

# Agyukkal látó egerek hozhatják el a Mátrix világot | MTA

Egy magyar kutatócsoport messze túllép a retinaimplantátumok lehetőségein: egyenesen az agyat veszik rá arra, hogy lásson. Rózsa Balázssal, az MTA Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet ERC-nyertes csoportvezető kutatójával beszélgettünk fényérzékeny idegsejtekről, optogenetikai forradalomról és az agyra nyitott ablakról, mely egyszer a vakoknak is visszaadhatja a látás élményét.

2016. március 22. Gillicze Bálint

Amikor az ember arról olvas, hogy egy kutatócsoport „olyan

berendezést fejleszt, amely a *Mátrix* című film virtuális világához hasonlót teremthet majd a vakok agyában”, hajlamos túlzásra gyanakodni, azonban elég egy órát beszélgetni a kutatást vezető Rózsa Balázssal, és kiderül, hogy Neo és Smith ügynök világa csak a kezdet. Lesznek itt mutánsok, kegyetlenül kihasznált vírusok, hanggal vezérelt lézerek – és akkor még nem is említettem, hogy a tét kétfélmillió euró volt, amelynek elnyerése most lehetővé teszi, hogy minden eddiginél jobban belelássunk a világító agyú állatok gondolataiba.

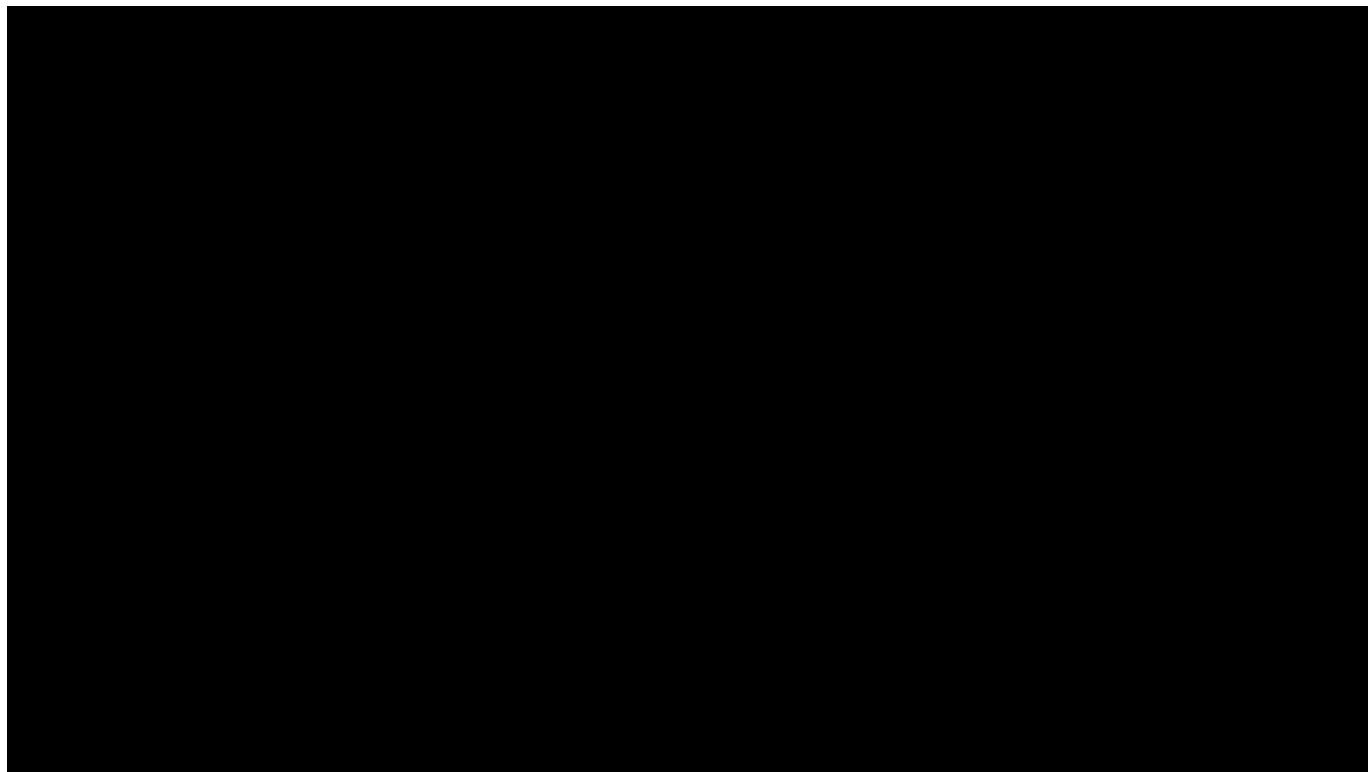
## A látványtól a látásélményig

Ahhoz, hogy megértsük, min is dolgozik gőzerővel a friss ERC-nyertes kutatócsoport, fontos, hogy képet kapjunk a látás folyamatáról. Aki ugyanis azt hinné, hogy „koponya-mozinkban” színes képek pörögnek gyors egymásutánban, nagyobbat nem is tévedhetne.

Szemünk egy fényképezőgép objektívjéhez hasonlóan az elénk táruló látvány (fordított) képét vetíti retinánkra, ahol különféle fényérzékeny sejtek készítene a fotonokból elektromos jeleket. Eddig egyszerű lenne a képlet, azonban már a retinában elkezdődik a jelek feldolgozása, és az emberi látóidegen mai tudásunk szerint legalább 19 különféle csatornán áramlanak adatok az agy felé – egyebek mellett külön csatornán utaznak a színek, a kontrasztinformációk, és már itt megtörténik bizonyos fokú mozgásfelismerés is. A helyzet pedig csak bonyolódik, ahogy az információ az agy gigantikus kapcsolóközpontján, a talamuszon keresztül végül eléri a látókérget, ahol megszületik maga a látásélmény.

