

A neurális ritmusok kialakulásának szinkronizációs mechanizmusai rágcsálók medialis septumában



Kocsis Barnabás

Pázmány Péter Katolikus Egyetem

Információs Technológiai és Bionikai Kar

Roska Tamás Műszaki és Természettudományi Doktori Iskola

Témavezető: **Ulbert István, DSc**

A doktori disszertáció tézisei

Budapest, 2025

1 Bevezetés

A explorációs viselkedés forma egyik prominens kísérőjelensége a 4-12 Hz-es theta oszcilláció rágcsálók, húsevők és főemlősök, köztük az ember hippocampusában (Buzsáki, [2002](#); Buzsáki & Moser, [2013](#); Kahana et al., [1999](#); Rutishauser et al., [2010](#)). Ez a theta-oszcilláció időbeli referenciaként szolgál a hippocampus hálózatai számára, ami kulcsfontosságú az epizodikus tanulás és az emlékezet előhívás szempontjából (Buzsáki, [2006](#)). Korábban a medialis septum GABAerg neuronjait a hippocampalis theta ritmus feltételezett *pacemaker*eként azonosították (Freund & Antal, [1988](#); Hangya et al., [2009](#); Petsche et al., [1962](#); Yoder & Pang, [2005](#)). A septalis GABAerg hálózaton belüli theta-frekvencia szinkronizáció módját azonban mindeddig kísérletileg nem vizsgálták.

Elméleti tanulmányok azt feltételezték, hogy az egyes *pacemaker* neuronok különböző frekvenciákon oszcillálnak, de depolarizáló bemenet növekedésre a frekvenciatartományban szinkronizálódnak (Ujfalussy & Kiss, [2006](#); Wang, [2002](#)). Ezt a mechanizmust a kapcsolt oszcillátorok fizikájában "Huygens-szinkronizációnak" nevezik (Oliveira & Melo, [2015](#); Ramirez et al., [2016](#)). Két befolyásos modell két különálló GABAerg populáció jelenlétét feltételezte, amelyek egy úgynevezett ping-pong mechanizmuson keresztül gátolják egymást, vagy a medialis septalis hálózaton belül (Cutsuridis & Poirazi, [2015](#); Ujfalussy & Kiss, [2006](#)), vagy a hippocampo-septalis GABAerg projekciós neuronok bevonásával (Wang, [2002](#)). A theta amplitúdójának kontrollálását a medialis septum sejtjeinek tüzelési rátájával hozták összefüggésbe (Denham & Borisyuk, [2000](#); Oddie et al., [1996](#); Tokuda et al., [2019](#)), míg a medialis septum *bursting* mintázat változásai szintén hatással lehetnek a theta generációra (Joshi et al., [2017](#); Simon et al., [2006](#); Sotty et al., [2003](#)). A lehetséges ionos mechanizmusok egyikeként a *hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated (HCN)* csatornák szerepét említi a szakirodalom (Kocsis & Li, [2004](#); Varga et al., [2008](#)). A frekvenciaszinkronizáció mellett azonban más mechanizmusok is lehetségesek, beleértve a fázistartományban történő szinkronizációt az oszcillációs frekvencia változása nélkül (Borhegyi et al., [2004](#); Ujfalussy & Kiss, [2006](#)). Emellett azonban kevés ismeret áll rendelkezésre a különböző medialis septalis sejttípusok pontos szerepéről a theta generálásában (Lee et al., [1994](#); Robinson et al., [2016](#); Vandecasteele et al., [2014](#)).

A fenti elméletek tisztázására kísérletileg vizsgáltuk a lehetséges theta generációs mechanizmusokat. Medialis septalis egysejt elvezetések mellett rögzítettük a hippocampus lokális mezőpotenciáljait többcsatornás szilícium elektródák segítségével. Az eredmények általános kiterjesztésének céljából éber és altatott rágcsálókban is megfigyeltük a theta-oszcilláció keletkezését (Kramis et al., [1975](#); Stewart & Fox, [1989](#)). Uretánnal altatott patkányok mellett uretánnal altatott egerekből és éber, *drug-free* egerekből végeztünk méréseket. Azt találtuk, hogy a hippocampus theta hullámainak kialakulását a medialis septalis *pacemaker* neuronok Huygens- (frekvencia) szinkronizációja kísérte, vagyis a theta

sávú, de különböző frekvenciák harmonizálása. Megerősítettük a parvalbumint kifejező GABAerg neuronok *pacemaker* szerepét (Freund & Antal, [1988](#); Hangya et al., [2009](#); Varga et al., [2008](#)) optogenetikai *tagging* segítségével (Kvitsiani et al., [2013](#); Lima et al., [2009](#)). A glutamaterg neuronok erős tüzelési sebesség növekedést mutattak theta alatt, különösebb ritmikusság nélkül. Ez arra utal, hogy ezek a sejtek hozzájárulhatnak a *pacemaker*ek tónusos meghajtásának theta-asszociált növekedéséhez (Ford et al., [1989](#); Green & Arduini, [1954](#); Oddie et al., [1996](#); Vandecasteele et al., [2014](#); Yang et al., [2014](#)). Optogenetikai *tagging* kísérleteink igazolták, hogy a medialis septalis glutamaterg neuronok stimulációja valóban theta oszcillációt indukál a CA1-ben. Eredményeink összhangban voltak a medialis septum általunk publikált áramköri modelljével, amelyben gátló neuronok hálózata képes volt tónusos serkentés függvényében szinkronizálni és deszinkronizálni a frekvenciatartományban.

2 Kísérleti választások

Ennek a fejezetnek a célja a kutatási és kísérleti döntéseink indoklása, beleértve a vizsgált jelenség, modellek, módszerek és konkrét agyterületek azonosítását. Ezek a szempontok döntő fontosságúak a theta ritmus generációjával és szinkronizációjával kapcsolatos alapvető kérdések megválaszolásához.

2.1 A vizsgált jelenség

Az oszcillációk számos agyi funkció alapját képezik, koordinálják az információáramlást, széttagolják az idegi feldolgozást és dinamikusan összekapcsolják az osztott agyi régiókat. Ezek a ritmusok frekvenciájuk alapján delta (0,5-4 Hz), theta (4-12 Hz), alfa (8-12 Hz), beta (13-30 Hz) és gamma (30-100 Hz) sávokba sorolhatók, melyek különböző kognitív és viselkedési funkciókat támogatnak.

Az oszcillációk nem pusztán az idegi aktivitás melléktermékei. Az agyi ritmusok szerves részét képezik az neurális számításnak és kommunikációnak, lehetővé téve *neural ensemble*-k időbeli szerveződését. A specifikus oszcillációk vizsgálata során fontos betekintést nyerhetünk abba, hogyan hangolja össze hatalmas hálózatait az agy komplex funkciók elérésének érdekében.

A theta ritmus a legszabályosabb oszcillációs aktivitás a hippocampus-ban, amely a felfedező viselkedéssel, a tanulással és a memóriával kapcsolatos. A hippocampalis hálózati aktivitás időbeli referenciájaként szolgál (funkcióinak részletes leírását lásd a disszertáció *"Role of theta oscillation"* című fejezetében). A közel 90 éves kiterjedt kutatás és az egyre bővülő szakirodalom ellenére továbbra sem tisztázott annak pontos dinamikája, hogy a medialis septalis (MS) neuronok hogyan szinkronizálódnak a theta ritmus létrehozásához. Egy ilyen jelenség vizsgálata kritikus fontosságú az elméleti konstrukciók és a kísérleti megfigyelések közötti ellentmondások feloldásában, különösen az

olyan folyamatok tekintetében, mint a Huygens-szinkronizáció, amely a kapcsolt oszcillátorok elméletének egyik alapkonceptiója. A theta mechanizmusok mélyebb megértéséhez olyan módszerekre van szükség, amelyek szelektíven blokkolják a theta ritmus generálását minimális mellékhatásokkal (pl. a neuromoduláló bemenetek elvesztése, az átlagos tüzelési ráták változásai), hogy feltárhassuk az oksági összefüggéseket.

A theta ritmusok tanulmányozása az alapvető agyi folyamatokra is fényt deríthet, és potenciális alkalmazásokat kínálhat az olyan neurológiai betegségek kezelésében, mint a skizofrénia, az epilepszia vagy az Alzheimer-kór (lásd a disszertáció "*Oscillopathies: a rationale behind this study*" című fejezetét).

2.2 Kísérleti modellek

2.2.1 Az állatokon végzett kutatások jelentősége

Az állatkísérletek kulcsfontosságú szerepet játszanak az idegtudományban, mivel részletes betekintést nyújtanak a neuromoduláló rendszerekbe, ami megkönnyíti az új farmakológiai stratégiák kifejlesztését az idegi szinkronizáció fokozására vagy helyreállítására. A modern kísérleti technikák lehetővé teszik a szinkronizációs mechanizmusok feltárását vad típusú és transzgenikus állatokban egyaránt, elősegítve a jelentősebb neuralis szereplők azonosítását és a szinkronizáció olyan modelljeinek kifejlesztését, amelyek adott fajtól függetlenül általánosan érvényesek.

2.2.2 Miért rágcsálók?

A rágcsálókat, különösen a patkányokat és az egereket széles körben használják az idegtudományokban, különösen hasznos modelleknek bizonyultak az agyfunkciók és az idegi dinamika tanulmányozásánál. Az neuroanatómiai alapadatok nagy része rágcsálókon végzett vizsgálatokból származik, beleértve a hippocampus részletes feltérképezését is. A rágcsálók kiemelkedő szerepet játszanak a hippocampus funkcionális elemzéseiben, ami nélkülözhetetlen modellé teszi őket az oszcillációs tevékenységek, például a theta ritmus vizsgálatához. Rágcsálók hippocampalis theta oszcillációja nagyjából összehasonlítható az emberekével, mivel a felfedező viselkedés, a térbeli navigáció és a memóriafeldolgozás során jelennek meg, így ezek a modellek transzlációs keretet is biztosítanak a theta fajokon átívelő szerepének megértéséhez.

A rágcsálók genetikai és anatómiai szempontból is kiváló hozzáférhetőséggel rendelkeznek, lehetővé téve a pontos kísérleti manipulációkat. Az olyan technikák, mint az in vivo elektrofiziológia és az optogenetika jól bevált módszerek a rágcsálómodellekben, és hatékony eszközöket biztosítanak a specifikus neuronpopulációk és hálózatok theta generálásban betöltött szerepének vizsgálatához.

