stabil, könnyen előhívható emlék vagy tudás lesz belőle. Ugyanakkor érdekelne a Szerző véleménye arról, hogy ebbe a hipotézisbe hogyan illeszthető bele azoknak az emléknymoknak a kialakulása, amelyeket jelentős érzelmi töltet kísért, és amelyekhez nem kell ismétlés, mégis nagyon erős nyomot hagynak bennünk (részletesebb leírását ld. Daniel L. Schacter: *Emlékeink nyomában/Searching for Memory*, 1996. Háttér Kiadó, Budapest/Basic Books, New York). Vajon hogyan, milyen mechanizmussal erősítik fel a neuronhálózatok vagy attraktorok aktiválódását az érzelmi szabályozásban részt vevő agyi területek?

3. Fázis, mint kód – Nádasy, *Frontiers in Systems Neuroscience*, 2009; Nádasy, *Frontiers in Neuroscience*, 2010

A harmadik részben azt a számítógépes szimulációs vizsgálatot írja le a Szerző, amelyben a neuronális kód nem egy szekvencia, vagy egy hálózati aktivitásmintázat, hanem az agyi oszcillációnak az a fázisa, amelyben létrejön az adott neuron/neuronok tüzelése. A szimuláció eredményei alapján egy ilyen nagyagykérgi rendszer alkalmas arra, hogy a bejövő információt hatékonyan továbbítsa egy másik agyi területre, ahol a kéreg helyesen dekódolja az információt.

Mit gondol a Szerző arról, hogyan kellene elképzelni a terjedő hullámokat (travelling waves) az emberi neocortexben? Vajon vannak elágazási pontok? Egyforma sebességgel (vagyis késéssel) terjednek a hullámok minden irányba? Mi szabja meg, hogy mely terület lesz a kiindulópont azokon a területeken, amelyek nem kapnak közvetlen szenzoros inputot, mint pl. frontális vagy temporális kérgék? Van-e egyáltalán kiindulópontja ezeknek a terjedő hullámoknak ezeken a területeken? Vagy akár több helyen is indulhatnak egyszerre? Megállnak-e (és ha igen, akkor hogyan) a terjedő hullámok az adott funkcióval bíró agyerületeken (pl. beszédértő központ, vizuális kérgék, akusztikus kérgék)?

Ha feltételezzük, hogy a terjedés szinaptikus jelátvitel eredménye, akkor vajon hogyan lehetne a terjedő hullámok terjedési mintázatából visszakövetni az anatómiai összeköttetéseket?

Az elmélet szerint az idegsejteknek az oszcillációk fázisához kötött tüzelését a küszöb alatti oszcillációk befolyásolják (amelyek végső soron az LFP-vel mutatnak szoros összefüggést). Magyarán, ha a neuron membránja depolarizáltabb állapotú, akkor nagyobb az esélye annak, hogy egy beérkező serkentés tüzelést vált ki belőle. A kérdésem az, hogy ha minden sejt tüzelése csak követi az LFP oszcillációját, akkor az hogyan indul el? Hogyan szinkronizálódnak a neuronok, hogy abból oszcilláció legyen? Egerek nagyagykérgében kimutatták, hogy a gyors tüzelésű, parvalbumin-tartalmú kosársejtek szelektív ingerlése gamma oszcillációt idéz elő (Cardin et al., Nature 2013). De vajon e sejtek tekinthetők-e ún. „pacemaker” sejteknek, mint pl. a thalamus-ban a reticularis sejtek (Steriade et al., J Neurophysiol 1987), amelyek külső (LFP) befolyás nélkül is oszcillálnak és ők idézik elő az LFP-n látható oszcillációt? Vagy pedig, ahogy az anatómiai adatok alapján inkább elképzelhető, hogy ezekre a sejtekre sok serkentés érkezik (Gulyás et al., J Neurosci, 1999), amely aktiválja őket. Vajon honnan kapják ezt a serkentő bemenetet ezek a sejtek ahhoz, hogy aztán ők legyenek képesek előidézni a gamma-oszcillációt? A környező/távolabbi piramissejtektől? Vagy esetleg a külső ingerek felől érkező bemenetek aktiválják a kosársejteket, és az általuk indukált LFP-k összeadódnak, és így aktiválják a kosársejteket, melyek aztán a többi sejtet/sejtcsoportot? És vajon hogyan szinkronizálódnak a kosársejtek? A dendritjeik között található gap junction-ökön keresztül (Fukuda and Kosaka, J Neurosci 2000), vagy pedig a rájuk érkező (szinkron?) serkentés szinkronizálja őket? Melyik feltevés a valószínűbb? Érdekelne a Szerző véleménye erről a kérdésről, és arról, hogy – ha lenne rá ideje és energiája – hogyan vizsgálná.

