

Válaszok Dr. Toldi József opponensi kérdéseire

Tisztelt Professzor Úr!

Köszönöm, hogy elvállalta és időt szánt pályázatom részletes áttanulmányozására és bírálatára, valamint köszönöm a fontos, érdekes kérdéseket és a méltató szavakat.

A feltett kérdésekre válaszaim a következők.

- Talán megkönnyítette volna az értekezés tanulmányozását, ha a Jelölt az értekezésben a saját munkájának és eredményeinek részleteire való utaláskor direktebb hivatkozásokat alkalmaz (pl. II. csatolt közlemény, Fig. 3.).

Köszönöm szépen az észrevételt, mellyel egyetértek, és a jövőben igyekszem szem előtt tartani ezt a szempontot.

- Itt ott félreérthető volt a fogalmazás, ill. az idézés. Példaként említem a következő mondatot: „Időnként sikerült egyszerre két, vagy néha három kolinerg sejtet is azonosítanunk, a sejtek erős térbeli csoportosulása következtében...” (15. old. 18. sor) és a mondat végén egy 1990-es cikkre hivatkozik, holott, a szerző életkorát tekintve akkor talán még nem publikált. Nyilván a sejtek erős térbeli csoportosulásának felfedezésére gondolt, amikor erre a cikkre hivatkozik, de ennek leírásában ő még nem vett részt.

Elnézést kérek ezért a félreérthetőségért, valóban célszerű lett volna a saját idézeteket jobban kiemelni, elkülöníteni.

1. **Kérdés:** a Nature Neuroscience-ben megjelent cikkükben karakterizálták ezt a kétféle kolinerg sejttypust. **Vajon mi alapján, mitől lesz egy kolinerg sejt egyik vagy másik típusú? Kapcsolatrendszere (bemenetei), vagy sokkal inkább belső (inherens) tulajdonságai alapján, pl. a membránjában lévő ioncsatornák típusai, összetétele alapján?** Miután agyszeleten (in vitro) történt a karakterizálás, a kapcsolatrendszer meghatározó szerepe talán kérdéses.

Ez egy nagyon fontos, izgalmas kérdés, melyet mi is aktívan vizsgálunk. A Zürichi Egyetemen Dr. Földi Csaba laborjával együttműködve meghatároztuk a kétféle sejttypus RNS szekvenciáit, és erősen eltérő kifejeződést találtunk, tehát a két sejttypus genetikailag, fejlődéstanilag különbözik, eltérő belső tulajdonságokkal, amit jelentős részben eltérő ion csatorna expressziójuknak köszönhetnek (főleg a kálium csatornákat illetően). A fejlődésbeli különbséget egy másik csoport is igazolta (Lozovaya et al., 2024). A genetikai különbség természetesen eltérő kapcsolatrendszerrel is járhat, ezt kimenő kapcsolataik esetén igazoltuk. Mindazonáltal egyetértek Toldi József Professzor Úrral, hogy a tüzelési mintában látható különbségeket valószínűleg jelentős részben meghatározzák a kolinerg sejtek belső tulajdonságai, ioncsatorna expressziójuk.

2. A fent említett eredmények ősrégi olvasmányélményeimet juttatták eszembe: Bartlett, John és Grastyán professzor úr az 1960-as évek végén, 1970-es években kiváltott potenciálokon, ill. makroelektrodákkal elvezetett agyi hullámokon tett megfigyeléseket, melyekről, mint valamiféle *Neural readout from memory*-ről számoltak be, és jó néhány Science publikációt eredményeztek. (1970.; 169(3942):304-5., 1969., 164(3887):1534-6, 1978., 201(4351):169-71.)

Kérdés: Összefüggésbe hozhatók e bármilyen módon is ezek a régi, több, mint 50 éves megfigyelések a Jelölt fentebb említett eredményeivel? Még talán akkor is releváns a kérdés,

ha azokban a korai megfigyelésekben a változások az agyi hullámok nagy latenciájú, késői komponenseiben voltak megfigyelhetőek.