A rágcslók másik előnye a theta oszcillációk sokoldalú megjelenése. Theta ritmus nem csak az aktív ébrenlét, hanem a REM-alvás során is észlelhető, ami a viselkedési állapotokban betöltött alapvető szerepét jelzi. Ezenfelül a theta fájdalomingerekkel altatásban is kiváltható.

2.2.3 Uretánnal altatott és szabadon mozgó kondíciók

Az altatott és a szabadon mozgó rágcslómodellek használata biztosítja, hogy az eredmények nem korlátozódnak egyetlen fiziológiai állapotra, így általánosabb megértést nyújtanak a theta ritmus generálásáról és szinkronizálásáról.

Az altatott modellek ellenőrzött környezetet biztosítanak a stabil felvételekhez, minimalizálva a viselkedési tényezők okozta változékonyságot. Az uretán-indukált altatás különösen előnyös, mivel robusztus és hosszan tartó oszcillációs aktivitást tartható fenn anélkül, hogy folyamatos adagolást igényelne, ellentétben más anesztetikumokkal, mint például az izoflurán vagy a barbiturátok. Az uretán nem szünteti meg a funkcionális összeköttetést a medialis septum és a hippocampus között, így a fiziológiailag releváns theta ritmusok is megmaradnak a kísérlet során. Az uretán emellett minimális hatással van a kardiovaszkuláris és légzőrendszerre, így stabil fiziológiai alapvonalat biztosít. Végül az uretán egységes és reprodukálható hatása a kísérletekben csökkenti az állatok közötti variabilitást, ami növeli az eredmények összehasonlíthatóságát és megbízhatóságát.

Ezzel szemben a szabadon mozgó körülmények elengedhetetlenek a theta ritmusok funkcionális jelentőségének vizsgálatához az olyan természetes viselkedések során, mint a navigáció és a memória kódolása. Az altatott és a szabadon mozgó modellek kombinálásával biztosítottuk, hogy az eredmények robusztusak legyenek a különböző fiziológiai állapotok között, és így jobban általánosíthatók 'természetes' állapotokra.

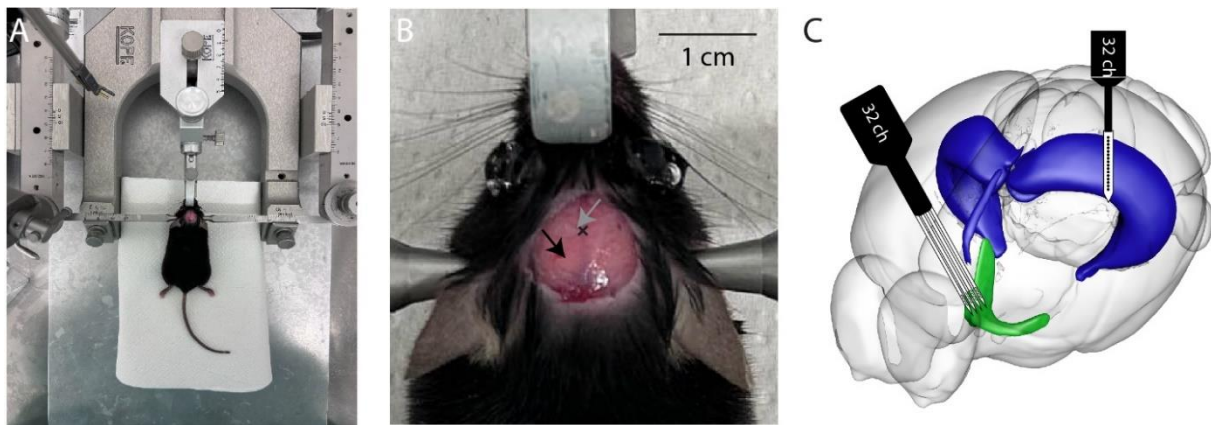
2.2.4 A számítógépes modellek jelentősége

A számítógépes modellek kiegészítik az állatkísérleteket azzal, hogy lehetővé teszik a kutatók számára a hálózati dinamikára vonatkozó hipotézisek ellenőrzött körülmények közötti tesztelését. Ezek a modellek lehetővé teszik az olyan paraméterek szisztematikus manipulálását, mint a gerjesztési szintek, a szinaptikus erősség vagy ezek variabilitása a neuronok között, hogy olyan szinkronizációs mechanizmusokat vizsgáljanak, amelyeket kísérletileg egyébként nehéz elkülöníteni. A hálózati szimulációk lehetővé tették a hálózat dinamikájának tanulmányozását különböző körülmények között, megerősítve, hogy a frekvenciaszinkronizáció elegendő a theta ritmus generálásához, függetlenül további speciális mechanizmusoktól.

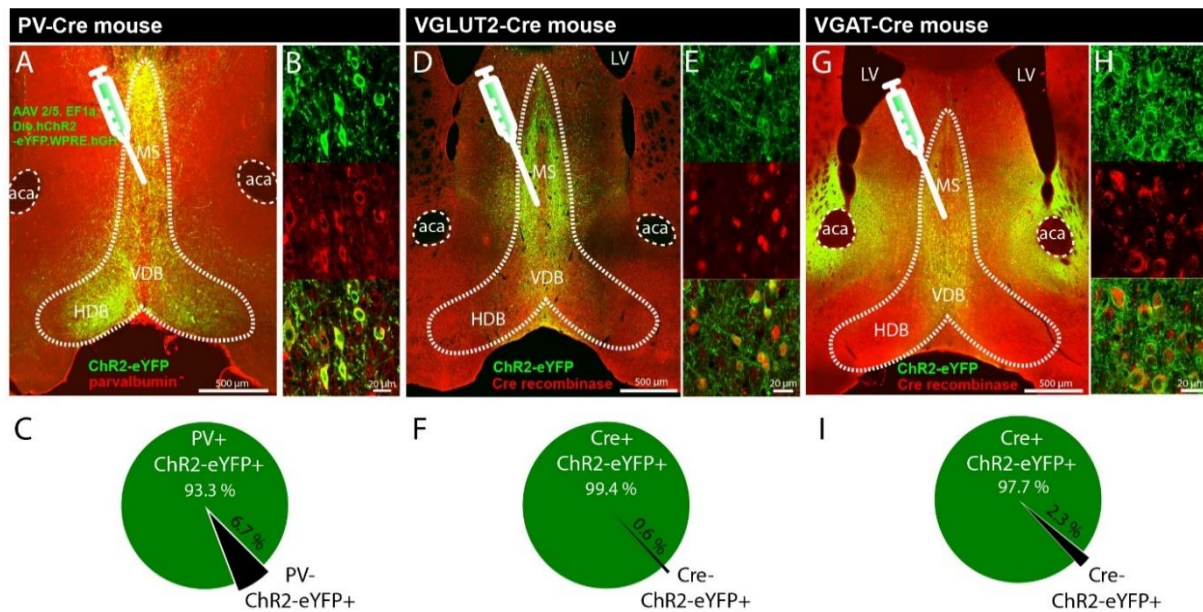
Az in vivo és az in silico megközelítések kombinálásával a szinkronizációs mechanizmusok holisztikus megértését értük el, amely túlmutat a fajspecifikus különbségeken.

2.3 Technikák

A theta ritmus keletkezésének és szinkronizációjának tanulmányozásához olyan nagy időbeli felbontású módszereket alkalmaztunk, amelyek képesek az ezredmásodperces változások rögzítésére (1C. ábra). Az elektrofiziológia a neuralis aktivitás és a helyi mezőpotenciálok (LFP) közvetlen felvételét biztosította, lehetővé téve a szinkronizáció megfigyelését mind egysejtes, mind hálózati szinten (3C ábra). Másrészt az optogenetika lehetővé tette specifikus neuralis altípusok, például a parvalbumin-expresszáló neuronok pontos azonosítását és manipulálását, segítve ezzel a ritmus generálásban és szinkronizációban betöltött szerepük tisztázását (2. ábra).



1. Ábra. 'Stereotaxic' műtét rágcsálókön (altatott egér). (A) Az orr- és fülcsontokat finoman illesztett fémrudakkal rögzítik. Az így stabilizált koponyában a váz háromdimenziós koordinátarendszerét lehet használni. (A fényképet Pillár Vivien készítette). (B) A koronális és sagittális varratok metszéspontját referenciapontként használjuk (Bregma, kereszt). Az elektródák pontos behatolási helyeit (MS: szürke nyíl, HP: fekete nyíl) az egéragy részletes anatómiai atlasza (Paxinos et al., 2001) alapján számoltuk ki. (C) Szilícium elektródákat ültetünk be az MS-be (zöld) az egysejt elvezetésekhez, és a HPC-be (lila) az LFP felvételekhez. A háromdimenziós egéragy (Bakker et al., 2015) cikkéből származik.



2. Ábra. Az MS specifikus neuron típusainak optogenetikai azonosítása. A Channelrhodospin-2 expresszió a célzott PV+, VGLUT2+ és VGAT+ neuron populációkra korlátozódik. (A) Konfokális kép a ChR2-eYFP (zöld) és a PV (piros) expressziójáról egy fertőzött PV-Cre egér MS-ében. (B) Nagy nagyítású képek a ChR2-eYFP és a PV expressziójáról az MS-ben (fent és középen) a PV expresszióval együtt. Az alul látható kompozit kép alátámasztja a ChR2 expresszió erős specificitását a PV+ sejtekben. (C) A ChR2-eYFP-t expresszáló sejtek 93,25 százaléka pozitív volt PV-re ($n = 267$ sejt 3 állatból). (D) ChR2-eYFP (zöld) és Cre rekombináza (piros) expressziója egy fertőzött VGLUT2-Cre egér MS-ében. (E) Nagy nagyítású képek a ChR2-eYFP expressziójáról az MS-ben (fent), valamint a Cre expressziójáról a VGLUT2-cre egérvonalban (középen). Alul kompozit kép látható. (F) Az eYFP-t expresszáló sejtek 99,43 százaléka pozitív volt a Cre-rekombináza ($n = 529$ sejt 3 állatból). (G) A ChR2-eYFP (zöld) és a Cre-rekombináza (piros) expressziójának képe egy fertőzött VGAT-Cre egér MS-ében. (H) Nagy nagyítású képek a ChR2-eYFP expressziójáról az MS-ben (fent), valamint a Cre expressziójáról a VGAT-Cre egérvonalban (középen). Alul kompozit kép látható. (I) Az eYFP-t expresszáló sejtek 97,65 százaléka pozitív volt a Cre-rekombináza ($n = 256$ sejt 3 állatból), ami alátámasztja a ChR2 vírus általi célzás nagyfokú specificitását a GABAerg sejtekben. (A fényképeket és az ábrát Schlingloff Dániel készítette).