Firing together wiring together – Mit gondol a Szerző ennek az elméletnek a „továbbgörgetett” változatáról, mely szerint az egy időben született sejtek együtt tüzelnek és össze vannak kapcsolva („Born together fire and wire together”, Id. Huszár et al., Nat Neurosci 2022)?

A 2010-es Frontiers in Neuroscience cikkben a modell a retina felől érkező burst tüzeléseket kiszűri, és átalakítja egyszeres akciós potenciálokká. Ez biológiai-evolúciós szempontból egy nagyon előnytelen lépés volna, lévén, hogy a burst tüzeléshez több, másféle csatornák, és másféle áramok kellene, mint az egyszeres akciós potenciálokhoz. Ha erre nem lenne szüksége a sejtnek, biztos nem alakult volna ki, és nem feccsérelné rá rengeteg energiát a szervezet, hogy ezeket megszintetizálja és fenntartsa. Tehát jó eséllyel a burst tüzelésnek van valami előnye, vagy haszna, vagy más funkciója, mint az egyszeres, szórványos tüzelésnek. Az egyéb elméletek szerint a burst tüzelés befolyásolja a rövid távú memóriát (LTP, LTD), és a serkentő szinaptikus súlyok újraindítására (reset) szolgál (Id. pl. Birtoli and Ulrich, J Neurosci 2004). Hogyan lehetne ezt az információt is implementálni a modellbe?

4. Grid sejtek és a kód – Nádasdy et al. PNAS 2017, Sci Adv 2022

A két utolsó fejezetben a Szerző az eredetileg patkányokban leírt entorhinális kérgi grid-sejteket mutatja be emberben. A grid sejtek a téri tájékozódásban és a kognitív térképek kialakításában játszanak alapvető szerepet: egy flexibilis és dinamikus reprezentációt nyújtanak a környezetről. Ez elősegíti azt, hogy egy adott térben a helyzetváltoztatásról információt kapjon az agy, és ennek megfelelően tudjon dönteni a mozgáskoordináció során. A két egymáshoz kapcsolódó témát, vagyis a grid sejteket leíró munkát, illetve a grid sejtek és a fázis-kódolást összekötő témához közös kérdéseim vannak, így ezeket együtt tárgyalom.

Epilepsziás páciensekből vezettek el, az entorhinális kéregből. Vajon van-e összefüggés a grid sejtek viselkedése és az epilepszia között? Temporális lebeny eredetű epilepsziás betegekben a téri

tájékozódás és a memória egyértelműen érintett, a betegek lassabban tájékozódnak és többet tévednek, mint a kontroll kísérleti személyek (pl. Grewe et al., *Epilepsy&Behavior*, 2014; Canovas et al., *Epilepsy&Behavior*, 2011). Elképzelhető-e, hogy a rágcsálók és az ember közötti egyes különbségek (pl. a nem kizárólag hexagonális mintázat) ennek tudhatók be?

Az eredeti adatokkal, vagyis az elvezetésekkel, az elektródákkal, a klaszterezett sejtekkel és az analízisekkel kapcsolatban is vannak technikai/metodikai kérdéseim és észrevételeim (annak ellenére, hogy mindkét publikáció átment már egy bírálati szűrőn, a megjelenésük előtt).