Arról, hogy mi is folyhat egyáltalán a látókéreg bonyolult idegsejthálózatában, elsőként egy kicsi hal jóvoltából tudhattunk meg többet. 2014-ben megjelent

cikkükben Jeremy Freeman és kutatótársai a biológusok egyik kedvenc kísérleti állata, a zebraahal agyának működését vizsgálták egy elsőre meglehetősen szokatlanak tűnő módszerrel. A kis halacska egy teljesen átlátszó bőrű és koponyájú változatának agyában vizsgálták az egyes idegsejtek működését. Az eredmény – melyet a későbbiekben bemutatott optogenetikai módszer tett elérhetővé – egy film volt, mely bepillantást nyújtott a zebraahal 80 000 agysejtjének egyidejű működésébe.



A képen a zebrahal agyát láthatjuk felülnézetben, jobboldalt a meglehetősen kicsi előagglyal. Látható, hogy ezen az agyterületen akkor is állandó az aktivitás, amikor egyébként nem történik semmi a hal környezetében. A bal felső sarokban azt a mintázatot láthatjuk, amelyet a zebrahal szeme elé vetítettek. Amikor állnak a csíkok, a hal úgy érzi, nem történik semmi – ilyenkor nyugalomban van. Amikor a csíkok mozognak, a hal úgy észleli, hogy sodródik a vízben, amire mozgással reagál. Forrás: Vladimirov, N. et al. Light-sheet functional imaging in behaving zebrafish. Nature Methods, doi:10.1038/nmeth.3040

A filmen látszik, ahogy a szemet ért ingerek hatása továbbhalad az agy különféle részeibe, azonban az előagyban (az embernél ez tölti be a koponya nagy részét, itt zajlanak a bonyolultabb agyi folyamatok) a szabályos aktivitásmintázatok már egyáltalán nem kivehetők, ráadásul itt akkor is folyamatos aktivitás észlelhető, amikor a kis hal környezetében nem történik semmi.