2.4 Agyi célterületek és jelek

2.4.1 CA1 LFP

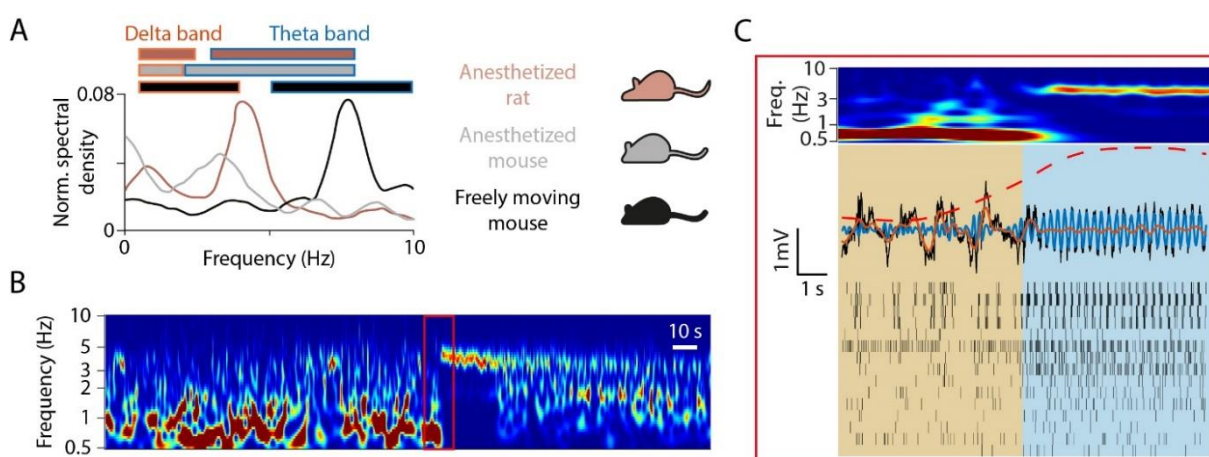
A hippocampalis formáció szövettani elrendezése miatt különösen alkalmas a mezőpotenciál (LFP) vizsgálatára. A sejttestek sűrű elhelyezkedése, az apikális dendritok nagyjából párhuzamos helyzete és szinkron aktiválódási képességük együttesen járulnak hozzá a hippocampalis mezőpotenciálok erős és viszonylag tiszta megjelenéséhez.

A CA1 és CA3 régiók hasonló citoarchitektúrája és hasonló bemenetei ellenére az utóbbiban az extracelluláris theta-áramok lényegesen kisebbek, mint az előbbiben. Ez a különbség részben a disztális dendritikus *arbor* méretének eltéréseiből és a moharostok által indukált gerjesztő áramok interferenciájából adódik az ellentétes fázisú perforáns pálya és a rekurrens kollaterális generált áramokkal.

2.4.2 Medialis septalis egysejt elvezetés

A hippocampus theta ritmusával kapcsolatos egyik legkorábbi megállapítás, amelyet a disszertáció *“Electrophysiology of the hippocampal theta, historical models”* című fejezetében tárgyalok, az volt, hogy a medialis septum léziója megszünteti a theta oszcillációkat (Petsche et al., 1962). Az MS az egész agyban központi szerepet játszik az oszcillációs neuralis aktivitások hangolásában, hozzájárulva olyan funkciókhoz, mint az érzékszervi és érzelmi *szaliencia*, a mozgás, a hangulatszabályozás, valamint a tanulás és az emlékezet irányítása.

A hippocampus a septalis theta-generáló áramkörök fő célpontja. A hippocampalis helyi mezőpotenciálokat a hippocampalis hálózat oszcillációs aktivitásának közvetlen mérésére használhatjuk. A medialis septalis egysejtek aktivitásának és a hippocampus LFP-k egyidejű rögzítése lehetővé tette számunkra, hogy az egyes neuronok dinamikáját korreláljuk a populációs szintű ritmusokkal, feltárva a frekvenciaszinkronizáció mechanizmusait és a fázisviszonyokat (3A. Ábra). Ez a kettős fókuszú megközelítés megerősítette a medialis septum *pacemaker* szerepét a hippocampus theta generálásban, összehangolva a kísérleti megfigyeléseket az elméleti előrejelzésekkel.



3. Ábra. Hippocampalis theta és nem-theta állapotok. (A) A theta és delta frekvenciasávok határait a HPC LFP-k Fourier-spektrumai alapján határoztuk meg minden modell esetében külön-külön (reprezentatív felvételek), amelyeket a felső színekkel jelölt vízszintes sávok jeleznek. (B) Reprezentatív HPC LFP wavelet spektrogramja egy altatott patkány felvételéből. A nem-theta - theta állapot átmenet (piros doboz) a C panelen nagyítva látható. (C) Felső: Theta kialakulás a B panelről. Középen: Nyers LFP (fekete), a theta (kék) és delta frekvenciasávban szűrt LFP (narancssárga), valamint a theta-delta amplitúdó arány (piros szaggatott vonal). Alul: Az MS-ből egyidejűleg rögzített egyedi egységek ($n = 15$) raster plotja. Megfigyelhető a hálózati aktivitás változása theta kezdetén.

3 Módszerek

A hippocampalis theta oszcillációit régóta vizsgálják uretánnal altatott és éber rágcsálókban (Borhegyi et al., 2004; Buzsáki, 2002; Klausberger & Somogyi, 2008; Kramis et al., 1975; Mikulovic et al., 2018; Stewart & Fox, 1989). A különböző theta modellrendszerek közötti hasonlóságok és különbségek feltárása érdekében három független adathalmazt gyűjtöttünk (3. ábra). A medialis septumból (MS)

egysejt aktivitásokat rögzítettünk szilícium elektródák segítségével altatott patkányokból (n = 903 neuron N = 7 patkányból; 416 neuron elégendően aktív mindkét- 636 neuron legalább az egyik állapotban (theta vagy nem-theta)), altatott egerekből (n = 1155 neuron N = 11 egérből; 617 neuron elégendően aktív mindkét- 950 neuron legalább az egyik állapotban (theta vagy nem-theta)) és éber egerekből (n = 312 neuron N = 4 egérből; 265 neuron elégendően aktív mindkét- 289 neuron legalább az egyik állapotban (theta vagy nem-theta)). Ezzel egyidejűleg lineáris szilícium elektródák segítségével helyi mezőpotenciálokat (LFP) rögzítettünk a hippocampus dorzális CA1 területének minden rétegéből (3. ábra). A műtéti eljárások, a felvételek és az adatok előfeldolgozásának részletes leírását lásd a disszertáció *“Surgery and electrophysiological recordings – Methods”* című fejezetében.

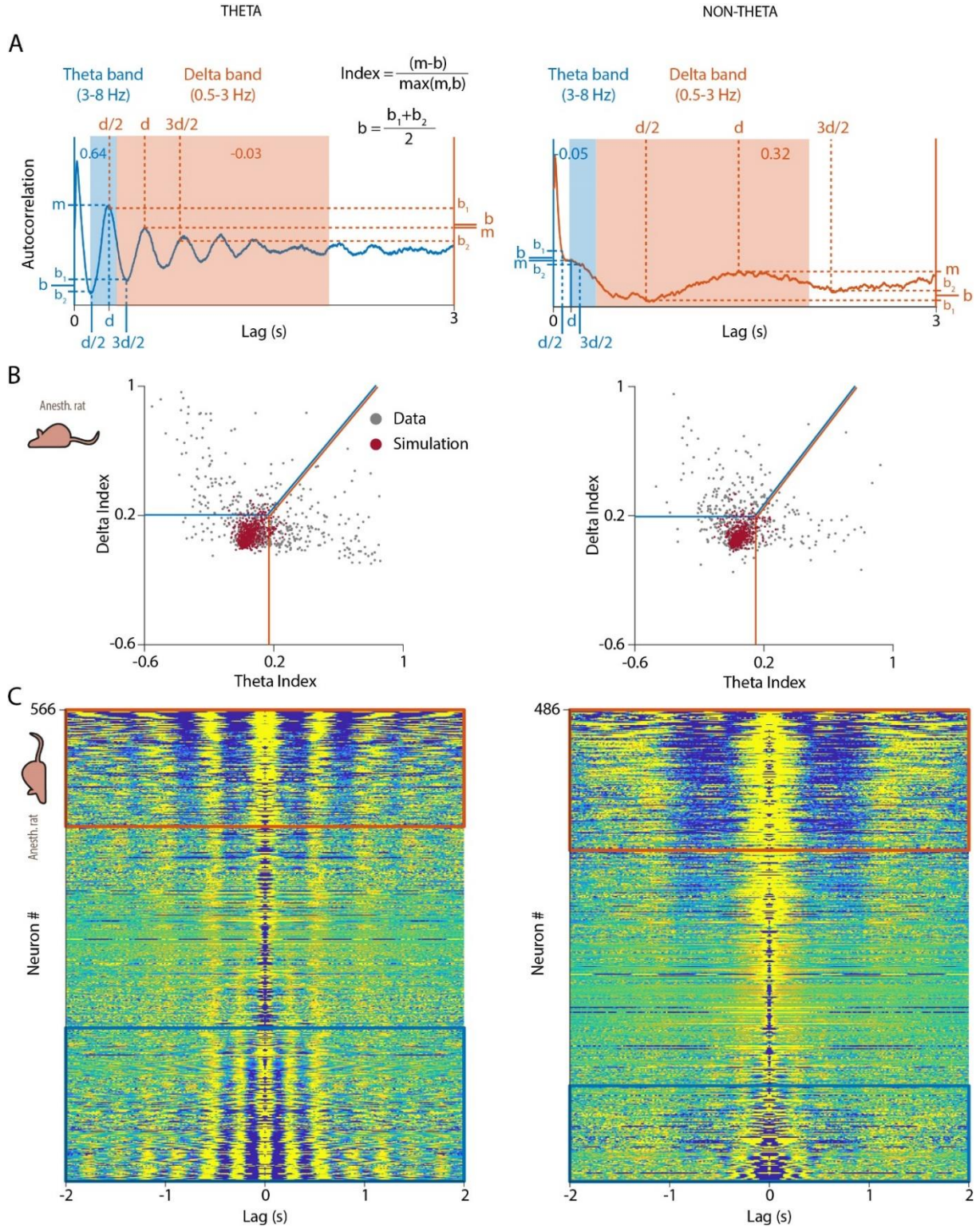
A hippocampalis felvételeket a theta és a lassabb frekvenciasávok amplitúdójának aránya alapján szegmentáltuk **domináns theta és nem-theta szakaszokra**. Az LFP felvételeket sávszűrővel szűrtük a theta és delta sávokban, majd Hilbert-transzformáltuk, hogy megkapjuk a megfelelő frekvenciakomponensek amplitúdó- és fázisértékeit (3. ábra; a részleteket lásd a disszertáció *“Hippocampal state detection”* című részében).