A két cikket összevetve nekem nem egyértelmű, hogyan is néztek ki az elvezető elektródák. A 2017-es PNAS cikkben a fő és a kiegészítő (supplementary) szövegekből annyi derül ki, hogy kétféle elektródát használtak, egyiket az Ad-Tech Medical (katalógusszám: CMMS-22PX-F478), a másikat a PMT (katalógusszám: 2112-00-18-004) forgalmazta. A mikroelektródák 4 csoportban 2x2-es elrendezésben helyezkedtek el, a 16 mikroelektróda kontaktus közül ötről származnak az adatok, amelyeket attól függően váltogattak, hogy honnan volt a legnagyobb amplitúdójú single unit aktivitás. A fő szövegben az első ábrán egy MR fotóra illesztett sematikus rajz mutatja a mikroelektródák elrendezését a makro kontaktusokhoz képest, eredeti fotó egyik elektródáról sincs. Ezzel szemben, a 2022-es Science Advances cikkben egyféle, az Ad-Tech Medical által gyártott elektródával mértek, amelynek ugyanaz a katalógusszáma (CMMS-22PX-F478), de itt egy 4x4-es grid elrendezés van megadva mind a szövegben, mind a sematikus ábrákon (ld. Fig.1B, 3, 4), fotó itt sincs az elektródáról. Ez utóbbi cikkben ugyanakkor ugyanaz az MR kép, ugyanazzal a sematikus elektróda ábrával szerepel (Fig. 1A), mint a 2017-es cikkben. Továbbá, se az Ad-Tech Medical, se a PMT oldalán nem találtam meg az említett elektródákat. Sőt, az Ad-Tech elektródáját az FDA (az amerikai élelmiszer és gyógyszerbiztonsági hivatal) visszahívta 2013-ban azzal, hogy veszélyes, mert leválhatnak róla darabok, amelyek aztán benmaradhatnak az agyban. Mivel a páciensek beteg- és kísérleti adatai ugyanazok, ezért feltételezem, hogy ugyanarról a két személyről van szó. Milyen tehát az elektródák elrendezése? Négy darab 2x2-es, vagy egy darab 4x4-es? Vagy a két páciens közül az egyikben ilyen, másikban olyan?

A leírás szerint a mikroelektródák tompa hegyét benyomták az entorhinális kéreg II-III. rétegébe, a pia materen keresztül. Hogyan tud egy tompa hegyű, mindössze 800 µm hosszúságú fémdrót keresztül menni a pia materen? A mi tapasztalataink szerint a pia mater átszúrásához relatíve nagy erejű nyomás szükséges még akkor is, ha csak egy elektródát akarunk benyomni. A beszúrásakor a tompa hegyű elektróda az agyat először elkezd benyomni, majd pár mm benyomódás után szokta átlukasztani a pia matert, és csúszik be az agyszövetbe. Könnyebben átszúrja a pia matert, ha az elektróda hegye hegyes/éles, de ilyeneket nem érdemes krónikus vizsgálatokra használni, mert jelentősen sértik az agyszövetet, ahogy a páciensek mozognak a kivizsgálási időszakban. Feltételezéseim szerint a 800 µm hosszúságú, csoportban elhelyezkedő, tompa végű elektródák valószínűleg túl rövidek ahhoz, hogy átszúrják a pia matert, pláne egy 4x4-es elrendezésben. Az elektródák beszúrása annak fényében is érdekes, hogy az entorhinális kéreg bent van az agy bazális, mediális részén, az entorhinális kérgi pia mater ráadásul a mediális oldalra néz, és nem kívül van, laterálisan, ahol a kraniotómián keresztül kézzel/eszközzel megfelelő irányú és erejű nyomást lehetne gyakorolni egy elektródára ahhoz, hogy az bemenjen az agyszövetbe. Véleményem szerint nem biztos, hogy a mikroelektródák valóban bent voltak az entorhinális kéreg 2-3. rétegében, és onnan vettek volna mintát. Abban sem vagyok biztos, hogy egy rutin MR és CT, amellyel az elektródák helyzetét ellenőrizték, megfelelő voxel mérettel rendelkezik ahhoz, hogy ki tudná mutatni a 800 µm hosszú mikroelektródákat.