Ahogy a zebrahalak, majd később egerek és egyéb kísérleti állatok agyát vizsgálták hasonló módszerekkel, világossá vált, hogy az agy számos területének igen jelentős a nyugalmi aktivitása, vagyis annak ellenére, hogy nem érzékelik érzékeinktől semmilyen jelentősebb ingerület, idegsejtek különféle csoportjai térben és időben összehangolt aktivitást mutatnak. Ráadásul ezek a jellemző csoportos aktivitások megjelennek akkor is, amikor észlelünk valamit – mintha agyunknak lenne valamiféle saját „nyelve”, és e nyelv szavaival (vagyis a csoportos aktivitási mintázatokkal) próbálná megközelíteni a kívülről érkező információkat, ha pedig békén hagyják, magában beszél. Ha ismernénk ezt a nyelvet, ezt használva talán közvetlenül is be tudnánk táplálni az információkat az agyba – és így el is jutunk a *Mátrix* világához.

De hogyan kezdjük az ismerkedést egy ilyen merőben új nyelvvel? A legegyszerűbb és legkézenfekvőbb megközelítés, ha először meghallgatjuk, hogyan fejezik ki magukat a nyelv használói minél egyszerűbb helyzetekben, utánozzuk őket, majd izgatottan várjuk a reakciót.

Rózsa Balázs kutatócsoportja is pontosan ezt teszi, bár kísérleteikhez némiképp nyakatekertebb

eszközökre és jóval több egerre van szükségük, mint egy gyakorló nyelvész-antropológusnak.



Rózsa BalázsFotó: mta.hu/Szigeti Tamás

Ahhoz ugyanis, hogy közvetlenül szóba elegyedjünk egy állat (esetünkben egér) agyával, olyan módszerekre van szükség, amelyek csak az utóbbi években váltak elérhetővé a kutatók számára. Korábban a kutatók legfontosabb közvetlen mérési módszere abból állt, hogy elektródákat dugtak az agyszövetbe, és ezekkel próbálták minél pontosabban megmérni, illetve befolyásolni egyes idegsejtek aktivitását. Ezekkel a

módszerekkel azonban csak néhány tíz sejt aktivitását tudták jól regisztrálni, de nem volt lehetséges több száz vagy akár több ezer idegsejt egyedi működésének mérése, ráadásul ezek a mérések, mondhatni, „vakon” történtek, hiszen a sejtek helyét, anatómiáját nem lehetett a mérések után beazonosítani, így a nagyobb hálózatok viselkedésének feltárására más technikára volt szükség.

Ismert és a kutatók körében bevett eszköz az agy működésének vizsgálatára az fMRI, ez azonban csak nagyobb agyterületek aktivitását képes kimutatni, felbontása legalább ezerszer gyengébb annál, mint ami egyes idegsejtek vizsgálatára alkalmas lehetne.

A forradalmi áttörést a genetika és a mikroszkópia utóbbi évtizedének eredményei nyomán született tudomány, az

optogenetika hozta. Felfedezték ugyanis, hogy bizonyos fehérjék képesek a környezetükben levő ionok koncentrációjának függvényében fluoreszcenssé válni – vagyis miután az ionkoncentráció változása „bekapcsolta” őket, megfelelő színű fénnel megvilágítva maguk is felvillannak. Más fehérjék ennek a fordítottját tudják: ha megfelelő színű fénnel világítják meg őket, egy csatornát

nyitnak a sejtmembránon, így megváltoztatják egyes ionok sejtbeli koncentrációját.

Ahhoz, hogy ezekből a szép eredményekből létrejöjjön a „beszélgetés” az aggyal, már csak néhány apró részletkérdést kell rendezni. Nevezetesen:

1. Be kell juttatni valahogy a sejtekbe tehát legalább kétféle fehérjét, egyet a méréshez, egyet pedig a fényvel történő aktivációhoz.
2. Meg kell oldani, hogy kísérleti alanyunk agyát éber állapotban tudjuk vizsgálni, illetve fényvel aktiválni, miközben alanyunk különféle tevékenységeket végez.
3. Ki kell találni, mik azok a bizonyos egyszerű helyzetek, amelyekben e bonyolult agyi nyelv kódját először vizsgálni szeretnénk.
4. Miután „beszéltettük” az agyat, ki kell próbálni, hogy megérti-e, amit „mondunk” neki.
5. Jöhet a *Mátrix*.