Ezután a medialis septalis neuronok tüzelési mintázatát elemeztük **a theta-ritmikus, delta-ritmikus (vagy nem-ritmikus) moduláció** szempontjából mindkét hippocampalis állapotban (4. ábra). Kiszámítottuk a neuronok *spike train*-jeinek autokorrelogramjait, majd a különböző frekvenciasávok alapján ritmikussági indexeket definiáltunk. A szignifikáns ritmikus moduláció küszöbértékeit *bootstrap* permutációs teszttel határoztuk meg az elfogulatlan osztályozás biztosítása érdekében. Első lépésként Poisson-neuronokat szimuláltunk a rögzített MS sejtek tüzelési rátái alapján. A szimulált neuronokra a ritmikussági indexeket a biológiai felvételekre alkalmazott eljárással számoltuk ki. Utolsó lépésben meghatároztuk a fenti *bootstrap* nulleloszlás alapján $p < 0,05$ szignifikancia-szinteknek megfelelő ritmikussági index küszöbértékeket (4. ábra; részleteket lásd a disszertáció *“Rhythmicity Indices of septal neurons”* című fejezetét).

Az MS-neuronok ritmikus mintázatai alapján **ritmikussági csoportokat** hoztunk létre. E csoportok tüzelési tulajdonságait és fáziskapcsolatait mindhárom adathalmazban jellemeztük (lásd a disszertáció *“Hippocampal phase of septal spikes and phase-coupling”* című fejezetét).

A ritmikussági csoportokon belüli és a csoportok közötti **szinkronizáció** vizsgálatához páronkénti keresztkorrelációkat számoltunk ki az MS-sejtek *spike train*-jeire (n = 527 egyszerre rögzített pár, altatott patkány). A szinkronitás erősségét számszerűsítettük és statisztikailag összehasonlítottuk a ritmikussági csoportokon belül és azok között (lásd a disszertáció *“Hippocampal phase of septal spikes and phase-coupling”* és *“Statistical testing”* fejezeteit).

A keresztkorrelációs elemzés azt mutatta, hogy a ***pacemaker* neuronok irányító szerepet játszanak a theta szinkronizációban**. Annak vizsgálatára, hogy ezek a neuronok hogyan érik el a szinkronizációt, számos paramétert számoltunk ki és hasonlítottunk össze a theta és nem-theta epizódok között (8. ábra). Ezek közé tartoznak a tüzelési ráták, a ritmikussági frekvenciák (autokorrelogramokból becsülve), az *intraburst interspike intervallumok* és a *theta skipping* (a "csendes" ciklusok aránya a neuron theta frekvenciája által meghatározott ciklusai között). A frekvenciaszinkronizációs mechanizmus feltárása érdekében a ritmikus frekvenciák különbségeit a *pacemaker* neuronok egyidejűleg rögzített párpai között számoltuk ki. Emellett az összes egyidejűleg rögzített *pacemaker* frekvenciát megvizsgáltuk, hogy megállapítsuk, hogy azok konvergálnak-e egy szűkebb eloszláshoz (lásd a disszertáció "*Huygens synchronization of pacemaker cells*" című fejezetét). A theta és nem-theta paraméterpárokat Wilcoxon előjeles rangösszeg próbával hasonlítottuk össze (lásd a disszertáció "*Statistical testing*" fejezetét).



4. Ábra. A medialis septalis egységek theta és delta ritmikájának meghatározása. (A) A spike train-ek autokorrelációit minden neuron esetében kiszámítottuk theta (balra) és a nem-theta állapotok (jobbra) alatt. A theta-indexet úgy számoltuk ki, hogy a theta-sáv csúcsát (m a d késleltetésnél) normalizáltuk a csúcs előtti és utáni átmenetpontok átlagával (b , a b_1 és b_2 átlaga a $d/2$ és $3d/2$ lag-nél) mindkét állapotra (kék számok a vonalak felett). A delta indexet hasonló algoritmussal számoltuk ki a delta sávra (piros számok). (B) A theta és delta indexet az összes rögzített neuronra kiszámítottuk theta (balra) és nem-theta szakaszok alatt (jobbra; szürke, altatott patkányok felvételei láthatóak), valamint a szimulált Poisson-neuronokra, amelyek tüzelési rátáját az in vivo adatok alapján állítottuk be (piros). A szignifikáns ritmikusságot a Poisson-neuronok Theta- és Delta-index-eloszlásainak 0,05 percentilisével határoztuk meg (függőleges és vízszintes vonalak). Ha mindkét index meghaladta a küszöbértéket, a két ritmikussági index közül a nagyobbát vettük figyelembe (átlós vonal). (C) Autokorrelogramok (balra theta szegmensek balra; nem-theta szegmensek jobbra) az összes elegendően-aktív neuronra, a két ritmikussági index közül a

nagyobbik szerint rendezve: delta-ritmikus felül és theta-ritmikus alul; szignifikánsan delta- és theta-modulált neuronok a megfelelő színes vonalak felett és alatt (altatott patkány).

Az MS neuronok genetikai és neurotranszmitter identitásának meghatározására **optogenetikus tagging** kísérleteket végeztünk PV-IRES-Cre (N = 4, genetikai háttér FVB/AntFx), VGAT-Cre (N = 4, genetikai háttér Bl6Fx) és VGluT2-Cre (N = 5, genetikai háttér C57BL/6J) egereken. Ezeket az állatokat egy Cre-függő Channelrhodopsin (ChR2) konstrukcióval (adeno-asszociált vírusvektor) transzdukáltuk, amelyet az MS-be injektáltunk a parvalbumin-expresszáló, GABAerg és glutamaterg MS-neuronok azonosítására. Körülbelül két héttel a vírusinjekció után az állatokat uretánnal elaltattuk és a szilikon elektródát ültettünk a HPC-be és az MS-be. Az MS elektróda mellé optikai szálát helyeztünk, hogy lehetővé tegyük a célzott sejttypusok szelektív aktiválását. Minden mérési mélységben a felvételek elején és végén 20 Hz-es fényimpulzusokat alkalmaztunk (részletes leírásért lásd a disszertáció *“Surgery and optogenetic tagging protocol”* című fejezetét).

A hippocampalis LFP szegmentációját, az MS sejtek ritmikus modulációját és a szinkronizációs mérőszámokat ugyanazokkal a módszerekkel számoltuk ki, amelyeket korábban a "vad típusú" adathalmaz esetében is leírtunk (lásd a disszertáció *“State detection and spike sorting”* című fejezetét).

Az MS fotostimuláció hippocampalis oszcillációkra gyakorolt hatásának értékeléséhez spektrális teljesítmény arányokat számoltunk a delta- és theta-frekvenciasávok wavelet spektrogramjaiból. Az átlagos theta-delta teljesítményarányokat a stimulációs és a stimuláció nélküli időszakok alatt Wilcoxon előjeles rangösszeg teszt segítségével hasonlítottuk össze (lásd a disszertáció *“Statistical testing”* című fejezetét).

Mivel kíváncsiak voltunk, hogy egy homogén *pacemaker* populáció egyszerű hálózati modellje képes-e a megfigyelt in vivo dinamikát reprodukálni, MS neuronokat szimuláltunk egy minimalista, **egy-kompartimentumos konduktancia alapú modellből** kiindulva, amelyet eredetileg gyors *spiking burst* dinamika megfigyelésére terveztek (Golomb et al., [2007](#)). Ez a modell tartalmazta az akciós potenciálok generálásához szükséges tranziens nátriumcsatornát (nas), a gyors *spiking* alatti repolarizációhoz szükséges késleltetett egyenirányító káliumcsatornát (kdr) és a *bursting* viselkedéshez szükséges lassan inaktiválódó d-típusú káliumcsatornát (kd). Ezenfelül hozzáadtuk még a hiperpolarizáció által aktivált H-áramért felelős HCN-csatornát (hcn) is (generikus HCN-modellből, (Káli & Zemankovics, [2012](#)) alapján). A "kd" és a "hcn" csatornák paramétereit finomhangoltuk, hogy elérjük az in vivo ritmikussági frekvenciát és hogy kiváltsuk az úgynevezett *sag* választ (*11. ábra*; a részleteket lásd a disszertáció *“Septal pacemaker neuron model”* című fejezetében).

A ritmikus neuron modell kifejlesztését követően szimuláltuk az MS **sejthálózatát**. Húsz *pacemaker* gátló szinapszisokkal kapcsolunk össze, melyek paramétereit a GABA-A receptorok kísérletileg mért reverzális potenciálja és exponenciális lecsengési faktorja alapján állítottuk be. Minden neuron

szomatikusan kapott egy nem-ritmikus ("tónusos") gerjesztő áramot. A hálózat szinkronizációs és deszinkronizációs képességeinek felmérésére egy gyenge - erős (1,4-szeres) - gyenge stimulációs protokollt alkalmaztunk a sejteken. A gerjesztési erősség növekedésének mértékét az MS glutamaterg neuronok theta alatti átlagos tüzelési ráta növekedése alapján határoztuk meg (10. ábra). A hálózati szimulációk további részleteit lásd a disszertáció *"Modeling the septal pacemaker network"* című fejezetében.