A sejtklaszterezéssel kapcsolatban is vannak kérdéseim. Történtek-e manuális ellenőrzések, miután a WaveClus szoftver segítségével meghatározták a single unitokat? Tapasztalataink szerint egyik szoftver sem képes igazán jól szétválasztani a klasztereket, pláne nem egy olyan elvezetésben, ahol egy

csatornáról származnak az egyes sejtekre vonatkozó adatok. Az is érdekel, hogyan tudtak ennyi single unitot elkülöníteni. Több olyan elvezetés is volt, amelyben egy csatornán 4 (de akár 7!) sejtet tudtak klaszterezni (2022-es cikk, pl. Fig. S4, S5). A mi elvezetésekben már a 4 szétválasztható sejt is extrém ritka egy csatornán, annál több sejtet nem láttunk még, míg itt 4 egymás melletti kontaktuson is szétválasztottak 4 sejtet, de volt, hogy akár 7 single unitot egy elektródán, több elvezetésben is. Az entorhinális kéreg ugyanolyan 6 rétegű neocortex, mint pl. a frontális vagy a temporális kéreg (ahonnan a mi elvezetések többsége származik), nem gondolom, hogy a neuronok sűrűsége annyival nagyobb lenne itt, hogy ennyivel több sejt látható lenne az elektródákon. Véleményem szerint a Mahalanobis távolság meghatározása és egy küszöb érték megadása nem elég ahhoz, hogy olyan klasztereket kapjunk, amelyeknél biztosak lehetünk benne, hogy az valóban sejt, valóban csak egy sejt, és hogy valóban annak az egy sejtnek az összes akciós potenciálja egy klaszterben legyen.

Továbbá, a 2017-es cikkben, a fő szövegben egy példát mutat a single unit-ra (Fig. 1), amely kb. 100 μV amplitúdójú, ugyanakkor a supplementary ábrákon olyan single unitok is vannak, amelyek akár $2 \times 10^4 = 20\,000 \mu\text{V} = 20 \text{ mV}$ (!) amplitúdójúak (pl. S12, S13, S14-es ábrák). Ez gyakorlatilag juxtacelluláris elvezetésnek felelne meg, amely 35 μm átmérőjű elektródával nem lehetséges. Az idő skála sem egyezik, a fő szövegben, ahol a mutatott single unit lefutási ideje kb. 1 ms (ez reális), a supplementary-ban pedig akár 6-20 (!) ms. Így vagy a skála nem megfelelő a supplementary dokumentumban, vagy a jel, amit detektáltak, nem single unit. Hozzá kell tenni, hogy a supplementary dokumentumban gyakran nincsen mértékegység megadva az amplitúdó de főleg az idő tengelyen. A két cikkben bemutatott unitokat nézve nekem sok esetben nem tűnnek igazi single unitnak, sem a hullámformája, sem a MUA-tól való különbsége alapján. Mindent összevetve az az érzésem, hogy az alap adatok (vagyis a single unitok) nem tiszták, nem megbízhatóak. Nem biztos, hogy az entorhinális kéreg 2-3. rétegéből valók, és arról sem vagyok meggyőzve, hogy valóban csak egyes neuronok tüzelését detektálták.

Nem teljesen értem azt sem, hogy az LFP-t miért egy külön elektródán mérték, amely több mm távolságra is lehet akár attól, mint amelyen a single unitokat detektálták. Az érv az, hogy szerették volna, ha a mezőpotenciál (LFP) jelet nem „szennyezik” a single unitok harmonikus komponensei. De ugyanakkor minden elektródán széles sávban vették fel a jelet, és utólag, de még sejtklasztterezés előtt átalakították (downsampling) és szűrték a jelet azon a csatornán, ahol az LFP-t detektálták. Tehát meg lehetett volna csinálni (megfelelő adaptív szűrővel) azt is, hogy minden csatornán meghatározzák a theta és gamma oszcillációk frekvenciáját és fázisát, a hozzá tartozó single unitokkal együtt. Hogyan változna vajon a fázistérkép, ha ilyen módszerrel vizsgálnánk? És a terjedő gamma oszcilláció?