## Jótkony fertőzés, mutáns egerek

Kezdjük az első ponttal. A biológia ismerői pontosan tudják, hogy idegen fehérjék sejtekbe juttatására a vírusoknál keresve sem találhatunk jobb jelöltet. Igaz, a vírusok önzők, és leginkább azt szeretnék, ha a fertőzött sejt csak az ő fehérjék gyártásával foglalkozna, és ebbe a sejt végül jobbra bele is pusztul. Ha azonban egy vírusnak csak a fehérjeburkát használják arra, hogy meghatározott fehérjék génjeit injektálja a sejtbe, azzal ügyesen módosítani lehet a sejt működését. Ráadásul, mivel ezek a vírusok nem szaporodnak, a beadott mennyiséggel pontosan lehet szabályozni, hogy mely sejteket szeretnénk módosítani.

Így lehet elérni, hogy egy kísérleti alany agyának csak bizonyos, jól meghatározott területe legyen fényvel aktiválható, illetve alkalmas a fénykibocsátásra.

Rózsa Balázséknál a kísérleti alanyok egerek, de külföldi kutatócsoportok már készítik elő a majmokon végzendő kísérleteket is. Sőt, folyamatban vannak az első engedélyek speciális vírustechnológiákra, amelyekkel már korlátozottan ugyan, de az emberi alkalmazást is el lehet indítani. Nemzetközi szinten Roska Botond svájci kutatócsoportja jár legelől a látás helyreállításához szükséges genetikai technológia fejlesztésében.

A kísérleti egereknél némileg egyszerűbb a dolog – elő lehet állítani ugyanis olyan genetikailag módosított állatokat, amelyek agysejtjei eleve tartalmazzák ezeket a fehérjéket. Ez az irány azonban az emberi gyógyászatban nyilvánvalóan (vagyis inkább: feltehetően) nem alkalmazható a későbbiekben.

## Ablak az agyra

A következő nagy kérdés: hogyan juttatjuk be a fényt az agyba, és hogyan nézünk bele mikroszkóppal. Nos, szerencsére nem lesz szükség a *Mátrix* brutális hotdogsütőjére, csak egy kicsiny üveglablakra a koponyán, a megfelelő agyterület felett. Nincsenek elektródák, drótok, bonyolult

elvezetések, mindössze egy kis ablak a kísérleti állat koponyáján.

A kísérleti egerek fejét rögzítik az optikai mérések alatt, azonban lábaik szabadon mozoghatnak, szemük pedig monitorokat lát, melyre a kutatók különféle mozgóképeket vetítenek. Így hozzák létre a kutatók az egerek körül azt a virtuális labirintust, amelyben az egér bolyonghat. Pozícióját, helyváltoztatásának irányát és sebességét a lába mozgása alapján határozza meg a kísérleti berendezés, és ennek megfelelően változik a köré vetített környezet is.

Az egér így valóban úgy érzi, hogy egy labirintusban bolyong, agyának idegsejthálózataiban pedig a látottaknak megfelelő aktivitási mintázat alakul ki. Ezt vizsgálják a kutatók a látókéreg felett létrehozott üvegablakon keresztül egy lézerrendszerrel összekötött mikroszkóppal – az idegsejtekbe korábban bejuttatott, fénykibocsátásra képes fehérjék révén.

A videón látható kísérleti elrendezésben az egér egymás után különböző célalakzatokat keres egy monitoron elé vetített labirintusban. A kutatók mérik az egér mozgását, és ennek megfelelően módosítják az elé vetített virtuális teret. Eközben a sejtekbe genetikai módosítással bevitt fehérjék („genetikailag kódolt kalciumindikátorok”) segítségével mérik az agysejtek aktivitását (az akciós potenciálokat). Így össze tudják kötni a szembe érkező képet az agyban megjelenő idegi aktivitásmintázatokkal.