A szimulált *pacemaker* hálózat aktivitása alapján modelleztük a hippocampus septalis bemenetét. A hippocampalis populációs aktivitás szegmentációját, az MS sejtek ritmikus modulációját és a szinkronizációs mérőszámokat ugyanazokkal a módszerekkel számoltuk ki, amelyeket korábban a "vad típusú" adathalmaz esetében is leírtunk.

A theta-generáló mechanizmusok robusztusságának tesztelésére szimulációk egy sorozatát hajtottuk végre. A kapcsolási ráta (0-100%, 20%-os lépésekben), az átlagos szinaptikus késleltetés (1, 4, 7, 11, 15 ms), az átlagos abszolút szinaptikus erősség (1, 3, 6, 9, 12 nS), az alap ingerlési erősségek átlaga (40-80 pA, 10 pA lépésekben) és a varianciája (0-20%, 5%-os lépésekben) által kifizített **paraméterteret** vizsgáltuk. A szinaptikus súlyok-, késleltetések- és lecsengési idők varianciáját 10%-on tartottuk. A kiértékeléshez minden paraméter elrendezéshez tartozó szimulációra kiszámoltunk egy egyszerű szinkronizációs pontszámot, amely az elvárt viselkedés (theta vagy nem-theta) és a ténylegesen detektált viselkedés (theta vagy nem-theta) időbeli arányát adta meg. A paraméterter vizsgálatával kapcsolatos további információkért lásd a disszertáció *"Exploring the parameter space of the pacemaker network model"* című fejezetét.

3.1 Résztvevők

A következőkben ismertetem a disszertáció pillérjeihez tartozó saját és társszerzős hozzájárulásokat (Király et al., [2023](#); Kocsis et al., [2022](#)). Az itt tárgyalt pontokon felül a disszertáció minden egyes érintett fejezetének végén feltüntettem a társszerzők hozzájárulásait is, affiliációjukkal együtt.

Az állatműtéteket, az elektrofiziológiai **felvételeket** és a felvételek helyének **szöveti ellenőrzését** Hangya Balázs, Fiáth Richárd, Domonkos Andor és Sergio Martínez-Bellver kollégáim végezték. Az *optotagging* kísérletek specifikálásának ellenőrzésére szolgáló **immunfestést** Schlingloff Dániel végezte. E módszerek részletes leírását technikai szempontból értelmezett teljesség kedvéért vettem bele a disszertációba.

A rögzített adatok **előfeldolgozásához** tartozott a legnagyobb amplitúdójú hippocampalis csatorna kiválasztása és a septalis neuronok *spike sorting*-ja. Ezeket a feladatokat én végeztem, kivéve az akut patkány adathalmaz *spike sorting*-ját, melyet Barthó Péter készített el.

Az állapotfüggő **ritmikai osztályok** azonosítását az MS-ben és **szinkronizációjuk elemzését** teljes egészében én végeztem Hangya Balázs irányításával.

A septalis ritmikus **sejtmodellt** egy létező modell (Golomb et al., [2007](#)) felhasználásával fejlesztettük ki, és egy létező általános HCN modell (Káli & Zemankovics, [2012](#)) felhasználásával bővítettük a H árammal. Ugyancsak technikai szempontból a teljesség kedvéért osztom meg a transzmembrán áramok szabályozását végző aktiváló és inaktíváló kapuk differenciálegyenleteit.

A **hálózat** felépítését és a modell-szinkronizáció vizsgálatát teljes egészében én végeztem. A Golomb-modell paramétereinek finomhangolását és a hálózat modellezését Káli Szabolcs és Hangya Balázs irányításával hajtottam végre.

Az adatfeldolgozást és az eredmények elemzését saját fejlesztésű Matlab-kódok kódok (MATLAB 2016a és 2020a (Mathworks, Natick, USA)) segítségével végeztük. A modellszimulációkat a NEURON szoftver segítségével hajtottuk végre. Mind a Matlab, mind a NEURON szoftverködöt deponáltuk a Zenodónál, és nyilvánosan elérhető a <https://doi.org/10.5281/zenodo.6798310> oldalon. A kód GitHub-tárhelye [a https://github.com/hangyabalazs/ms_sync_analysis](https://github.com/hangyabalazs/ms_sync_analysis) címen érhető el.

4 Eredmények

Ez az értekezés két pilléren nyugszik. A Kocsis et al. cikkben definiáltuk a septalis ritmikusági csoportokat és vizsgáltuk szinkronizációs mechanizmusait, valamint szerepüket a hippocampus theta frekvenciájú oszcillációinak generálásában (Kocsis et al., [2022](#)). Az itt bemutatott kutatások és eredmények nagyrészt ehhez az elsőszerzős cikkhez kapcsolódnak.

A második pillér a társszerzős Király et al. tanulmányra támaszkodik (Király et al., [2023](#)). Ez a munka a septalis sejtek viselkedését vizsgálta a hippocampalis theta spektrális komponenseivel (tSC) kapcsolatban. Az előfeldolgozott adatok és az osztályozó kódok részben az első projektből származtak. Király et al. cikkben a septalis ritmuscsoportok tSC-függő viselkedéséről számoltunk be (Kocsis et al., [2022](#)). A tanulmány egyéb eredményeivel ebben a disszertációban nem foglalkoztam.

A két dolgozatot az a megállapítás köti össze, hogy az első tanulmányban meghatározott ritmikus csoportok a második tanulmányban is külön funkcionális csoportokat alkottak. A septalis sejtek tüzelési mintázatai tehát arra utalnak, hogy aktív szerepet játszanak nemcsak a hippocampalis theta-, hanem a gamma-frekvenciájú oszcillációk generálásában is.

4.1 I. téziscsoport.

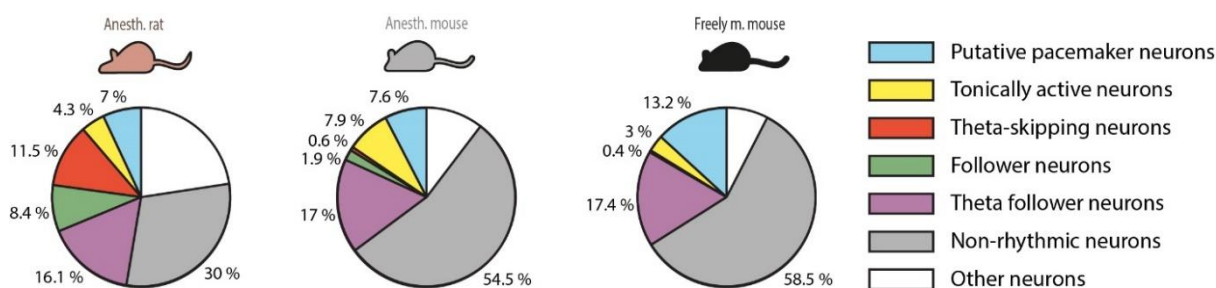
A medialis septalis ritmikus neuronok hippocampalis állapotfüggő osztályozásával és szinkronizációjuk feltérképezésével kapcsolatban.

Ia. tézis. Félautomata módszerem funkcionális neuronosztályokat azonosít ritmikus tüzelési tulajdonságaik alapján.

Kapcsolódó publikációk: Király et al., [2023](#); Kocsis et al., [2022](#).

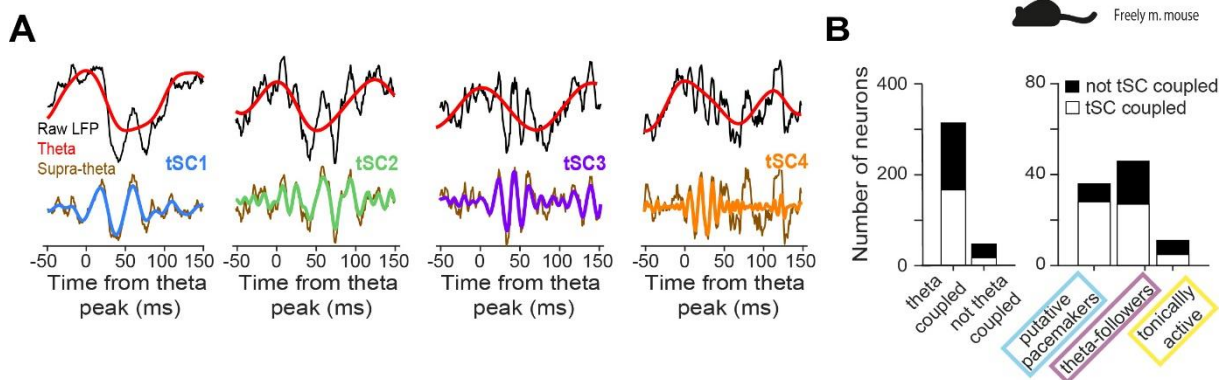
Kifejlesztettem egy Matlab kódcsomagot a neuronok ritmikusságon alapuló osztályozására. Néhány előfeldolgozási lépést és a vizsgált rágcsálómodellnek megfelelő globális változók manuális megadását követően a szoftver önállóan osztályozza a sejteket, és kiszámítja a csoportátlagokat, valamint a csoporton belüli és a csoportok közötti szinkronizációs értékeket.

Kísérleteinkben a ritmikus viselkedés négy fő kategóriáját figyeltem meg: *pacemaker*, *theta follower/follower*, *theta skipping* és tónusosan aktív neuronok (5. ábra). Ezen osztályok tüzelési tulajdonságait és fáziskapcsolatait mindhárom adatkészletben jellemeztem. A ritmikus csoportok részletes leírását lásd a disszertáció *“Rhythmic neuron classes of the medial septum”* című fejezetében.



5. Ábra. A medialis septalis neuronok aránya a különböző ritmikussági csoportokban altatott patkányokban (balra), altatott egerekben (középen) és szabadon mozgó egerekben (jobbra).

Amikor a septalis ritmikus sejteket a hippocampalis tSC-kkel kapcsolatban vizsgáltuk, jelentős tüzelési modulációt figyeltünk meg (6. ábra; lásd a disszertáció *“Septal rhythmic cells contribute to hippocampal supra-theta oscillations”* című fejezetét). A feltételezett *pacemaker* és *theta-follower* neuronok a gamma-sávú tSC-ket tartalmazó ciklusokban megnövekedett tüzelési frekvenciát és theta-fázis kapcsolódást mutattak, míg a tónusosan aktív sejtek szintén növelték tüzelési frekvenciájukat. Ezeknek a neuronoknak a többsége specifikus tSC-fázisokhoz volt kapcsolva. Ezenkívül a tSC-vel kapcsolt feltételezett *pacemaker* nemcsak megelőzték az összes tSC-t, hanem a tSC-kkel kapcsolt sejtek között a legkorábbi „előjelzőknek” bizonyultak. Félautomata módszerem tehát a theta frekvencián túli ritmusgenerálásban is bevont funkcionális neuronosztályokat azonosított.