A 2022-es cikkben a neuronok a gamma oszcilláció fázisához képest megállapított tüzeléséből vonják le azt a következtetést, hogy a gamma oszcilláció terjed a kéregben. Az egymás melletti kontaktusokon megnézték, hogy az ott található sejtek a gamma mely fázisában tüzelnek, és azt találták, hogy az első kontaktushoz képest a szomszédos kontaktuson ez a tüzelés kb. 60° vagy 120° -kal el van tolódva, az eggyel távolabbi kontaktuson pedig 180° -kal. Ezt a bizonyítási módszert kicsit gyenge lábakon állónak gondolom. Ugyanis feltételezi azt, hogy minden sejt a gamma oszcillációnak ugyanabban a fázisában tüzel. A hippocampus CA1 (Csicsvári et al., Neuron 2003) és CA3 (Hájos et al., J Neurosci, 2004) régióiban azonban a lokálisan mért gamma oszcillációhoz képest a piramis sejtek és a gátló interneuronok nem ugyanabban a fázisban, hanem kb. 90° -os eltolással tüzelnek. Így tehát, ha véletlenszerűen egyik helyen csak piramis sejtet, a másikon pedig csak gátló sejtet detektáltak, akkor az eltolás akár ennek a ténynek a következménye is lehetne. Továbbá, a gamma oszcilláció fázisa mind a hippocampusban (Csicsvári et al., Neuron 2003), mind az entorhinális kéregben (Chrobak and Buzsáki, J Neurosci 1998) attól is függ, hogy melyik rétegben mérjük. Elképzelhető, hogy nem minden

mikrokontaktus ment be az entorhinális kéreg 2-3. rétegébe, hanem egyesek fenn maradtak a piális felszínen, így nem lehetünk biztosak abban, hogy minden kontaktus az entorhinális kéregnek ugyanazon rétegéből vette a jelet. Tovább gyengíti a terjedő gamma oszcilláció megállapítását a mikroelektróda geometriájának a bizonytalansága, illetve a következő metodikai kérdés.

A sejtek (akár egy elektródán detektált több sejt együtt, akár egyes sejtek) a gamma oszcillációkor általában $120-150^\circ$ -os szögben tüzeltek, és ugyan az egymás melletti elektródákon volt eltolódás a tüzelés szögében, maga a tüzelési szög terjedelme (a $120-150^\circ$) gyakorlatilag nem változott. Nem találtam viszont adatot arra nézve, hogy hogyan határozták meg ezt a $120-150^\circ$ -ot a különböző sejtek és sejtcsoportok esetében. A polár diagramon látható csúcsok szerintem nem rajzolják ki egyértelműen a meghatározott $120-150^\circ$ -os szöget (lásd pl. 2022-es cikk Fig. 3 és 4), sőt, nagyon hasonló polár diagramoknál (pl. Fig 3C és 3D) más spektrum van meghatározva (C ábrán $120-300^\circ$, D ábrán $210-360^\circ$), illetve akár ugyanannál a polár diagramnál is más spektrum van megadva (Fig 3D vs. Fig S8D). Ez utóbbi esetben az első és ötödik elektródák között a Fig 3D alapján 120° -os eltolódást, a Fig S8D alapján pedig 60° -os eltolódást mutatnak. Milyen módszerrel határozták meg ezeket a fázis spektrumokat, és ezeknek az esetleges hibája mennyiben befolyásolja a kapott eredményeket és az azokból levonható következtetéseket? Például azt, hogy egy terjedő gamma oszcillációt látunk az entorhinális kéregben?