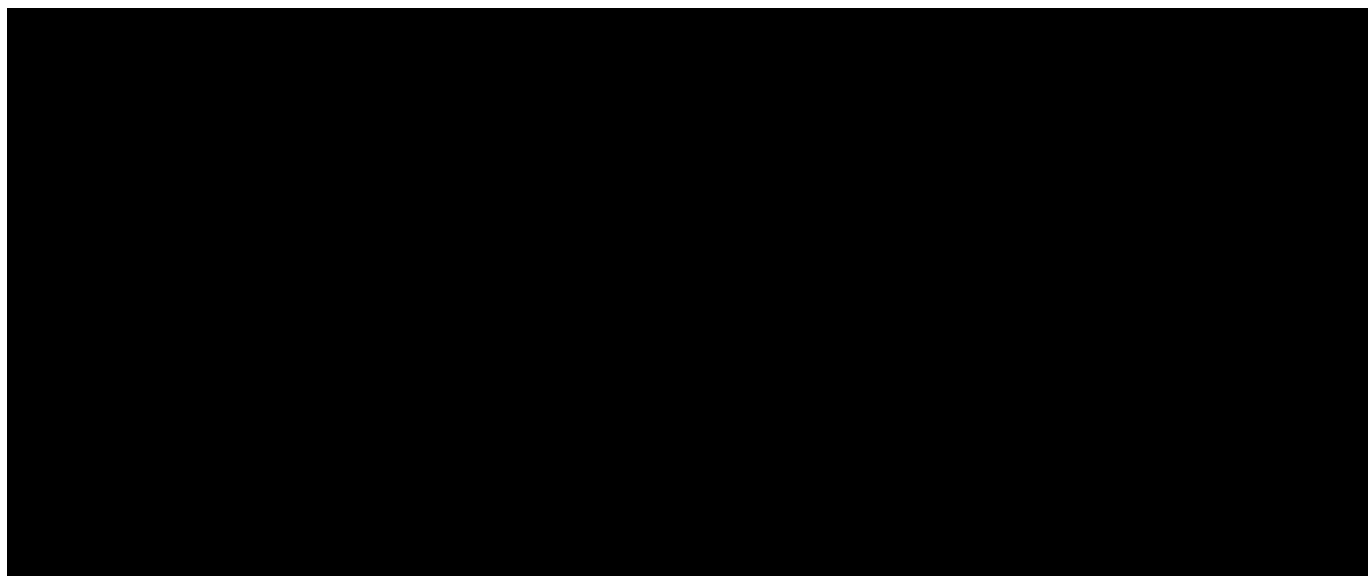
Forrás: Rózsa Balázs

Az egeret jutalmazással és büntetéssel megtanítják, hogy bizonyos területeket érdemes elkerülni, másokat pedig érdemes felkeresni. Ha már magabiztosan jár és keresgél a monitorokon elé vetített labirintusban, a lézerrendszerrel összekötött mikroszkóppal mérni kezdik idegsejtjei aktivitását a látókéreg meghatározott részén. Azaz itt vannak a cikkünk elején említett egyszerű helyzetek, amelyekben rögzítik az agy belső „nyelvének” szavait.

## Megzabolázott agymozgások, hanggal vezérelt lézerek

Sajnos nem elég egy szupermikroszkóppal belenézni az agyba, hogy leolvassuk az idegsejthálózat aktivitási mintáit – az élő, működő agy ugyanis, hiába rögzítik a koponyát, mozog. No, nem túlságosan, de ahhoz éppen eléggé, hogy ahol egy tizedmásodperccel korábban egy idegsejt nyúlvánnya volt, ott a következő pillanatban ne legyen semmi.

Rózsa Balázs kutatócsoportjának egyik nagy eredménye, hogy olyan hanggal vezérelt lézerrendszert (erre utal az akusztiko-optikus elnevezés) készítettek, mely képes egy idegsejthálózat különböző elemeit – sejtnyúlványokat, meghatározott térrészeket – letapogatni, valamint korrigálni az agy fent említett apró elmozdulásait. Ezekkel a módszerekkel elérhető, hogy a mikroszkóp valóban az idegsejthálózat viselkedését kövesse, és ne kerüljenek az adatok közé olyan hamis értékek, melyek olyankor jelentkeznek, ha a minta két mérés között elmozdul.