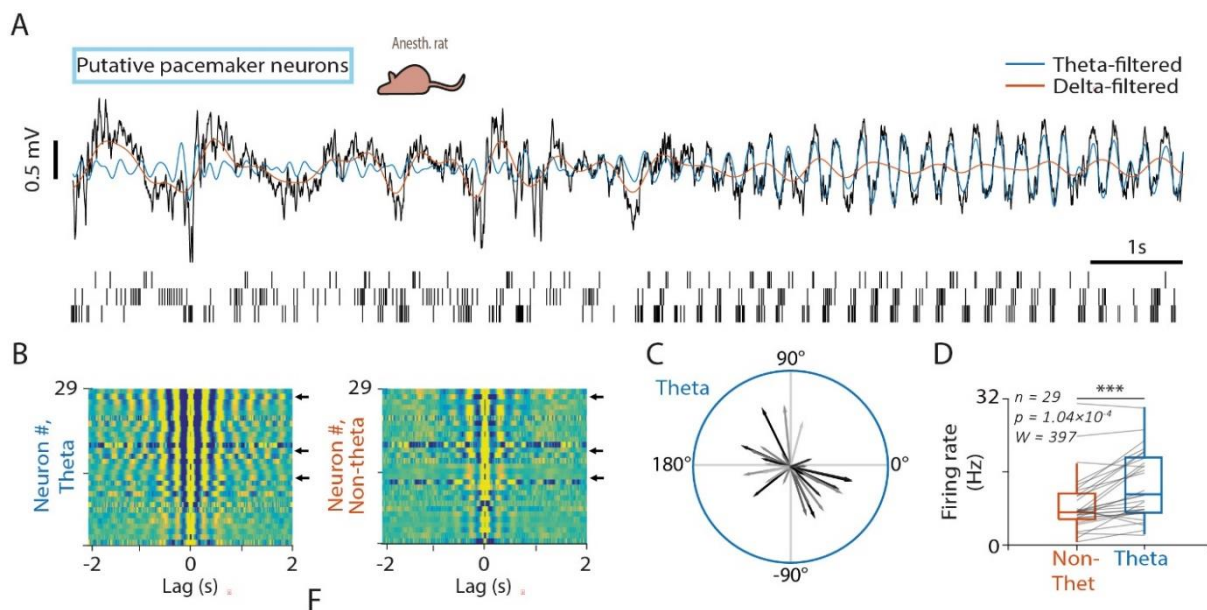


6. Ábra. A ritmikus septális sejtek aktivitása CA1 supra-theta spektrális komponensek alatt (szabadon mozgó egér). Az ábrák a Király et al. tanulmányból származnak (Király et al., 2023). (A) "Különböző tSCket tartalmazó példa theta ciklusok." (Király et al./ 1./e ábra). (B) "Halmazott oszlopdiagram, amely a tSC-kapcsolt neuronok (üres oszlopok) arányát mutatja a theta-kapcsoltság (balra) és a ritmikus tüzelési tulajdonságok (jobbra) függvényében". (Király et al./3.ábra/f).

1b. tézis. A pacemakerek szinkronizálják burst frekvenciájukat.

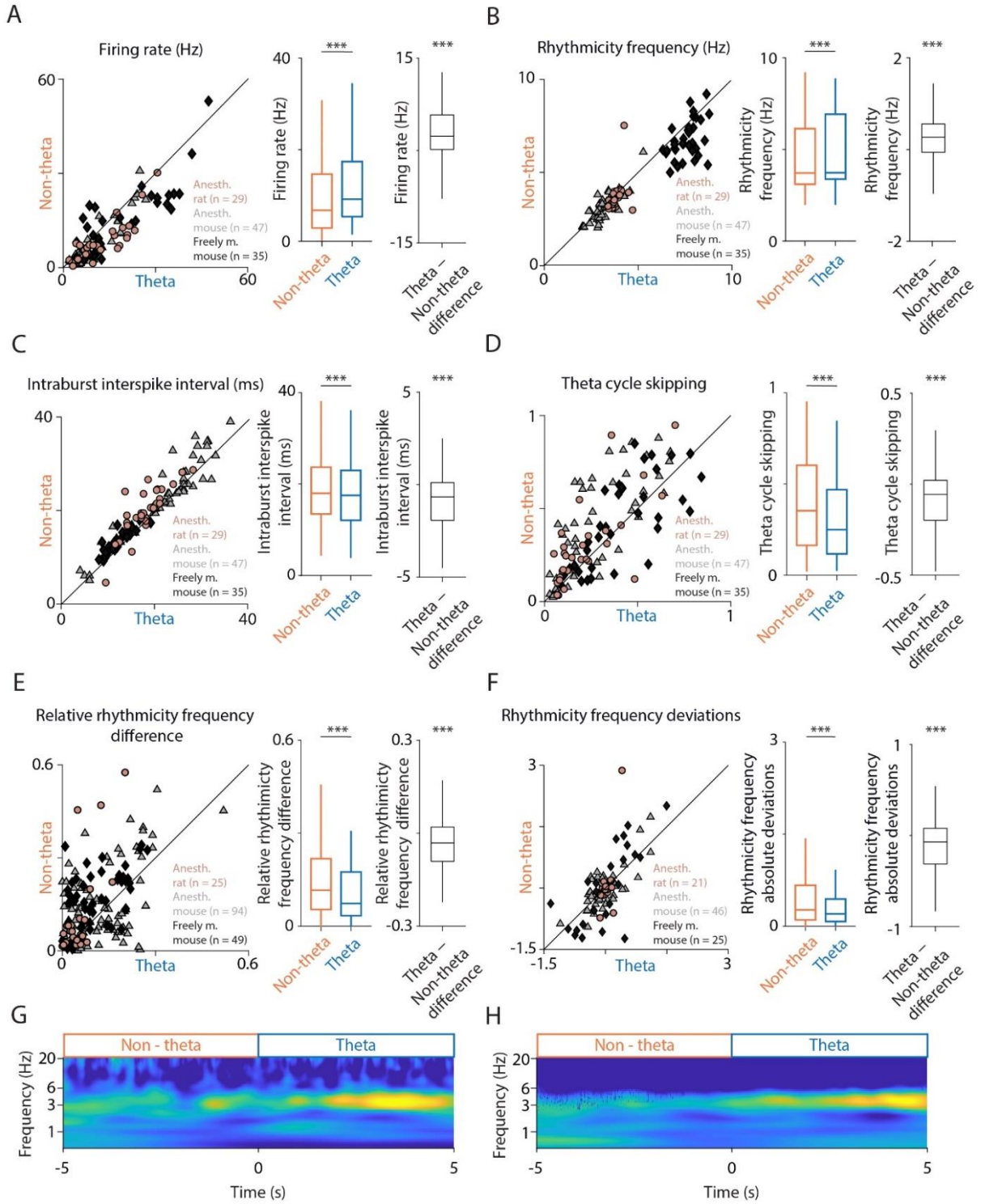
Kapcsolódó publikációk: Kocsis et al., 2022.

A ritmikus csoportok keresztkorrelációs elemzése a *pacemaker* neuronok theta szinkronizációban betöltött központi szerepét jelezte. A *pacemakerek* a hippocampus állapotától függetlenül theta-ritmikus *burst*-öket tüzeltek és a hippocampalis theta fázisához kapcsolódtak (7. ábra; a részleteket lásd a disszertáció "Synchronization of rhythmicity groups" című fejezetében).



7. Ábra. Pacemaker neuronok (altatott patkány). A neuronok e csoportja a hippocampus állapotától függetlenül theta ritmusú burstöket tüzel. (A) Fent: A CA1-ből származó nyers LFP (fekete) delta-theta állapotú átmenetet mutat. Lent: Spike raster három példa a pacemaker neuronokra ugyanabból a felvétélből. (B) Az összes pacemaker neuron autokorrelogramja a theta (balra) és a nem-theta (jobbra) szakaszok alatt. A nyilak jelzik a példa neuronokat az A panelről. (C) Az összes pacemaker neuron HPC theta fázis kapcsolata, poláris koordinátákban. Szög: körfázis; hossz: átlagos vektorhossz; a szürke skála az átlagos tüzelési rátának felel meg (fekete magasabb tüzelési ráta). Látható, hogy a neuronok két ellentétes fázisú klasztert alkottak theta alatt (147,28° és 342,57°, lásd a szöveget). (D) A feltételezett pacemaker neuronok tüzelési rátája a nem-theta és theta szakaszok alatt. A dobozok és a whiskerek interkvartilis tartományokat, illetve nem kiugró tartományokat jelölnek. A vonalak az egyes neuronoknak felelnek meg. A tüzelési ráta szignifikánsan magasabb volt theta alatt (Wilcoxon előjeles rangösszeg teszt).

A medialis septalis *pacemaker* szinkronizáció mechanizmusainak megfigyeltetéséhez négy, egymást nem-kizáró alternatívát vizsgáltam: tónusos meghajtás változása, *burst* tulajdonságok változása, *theta skipping* és frekvencia szinkronizáció. E mechanizmusok metrikái fokozott tónusos meghajtást, csökkent *theta skipping*-et és viszonylag stabil *burst*-tulajdonságokat mutattak theta alatt (8. ábra; lásd a disszertáció "*Huygens synchronization of pacemaker cells*" című fejezetét). Emellett a *pacemaker*ek a *burst*-jeik frekvenciáját a kapcsolt ingaórákhoz hasonló módon szinkronizálták, mely jelenség Huygens-szinkronizáció néven ismert a fizikában (8. ábra; lásd a disszertáció "*The sympathy of clocks*" című fejezetét).