Különösen köszönöm Toldi József Professzor Úrnak, hogy felhívta a figyelmemet ezekre a cikkekre, melyek jól mutatják, hogy a mély gondolkozás a maihoz képest sokkal szerényebb technológiai lehetőségek mellett is mennyire pontos és előreutató következtetésekre tudott vezetni. Az első cikket 1969-ből John, Shimokochi és Bartlett jegyzi, és a cikk megállapítja, mai terminológiával szólva, hogy a macska vizuális kéregből kb. 35 milliszekundum késéstől indulóan döntési („choice”) szignálok vezethetők el. Talán még izgalmasabb a másik cikk 1978-ból Grastyán, John és Bartlett tollából, mely a macskák térdtestéből elvezetett kiváltott válaszokat bont két csoportra: a korai komponens (10 milliszekundumig) jól korrelált az inger fizikai jellemzőivel, a későbbi komponens (10 milliszekundumtól, de jellemzően 100 milliszekundum körüli csúcs latenciával) már inkább az inger „fontosságával” és a macskák döntéseivel függött össze.

Fontos kiemelni, hogy itt a feltételes ingerre adott válaszokat elemezték a szerzők. Tapasztalataink szerint a feltétlen ingerek gyors szenzoros eredetű válaszokat váltanak ki kolinerg sejtekből, melyeket a meglepetés mértéke modulál. Mivel az elvárások az állatok számára már a feltétlen inger időpontjában ismertek, egy ilyen „várakozás” által „kapuzott” szenzoros jel továbbra is gyors tud lenni, ahogy azt a kolinerg sejtek esetén mértük.

Ugyanakkor a feltételes ingerek olyan „tanult”, azaz a tanulás során fokozatosan kialakuló kolinerg válaszokhoz vezetnek, melyek korrelálnak a feltételes inger jutalom-előrejelző mértékével. Grastyán és munkatársai több aspektusában hasonló jelet mértek: az auditoros kiváltott potenciál késői komponense a tanulás során alakult ki, és a latenciája is nagyjából megegyezett a kolinerg feltételes válaszok latenciájával. Ez alapján akár feltételezhetnénk, hogy ez a komponens kolinerg eredetű, azonban némi óvatosságra intenek ezzel kapcsolatban: például a középagy dopaminerg sejtekben is hasonló folyamatok játszódnak le, hasonló latenciával, legújabb eredményeink szerint a kolinerg rendszertől nem teljesen függetlenül. Azaz véleményem szerint Grastyán és munkatársai egy több agyterületre kiterjedő agyi hálózati jelenség egy manifesztációját „csípték föl”, melynek jelentős neuromodulátoros komponensei (kolinerg, dopaminerg és esetleg más is) vannak, utóbbiakat mi is mérni tudtuk.

3. Az állatokon végzett kísérletek mellett létrehozták a mediális szeptum ritmusképző hálózatának matematikai modelljét, melynek segítségével megállapították, hogy a MS feltételezett pacemaker sejtjei Huygens-szinkronizáció útján hozzák létre a hippokampális theta-ritmust.

Kérdés: Milyen molekuláris-, ill. membránszintű folyamatokat, történéseket képzelhetünk el ezeknek a szinkronizációs folyamatoknak a hátterében?

A szeptális ritmusképzés biofizikája részben ismert: például a sejtekben kifejeződő hiperpolarizáció által aktivált HCN kation csatornáknak – a szív ritmusképzéséhez hasonlóan – szerepe lehet benne (Morris et al., 2004). Az ide vonatkozó cikkek alapján a mi szeptális sejtmodellünkbe is építettünk HCN csatornákat. Mindazonáltal a neuronális ritmusképzésnek több mechanizmusa is van, a mi modellünkben például kiemelt szerepe van a lassan inaktíváló D-típusú kálium csatornáknak is. Ezek pontos feltárása, különös tekintettel a pontos valós csatorna összetételre és annak viselkedésére eltérő membrán potenciálokon és különböző bementek hatására még a jövő feladata.