A bal oldali ábrán látható az idegsejtek nyúlványairól készült eredeti videó – a lézer végigpásztázta a nyúlványokat, és a feldolgozóprogram egy síkba, egymás mellé rakta a kapott képeket. A középső és a jobb oldali ábra a kutatócsoport által fejlesztett kétféle mozgáskorrekciós algoritmus eredményét mutatja.

Forrás: Rózsa Balázs

Mindeddig nem sok szót ejtettünk arról a nyilvánvaló tényről, hogy az agy háromdimenziós objektum. Ez komoly gondokat is okozhatna a megfigyelésben, azonban szerencsére a kísérletekben megjelenő fényjelek, illetve a speciális gerjesztő fény, az ún. kétfotonos impulzusok nem nyelődnek el jelentős mértékben az agy kocsonyás anyagában, így a szkennelés harmadik dimenzióját kihasználva, akár a teljes agykéreg vastagságában lehetséges idegsejthálózatok aktivitásának igen gyors, még kilohertz feletti sebességű mérése is (ez másodpercenként ezer mérést jelent).

Ráadásul tehetik mindezt nagy térfogati tartományokban, hiszen Rózsa Balázsék felismerték, hogy ha egy háromdimenziós objektumról háromdimenziós képet szeretnének kapni, egyáltalán nem kell foglalkozniuk a hagyományos optikai rendszerek tervezésének egyik igen lényeges korlátjával: a kép síkra korrigálásával. (Ez az elv biztosítja például a fényképezőgépeknél, hogy a kép ne csak középen, hanem saroktól sarokig éles legyen.) Így olyan mikroszkópot is terveznek készíteni, mely a korábbiaknál jóval nagyobb térfogatdarabot tud leképezni, és a későbbiekben akár az emberi látókéreg vizsgálatára is alkalmas lehet. Ezekre a törekvésekre nemrég egy magyar fejlesztési pályázatot is benyújtottak, és terveik között van egy újabb jelentős kollaboráció elindítása Magyarországon, hogy a technológiát mielőbb az emberi gyógyászat és terápia területén tudják hasznosítani.

## Mit láatsz, vakegér?

Ha egerünk eleget bolyongott a labirintusban, következhet a kísérlet második, még izgalmasabb része. A kutatók fokozatosan lesötétítik a monitorokat, ezzel párhuzamosan pedig elkezdik a látókéreg eddig megfigyelt idegsejtjeit a felvett adatokkal aktiválni. Az eredmény döbbenetes:

az egér meg tud tanulni ebben a (kétszeresen) virtuális labirintusban is tájékozódni!

Nagyszerű, de mi a helyzet, ha egy másik egér látásélményét próbáljuk kísérleti alanyunk agyába vetíteni? Hiszen végső soron valami ilyesmi lenne a cél: rábírnunk az agyat olyan információ befogadására, ami nem saját magától származik.

Szerencsére itt maga az agy siet a segítségünkre. Már az 1970-es években bebizonyították, hogy egy, az agyszövetben elhelyezett megfelelő elektróda segítségével az agy képes megtanulni egy robotkar mozgását, ma pedig már valóban használható, ilyen elven működő emberi művégtagok is léteznek. Meglepő módon kiderült, hogy az elektródát nem kell feltétlenül éppen a végtagok mozgásáért felelős agyterületen elhelyezni, az agy, esetleg lassabban, de másutt is képes „rátanulni” egy ilyen feladatra.

Így hát nem kell azon aggódni, hogy miként találjuk el sejt szintű pontossággal ugyanazt az agyterületet – hogy is tehetnénk, hiszen nincs két pontosan egyforma agy –, ahonnan a másik egér látókérgi információi származnak, az agy akkor is képes „rátanulni” a kapott adatokra, ha a mintát kicsit máshonnan vették.

## Jöhet a Mátrix – de mikor?

Amikor az egértől az emberig vezető hosszú útról kérdeztem, Rózsa Balázs többször is megjegyezte, hogy jelen projektjüknek még nem célja konkrét gyógyítási eljárások kifejlesztése, alaputatásról van szó. Mindazonáltal szívesen mesélt a továbblépés lehetőségeiről.