8. Ábra. A septalis (feltételezett) pacemakerok szinkronizálják a burst frekvenciájukat. (A) Az MS pacemakerok tüzelési frekvenciája magasabb volt a theta oszcilláció alatt, mint a nem-theta szegmensek alatt. Balra, a scatter plot az összes pacemaker neuron tüzelési sebességét mutatja, színekódolva a rágsálók theta modelljei szerint. Középső és jobb oldali, box-whisker plotok, amelyek az összevont adatok statisztikáit mutatják (***p < 0,001; $p = 1,402 \times 10^{-9}$, $W = 5166$, $n = 111$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). A három adathalmazra vonatkozó statisztikákat lásd a disszertáció S3. táblázatában. Ezen az ábrán és minden box-whisker ábrán a medián, az interkvartilis tartomány és a nem-kiugró tartomány szerepel. (B) Balra, a pacemakerok ritmikussági frekvenciájának scatter plotja, a theta-sávban az első autokorrelációs csúcsához tartozó lag alapján mérve. Középső és jobb oldali, az összevont adatokra vonatkozó statisztikák magasabb ritmikussági frekvenciát jeleztek hippocampalis theta alatt (***p < 0,001; $p = 2,64 \times 10^{-7}$, $W = 4857,5$, $n = 111$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). (C) Balra, a pacemaker neuronok átlagos intraburst interspike intervallumainak (ISI) scatter plotja. Középső és jobbra, az ISI mérsékelt csökkenése a theta oszcilláció során az intraburst frekvencia enyhe emelkedését jelzi (***p < 0,001; $p = 7,336 \times 10^{-5}$, $W = 1275,5$, $n = 111$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). (D) Balra, a pacemakerok theta skipping arányának scatter plotja

a nem-theta és theta szegmensek alatt. Középen és jobbra, az összevont adatok statisztikái azt mutatják, hogy a pacemaker neuronok több theta-ciklust hagytak ki a nem-theta szegmensek alatt (** $p < 0,001$; $p = 3,021 \times 10^{-6}$, $W = 1521$, $n = 111$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). (E) Balra, a pacemaker neuronok relatív frekvenciakülönbségének scatter plotja az egyidejűleg rögzített párok esetében, a nagyobb frekvenciájával normalizálva. Középen és jobbra, az összevont adatokra vonatkozó statisztikák azt mutatják, hogy az egyes pacemakerek frekvenciája hasonlóbbá vált a theta oszcilláció során (** $p < 0,001$; $p = 3,17 \times 10^{-6}$, $W = 4156$, $n = 168$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). (F) Balra, adott felvétel átlagos ritmikus frekvenciájától való eltérés a theta vs. nem-theta szegmensek során a pacemaker neuronok esetében (olyan felvételek, amelyekben legalább két feltételezett pacemakert együtt rögzítettek). Középen és jobbra, az összevont adatokra vonatkozó statisztikák azt mutatják, hogy az abszolút eltérés az átlagos ritmikus frekvenciától szignifikánsan nagyobb volt a nem-theta szegmensek alatt (** $p < 0,001$; $p = 4,189 \times 10^{-4}$, $W = 1233$, $n = 92$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). (G) Egy példa pacemaker neuronpár átlagos wavelet-koherencia spektrogramja (a spikeokat 50 ms-os Gauss-ablakkal konvolváltuk, a példa altatott patkányból származik), átlagolva a nem-theta - theta átmenetek körül. (H) Az uretánnal altatott patkányokban felvett pacemaker neuronpárok átlagolt wavelet-koherencia spektrogramja (nem-theta - theta átmenet 0. időpillanatban; olyan felvételekből, amelyekben legalább két pacemaker neuront együtt rögzítettek, $n = 25$ pár).

4.2 II. téziscsoport.

A medialis septum farmakológiai neuron típusainak optogenetikai jelölésével kapcsolatban.

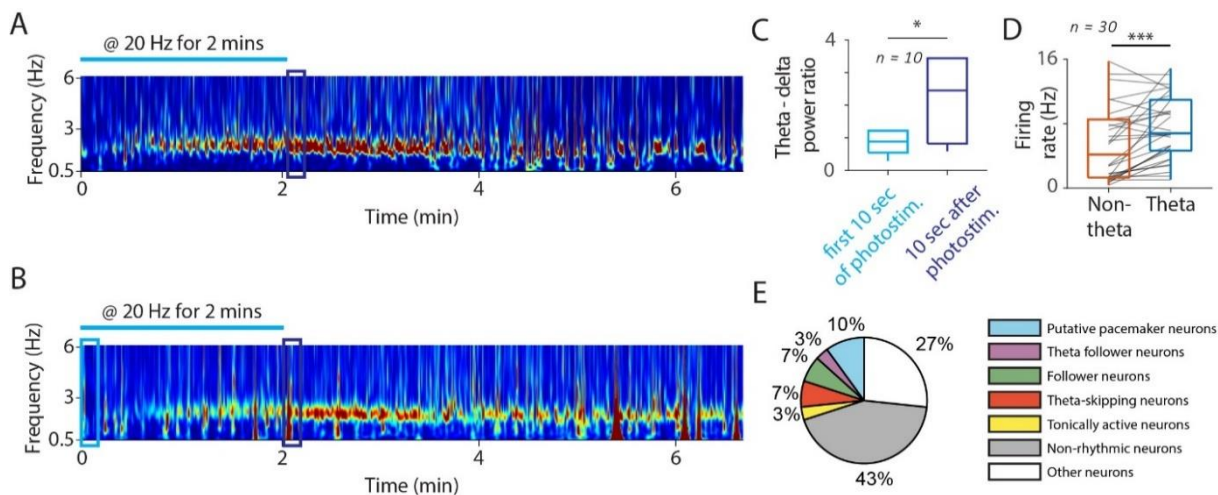
A medialis septalis neuronok genetikai és neurotranszmitter-identitásának feltérképezésére optogenetikai *tagging*-et végeztünk uretánnal altatott egerekben. A PV+ ($n = 18$, 2 állatból), GABAerg ($n = 20$, 2 állatból) és glutamaterg ($n = 30$, 3 állatból) neuronok sikeres jelölését követően (2. *ábra*), a ritmikussági elemzések ugyanazon sorozatát végeztem el ezeken a felvételeken mint a "vad" típusú adathalmazban. Végül a ritmikussági osztályok arányát értékeltem az egyes megjelölt csoportokban.

Ila. tézis. A PV-expresszió a theta-generáló septalis populációt jelöli.

Kapcsolódó publikációk: Kocsis et al., [2022](#).

A PV-expresszálo csoportban találtam a legnagyobb arányban *pacemaker* sejteket ($n = 9/18$ neuron), ami arra utal, hogy a PV-expresszió a theta-generáló populációt jelöli (9. *ábra*).

Amikor kiszámítottam a relatív frekvenciakülönbségek theta-asszociált változását azok között a *pacemaker* párok között ahol legalább az egyik sejtet PV+ volt, hasonló frekvencia-szinkronizációt ("Huygens-szinkronizáció") figyeltem meg, mint amit a nem jelölt *pacemaker* párok esetében kimutattam (9. *ábra*; a részletekért lásd a disszertáció "PV+ *pacemaker* cells synchronize their frequencies" című fejezetét).



10. Ábra. A glutamaterg sejtek 20 Hz-es stimulációja theta-t generál a CA1-ben. (A) Egy CA1 LFP szakasz wavelet spektrogramja az MS glutamaterg neuronok 20 Hz-es stimulációja alatt és után. A photo-stimuláció tartós theta oszcillációt indukált (altatásban jellemző az alacsonyabb theta frekvencia). (B) A 20 Hz-es glutamaterg stimuláció összes felvételeinek ($n = 10$) átlaga. (C) Box-whisker plot, amely a theta - delta arány szignifikáns növekedését mutatja glutamaterg stimuláció hatására. A medián, az interkvartilis tartomány és a nem kiugró tartomány látható ($*p < 0,05$; $p = 3,71 \times 10^{-2}$, $W = 7$, $n = 10$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). (D) Az optogenetikával azonosított MS glutamaterg neuronok többsége erős növekedést mutatott tüzelési rátában theta alatt ($***p < 0,001$; $p = 8,94 \times 10^{-4}$, $W = 394$, $n = 30$. Az arányos növekedés mediánja $\pm$ a medián standard hibája, $1,42 \pm 0,34$). (E) A ritmikus típusok aránya 30 azonosított glutamaterg neuronon belül.

4.3 III. téziscsoport.

A medialis septalis theta generáció modellezésével kapcsolatban.

Az elektrofiziológiai felvételek elemzése azt sugallta, hogy a fokozott tónusos gerjesztés a septalis *pacemaker*ek frekvencia szinkronizációját indukálja, ami a hippocampalis theta oszcilláció kialakulásához vezet. A theta szinkronizáció megértésének elmélyítése érdekében egy minimalista hálózati modellt fejlesztettem ki, amely lehetővé tette az in vivo eredmények közvetlen tesztelését.

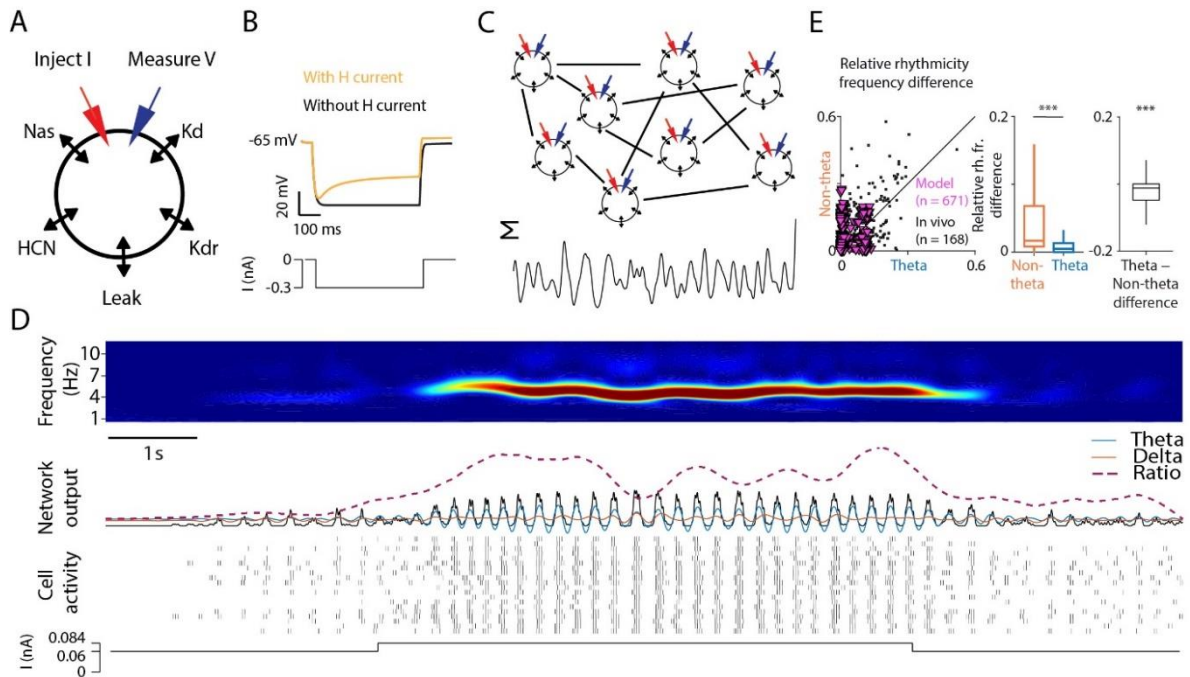
Tézis III. Homogén, tónusos serkentés vezérelt hálózati modellem elegendő a theta generálásához.