Egy adott elektróda kontaktuson detektált sejtek közül négynek a tüzelését összevonták ahhoz, hogy egy fázis térképet készítsenek. Figyelembe vették-e azt, hogy az egy elektródán detektált különböző sejtek a gamma oszcilláció különböző fázisában tüzelhetnek (mint pl. a Fig 4B-D). Ellenőrizték-e ezt, mielőtt összevonták őket? Továbbá, azt figyelembe vették-e a sejtek összevonásánál, hogy egyes sejtek tüzelési frekvenciája magasabb a többinél? Ezek lényegesen eltolhatják/torzíthatják a polár diagramot, és a fázis térképeket is. Vajon hogyan különbözne a fázis térkép, ha kétféleképp vizsgálták volna, először minden akciós potenciált (unitot), másodsor pedig minden sejtet vettek volna bele egyforma súllyal? Tehát első esetben minden sejt minden tüzelése ugyanannyit ér a fázistérkép megalkotásakor, a második esetben pedig a sejtek tüzelése és fázisa normalizálva lenne, és sejtenként érne ugyanannyit.

A fő kérdésem mindezek fényében az, hogy vajon a nem tiszta adatok hogyan módosítják a két cikkben leírt jelenségeket, vagyis a grid sejtek jelenlétét, és viselkedését? Valószínűnek tartom, hogy valóban vannak grid sejtek az ember entorhinális kérgében, és az is lehet, hogy a tüzelésük fázis-kapcsolt a gamma oszcillációhoz. De vajon mennyire lehet messzemenő következtetéseket levonni a sejtek tüzelési mintázatáról és a tüzelés fázis kapcsoltágáról, a gamma oszcilláció terjedéséről úgy, hogy az adatokban relatíve nagy lehet a hibaszázalék? Vajon a „fázis, mint kód” hipotézisének végső tesztjeként gondolt analízis, melyben a sejtek gamma-fázisából meglepően jó pontossággal dekódolni tudták a páciens helyzetét az adott virtuális térben, mennyire állja meg a helyét, és mennyire támasztja alá a hipotézist annak fényében, hogy az alapadatok nem tiszták?

Összefoglalva:

Dr. Nádasy Zoltán az MTA Doktori fokozat elnyerése céljából benyújtott értekezése megfelel az MTA Doktori Szabályzatában megfogalmazott követelményeknek. Az értekezésben bemutatott témák és publikációk kiemelkedő, nemzetközileg elismert szakmai kutatómunkán alapulnak. Új szempontokkal, eredeti meglátásokkal gazdagítja a tudásunkat és felfogásunkat az idegrendszer lehetséges kódolási mechanizmusairól. Az ismertett témakörök többségében nagyon precízen, elegánsan megtervezett kísérletekkel, adekvát matematikai analízisekkel támasztják alá a felvetett hipotéziseket, bár a két utolsó témakörnek, a grid sejteknek és azok fázis kapcsoltágával foglalkozó munkáknak vannak

módszertani és adat szempontjából gyengébb részei. Ennek oka lehet, hogy a humán intrakortikális elvezetéseken alapuló kísérletek mindig sokkal bonyolultabban kivitelezhetők, nehezen megismételhetők vagy korigálhatók, és jóval kevésbé kontrollálhatók a kísérleti körülmények bizonyos aspektusai, mint állatkísérletek esetén. Mindenesetre bírálóként meggyőződhettem róla, hogy Dr. Nádasy Zoltán a kutatómunkája során fontos eredeti tudományos megfigyeléseket tett, amivel hozzájárult az idegrendszer információ kódolásának megértéséhez, és ezeket rendszerbe is foglalta. Véleményem szerint az értekezés, és a benne bemutatott publikációk teljesítik a tudomány doktora cím megszerzésével szemben támasztott követelményeket. Ennél fogva javaslom az értekezés nyilvános vitára bocsájtását, az értekezés elfogadását, és Dr. Nádasy Zoltánnak az MTA Doktora cím odaítélését.

Budapest, 2023. 11. 24.



Wittner Lucia, PhD, DSc
tudományos tanácsadó
HUN-REN Természettudományi Kutatóintézet
Kognitív Idegtudományi és Pszichológiai Intézet
Integratív Idegtudományi Kutatócsoport
1117 Budapest, Magyar tudósok krt. 2.
Tel: +36 1 382 6807
Email: wittner.lucia@ttk.hu