A Huygens-szinkronizáció viszont egy viszonylag általános jelenség lehet, mely nem feltétlenül függ erősen az egyes sejtek biofizikai jellemzőitől: ha ritmusképzésre alkalmas, adott körülmények között ritmikusan aktív sejtek kapcsolatai időlegesen „megerősödnek” (információelméleti értelemben, pl. a

sejtek depolarizáció hatására több akciós potenciált tüzelnek), a sejtek individuális ritmicitási frekvenciája közeledni fog egymáshoz.

4. ***Ez a bazális előagyi kolinerg (és GABAerg) rendszer kapcsolódik-e, és ha igen, akkor hogyan, ahhoz a ventralis tegmentális areából induló és a nucleus accumbensbe tartó mezolimbikus, ill. prefrontális kéregbe tartó mezokortikális dopaminerg rendszerhez, mely oly fontos szerepet játszik a megerősítésben, jutalmazásban, „boldogságérzésben”, de malfunkciója esetén akár a skizofréniában is?***

Ezt a kérdést annyira fontosnak tartom, hogy egy teljes ERC pályázatot szenteltünk (részleges) megválaszolásának. Az eredményeket röviden összefoglalva azt találtuk, hogy a bazális előagyi kolinerg és mezolimbikus dopaminerg rendszer nem független egymástól. Egyrészt kolinerg és egyes dopaminerg sejtek aktivitása folyamatos pozitív korrelációban áll egymással, mely magyarázza hasonló aktivitásukat, és valószínűleg közös serkentő bementek állnak a hátterében. Másrészt a kolinerg sejtek közvetett gátló hatást is kifejtenek egyes dopaminerg sejtekre, ezáltal hozzájárulhatnak ezen dopaminerg sejtek büntetés után fellépő gátlódásához.

Újabban a mezolimbikus mellett a mezokortikális dopaminerg pályát is vizsgáljuk. Az ismert hasonlóságok mellett a transzmitter felszabadulás dinamikájában különbségeket is találhatunk: a ventralis striátum dopamin jelei kiváltott válasz jellegűek, míg a kéregben inkább oszcillációs dinamikát mutatnak. A striatális dopamin jelek a bazolaterális amigdalában mérhető acetikolin jelekhez hasonlóak, míg a frontális kérgi dopamin jelek az azonos helyen mért kolinerg szignálokkal rokoníthatók. Mindazonáltal a jutalom előrejelzési hiba reprezentációban mutatkoznak különbségek is ezen rendszerek között, ezek pontosabb feltárása még folyamatban van.

A bazális előagyi GABAerg sejtek serkentő bementeket kapnak a helyi kolinerg sejtektől (Xu et al., 2015; Yang et al., 2017) és gátló bementeket küldenek a dopaminerg sejtekre, ugyanakkor a GABAerg sejtek sokfélesége miatt a pontos hálózat feltárása még nem készült el – például az általunk vizsgált parvalbuminos sejtek nem rendelkeznek a fenti vetítéssel.

5. ***Kísérleteinek talán nagyobb részét egereken, kisebb részét patkányokon végezte. Bár mindkét faj a rágcsálók rendjébe tartozik, végül is azonban két fajról van szó, jelentős különbségekkel a központi idegrendszereik tömegét, méretét és talán szerveződését illetően is. **A két fajon szerzett tapasztalati alapján, mit lehet mondani, mennyire általánosíthatóak az itt bemutatott eredmények?*****

A mediális szeptum esetében lehetőségünk volt közvetlen összehasonlításokat tenni, és azt állapítottuk meg, hogy míg az alapmechanizmusok és domináns sejt- és aktivitástípusok megegyeztek, a részletekben jelentősnek tűnő különbségeket is találtunk: patkányokban a hippocampális theta komplementereként jelentkező „nem-théta” aktivitást delta ritmusok dominálták, míg egerekben sokkal inkább nem-ritmikus aktivitás volt jellemző. Csak a patkányokra voltak jellemzőek a korábban leírt „théta-kihagyó” (theta-skipping) neuronok (Hasselmo, 2014), egerekben nagyon keveset találtunk. A tónusosan aktív sejtek viselkedésében és a ritmusképző sejtek fázisakapcsoltságában is találtunk különbségeket. Összességében azonban, bár ez az ítélet természetéből fakadóan szubjektív, messzemenően a hasonlóságok domináltak, ahogy az az erős anatómiai hasonlóságok alapján talán várható volt.