Az egyszerű mintázatok, kontrasztok, sarkok felismerésén (vagyis a labirintuskísérleten) egyelőre nem lépnének túl, viszont szívesen megpróbálkoznának fejlettebb agyú emlősök, például vadászgöreynek vizsgálatával. Ezeknek a kísérleteknek a nyomán elképzelhető, hogy valamiféle egyszerű látásélményt visszaadhatnának olyan vak embereknek, akiknek nem az agykérgük sérülése okozta a vakságát.

A gondot az okozza, hogy épp a jelenlegi módszer jellege miatt ez szigorú helyhez kötöttséget jelentene – egy mikroszkóp belsejében rögzített fejjel, kicsiny ablakkal a koponyán. Más kutatócsoportok foglalkoznak mobil, koponyán belül elhelyezhető implantátumok fejlesztésével, melyek elképzelhető, hogy hamarabb adnak használható, minimális térérzékelést biztosító eredményeket. A Rózsa Balázs kutatócsoportja által kifejlesztett mikroszkópos rendszer használható lesz az implantátumok működésének szimulálására, így tökéletesítésükre is, de a technológia folyamatos miniaturizálásával akár egy hordozható mikroszkóp is kifejleszthető lesz, amelyet „kalapként” lehet majd viselni.

Ha visszagondolunk a bárhova beszúrt elektróda esetére és az agy hihetetlen rugalmasságára, Rózsa Balázsék módszere egy egészen meglepő és ígéretes lehetőséget is felcsillant. Elképzelhető ugyanis, hogy utolsó mentsvárként az agy más területei is megtaníthatók valamilyen szinten „látni” – persze ilyenkor felmerül az a kérdés, hogy miként módosul a célterület eredeti funkciója, mit veszthetünk egy ilyen beavatkozással.

Most azonban térjünk vissza a realitások talajára, és zárásként ejtsünk pár szót arról, mivel

érdemelte ki Rózsa Balázsék ERC-projektje a kiemelt státuszt.

## Univerzális eszköz az agykutatásban

A hozzávetőleg egy évtizede zajló optogenetikai forradalom nagyjából mostanra ért el arra a szintre, hogy a kutatók képesek legyenek nagy idegsejthálózatok sejt szintű vizsgálatára élő szövetben. Rózsa Balázsék projektje lényegében ehhez ad egy új eszközt, amely

- egy teljesen új mikroszkópkonstrukció, mely kihasználja a 3D leképezés lehetőségeit
- nagyságrendekkel növeli az aktiválható és mérhető sejtek számát – a hagyományos módszerekkel 10-30 sejtről volt szó, most ez a szám akár félmillió is lehet másodpercenként
- szintén nagyságrendekkel növeli a vizsgálható térfogatot – a jelenlegi konstrukció alkalmas 4×4×1 mm-esnél is nagyobb térrészek nagy feloldású vizsgálatára
- képes optikailag és algoritmikusan kompenzálni az élő szövet belső mozgásait
- nagyságrendekkel növeli a mérési sebességet – a korábban említett zebrahalas kísérletnél fél másodperces időközönként készültek felvételek, a magyar kutatócsoport rendszere pedig képes a videó képsebességét tartani.

Egy ilyen lézerrendszerrel összekötött 3D mikroszkóp rengeteg agykutatási projektben kaphat központi szerepet, így nem véletlen, hogy kiemelt helyet foglal el az ERC által támogatott projektek között.

A projektben kiemelkedő szerepe van Katona Gergő, Szalay Gergely fizikusoknak, Maák Pál, Veress Máté, Krúdy Ádám, Mikó József és Farkas Zoltán mérnököknek, Chiovini Balázs, Judák Linda, Szadai Zoltán biológus kutatóknak. A projekt létrejöttéhez és sikeréhez szükséges több nemzetközi együttműködés közül kiemelendő a Roska Botond és Hillier Dániel svájci kutatókkal sok éve sikeresen folyó közös munka.