Ezen persze túlmutat az a kérdés, hogy az eredmények mennyire általánosíthatók más emlős fajokra, leginkább pedig emberekre? Főemlősökben és emberekben nem tudjuk megismételni ezeket a kísérleteket, de törekszünk arra, hogy minél pontosabb választ adhassunk erre a kérdésre azáltal, hogy párhuzamos egér és humán fMRI és EEG kísérleteket végzünk Dr. Vidnyánszky Zoltán és Dr. Németh

Dezső laborjaival együttműködve. Ezekben a kísérletekben a viselkedési paradigmákat a lehető legjobban megfeleltetjük egymásnak, majd az elektrofiziológiai eredményeket közvetlen összevetjük, és fMRI segítségével megpróbálunk a neuromodulátoros területek aktivitásáról is információhoz jutni.

6. És végül egy technikai jellegű kérdés: Tudva azt, hogy a **fej fixálásával**, amit kísérleteik során alkalmaztak, olyan vizsgálatokat lehet elvégezni, melyek más módon nem lehetségesek, mégis, felmerül a kérdés:

vajon milyen mértékű stresszel jár ez a pozíció, és mennyire befolyásolhatja ez az eredményeket?

Ez is egy fontos kérdés, és valóban van előnye a fej fixálásának (jobban kontrollált kísérletek, kisebb viselkedési és neurális variancia, értelmezhetőbb eredmények) és a szabadon mozgó viselkedéseknek is (az egerek természetes viselkedéséhez közelebb álló paradigmák, kisebb stressz). Bár a disszertációban bemutatott cikkekben általában az előbbit alkalmaztuk, bőven alkalmazunk szabadon mozgó viselkedési feladatokat is. Többnyire szisztematikusan haladunk a jobban kontrollált felől a természetesebb felé, így fej-rögzített klasszikus kondicionálástól indultunk, ma viszont döntően szabadon viselkedő operáns tanulási feladatokat használunk. Az eddigi eredmények alátámasztják ezt a megközelítést: a jól kontrollált pavlovi feladatokban mutatott sejtaktivitás alapján jól tudjuk prediktálni és értelmezni a bonyolultabb operáns feladatok eredményeit, ami egyébként sokkal nehezebb lenne.

Bár a rögzítés is stresszel jár, a motiváció szempontjából fontos folyadékbevitel-korlátozás szintén, de stresszhormon méréseink alapján már maga a feladat végzése is jelentősen megnöveli az egerek stressz szintjét, még szabadon mozgó paradigmákban is. Mivel jó összhangban áll a kolinerg és dopaminerg sejtek aktivitása rögzített és szabadon mozgó feladatokban, ez, közvetve bár, de arra enged következtetni, hogy az alapvető kódolási mintákat nem változtatta meg az eltérő stressz szint.

Hivatkozások:

Hasselmo ME (2014) Neuronal rebound spiking, resonance frequency and theta cycle skipping may contribute to grid cell firing in medial entorhinal cortex. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 369:20120523.

Lozovaya N, Moumen A, Hammond C (2024) Basal Forebrain Cholinergic Neurons Have Specific Characteristics during the Perinatal Period. *eneuro* 11:ENEURO.0538-23.2024.

Morris NP, Fyfe REWW, Robertson B (2004) Characterisation of hyperpolarization-activated currents (I_h) in the medial septum/diagonal band complex in the mouse. *Brain Res* 1006:74–86.

Xu M, Chung S, Zhang S, Zhong P, Ma C, Chang W-CC, Weissbourd B, Sakai N, Luo L, Nishino S, Dan Y (2015) Basal forebrain circuit for sleep-wake control. *Nat Neurosci* 18:1641–1647.

Yang C, Thankachan S, McCarley RW, Brown RE (2017) The menagerie of the basal forebrain: how many (neural) species are there, what do they look like, how do they behave and who talks to whom? *Curr Opin Neurobiol* 44:159–166.

Budapest, 2025. 08. 06.


Hangya Balázs