Kapcsolódó publikációk: Kocsis et al., 2022.

A *pacemaker* sejtek modelljét egy egy-kompartimentumos, ritmikus tüzelő modellneuron (Golomb et al., 2007) alapján terveztem meg. Miután a H-áram mechanizmusát is implementáltam a modellembe, sikerült reprodukálnom néhány MS neuron leírt *sag* válaszát (11. ábra). Ezt követően a *pacemaker* modellneuronokat véletlenszerűen gátló szinapszisokkal kötöttem össze anélkül, hogy hálózati szintű preferenciákat vezettem volna be. Minden neuron egyetlen bemenetként szabályozható tónusos gerjesztést kapott, ami lehetővé tette a közvetlen beavatkozást a hálózat dinamikájába a szimuláció során (11. ábra).

A theta generáció statikus paramétereinek optimalizálása után ugyanazokat az elemzéseket végeztem el a *pacemaker* szinkronizációra vonatkozóan, mint az elektrofiziológiai és *optotagging* adatok esetében. Eredményként itt is hasonló szinkronizációs metrikákat figyeltem meg, beleértve a

pacemaker sejtek frekvencia-szinkronizációs mechanizmusát ("Huygens-szinkronizáció") (11. ábra; a részleteket lásd a disszertáció "Septal network model confirms Huygens-synchronization" fejezetében). A modell tehát sikeresen reprodukálta az in vivo szinkronizáció számos aspektusát.



11. Ábra. Az MS pacemaker hálózat egyszerű konduktancia-alapú modellje tónusos gerjesztés esetén képes theta szinkronizációra. (A) Az egy-kompartementumos modellneuron vázlata. A gátló neuron tartalmazott tranziens nátrium (Nas), lassan inaktíváló D-típusú kálium (Kd), késleltetett egyenirányító kálium (Kdr), HCN és passzív szivárgó csatornákat. Minden sejthez egy tónusos áramot szolgáltató elektródot csatlakoztattam. A sejtmodellt adaptáltam (Golomb et al., 2007). (B) A H áram hozzáadása után hiperpolarizáció indukált sag választ tudtam kiváltani, hasonlóan az irodalomban leírt MS GABAerg neuronokhoz (lásd pl. (Xu et al., 2004, 1. ábra). (C) A mérsékelt rebound hatás nem indukált rebound spike-okat. (D) A hálózat sematikus ábrája. Húsz modellsejtet GABA-A gátló szinapszisokkal kötöttem össze. A spike train-eket összegeztük és egy 50 ms-os Gauss-ablakkal konvolváltuk a hálózati kimenet modellezéséhez. (E) A hálózat viselkedésének szimulációja (60%-os kapcsolási ráta; 7 ms szinaptikus késleltetés, 3 nS átlagos szinaptikus erősség; 2 ms szinaptikus lecsengés; 10%-os variancia az utóbbi három szinaptikus paraméterre; 60 pA átlagos alapvonalis stimuláció 10%-os varianciával). A neuronok a theta frekvenciasávban szinkronizálódtak az ingerlés tónusos növelésére válaszul ($\times 1,4$, a glutamaterg tüzelési ráta növekedéséhez igazítva, lásd 10/ D ábra), és deszinkronizálódtak, amikor az ingerlés visszaállt az alapvonalra. (A megnövelt ingerlést jitterelt kezdődési latenciával alkalmaztam, hogy elkerüljem a szinkron fázis resetet). Felső: A hálózat kimenetének wavelet spektrogramja. Középen: hálózati kimenet (fekete: nyers; kék: a theta-sávban szűrt; narancssárga: a delta-sávban szűrt; szaggatott: theta-delta arány) és szimulált spike raster (lásd a 3C. ábrán az in vivo felvételt). Alul: Injektált áram. (E) A pacemaker hálózati modell reprodukálja az MS neurális hálózat Huygens-szinkronizációs tulajdonságait (lásd a 8. ábrát az in vivo szinkronizációról). Az egyes pacemaker-neuronok relatív frekvenciakülönbségének scatter plotja az egyidejűleg szimulált párok esetében, a nagyobb frekvenciájával normalizálva. A statisztika azt jelezte, hogy az egyes modell pacemakerek frekvenciája a theta alatt hasonlóbbá vált (***, $p < 0,001$; $p = 2,20 \times 10^{-30}$, $W = 51519$, $n = 671$, Wilcoxon előjeles rangösszeg próba). A box-whisker ábrák a mediánt, az interkvartilis tartományt és a nem kiugró tartományt mutatják.

5 Lehetséges alkalmazások és az eredmények tudományos haszna

5.1 Oszcillopátiák

A szinkronizációs mechanizmusok alapos vizsgálata fontos annak megértéséhez, hogy az agy hogyan éri el az idegi aktivitás időbeli koordinációját, mely elengedhetetlen az olyan kognitív funkciókhoz, mint a figyelem, a memória, a dinamikus csoportosítás és a tudatosság. A szinkronizációk zavarai kognitív problémákat okozhatnak, melyek különböző neurológiai és pszichiátriai rendellenességekben jelentkeznek, amelyeket együttesen "oszcillopátiáknak" neveznek. Az oszcillopátiák jelentős mértékben hozzájárulnak e rendellenességek patofiziológiájához. Bár a csökkent neurális szinkronizáció lehet a kapcsolatok megszűnésének következménye, de oki tényezőként is felléphet. Függetlenül attól, hogy az oszcillációs rendellenességek a tünetek okai vagy következményei, klinikai jelentőséggel bírnak, mint potenciális biomarkerek és terápiás célpontok. A pusztán diagnózison túlmenően a betegségek progressziójának nyomon követésében és a kezelések hatékonyságának értékelésében is rejlik lehetőség.

Az oszcillációs aktivitás létrehozásáért felelős neuronális szereplők azonosítása ezért kulcsfontosságú. Úgy tűnik, hogy ebben a folyamatban minden fontosabb neuromoduláló rendszer részt vesz. A gamma-oszcillációk például több alapvető mechanizmustól függenek: A GABAerg neuronok központi szerepet játszanak az elsődleges generációban és a helyi szinkronizációban; a glutamaterg kapcsolatok szabályozzák az erősséget, az időtartamot és a hosszú távú szinkronizációt; és a kolinerg moduláció elősegíti az állapotfüggő nagyfrekvenciás oszcillációkat és az asszociációs válaszsinkronizációt. További kutatásokra van azonban szükség annak tisztázására, hogy a GABAerg, glutamaterg, kolinerg, szerotonerg, dopaminerg és noradrenerg rendszerek hogyan járulnak hozzá az "oszcillogenezishez" és milyen hatásuk jelentkezik az oszcillopátiákban.

A legújabb kutatások a különböző frekvenciájú ritmusok közötti kapcsolatokra is összpontosítanak. Úgy vélik, hogy a lassú oszcillációk megkönnyítik az agyterületek közti kommunikációt a magasabb frekvenciájú ritmusok időbeli szervezésével, amelyek a kognitív folyamatokhoz elengedhetetlenek. Néhány közelmúltbeli tanulmány arról számolt be, hogy a medial septum (MS) részt vesz a supra-theta sávú oszcillációk generálásában is, ami nem elhanyagolható terápiás potenciált jelentene. Ide tartoznak például a nagy amplitúdójú gamma-hullámok, amelyek a temporális lebenyben bekövetkező rohamokat követő rohamindukált automatizmusban és a ketamin-injekciót követő skizofrénia-szerű tünetekben játszanak szerepet (Leung & Ma, 2022). Ezzel szemben a septohippocampalis-Nucleus

Accumbens (NAC) rendszeren belüli inaktiválás vagy léziók csökkenthetik a gamma-oszcillációk elnyomásához vagy az állatkísérleti altatáshoz szükséges anesztetikumok dózisát. Ebben a disszertációban beszámolok a HPC béta- és gamma-sávok tSC-k MS ritmikus sejtek általi, eddig ismeretlen szabályozásáról is.

Ezek az eredmények rávilágítanak az MS-stimuláció terápiás lehetőségeire. Ha a megzavart oszcillációkat az MS szabályozza, akkor annak stimulációja potenciálisan kompenzálhatja vagy enyhítheti az abnormális oszcillációs aktivitást, ezáltal modulálva az oszcillopátiákkal kapcsolatos tüneteket (Takeuchi et al., [2021](#)). Újabb kutatások különböző, az MS-t célzó beavatkozási stratégiákat vizsgáltak olyan állapotok esetében, mint például a demencia. Ezek a megközelítések többek közt farmakológiai kezeléseket (pl. dopamin alapú terápiák), instrumentális technikákat (pl. mély agyi stimuláció és Vagus ideg stimuláció), valamint viselkedési közbeavatkozásokat (pl. mozgásszervi gyakorlatok és kognitív erősítés) ajánlanak.

A kognitív problémákkal összefüggő oszcillopátiákról bővebben lásd a disszertáció *“Oscillopathies: a rationale behind this study”* című fejezetét.

5.2 A medialis septum ritmikus neuronjai

Kutatásunk során először elvégeztük a medialis septalis (MS) neuronok *bias*-mentes fiziológiai csoportosítását és jellemzését, mely kibővítette a korábbi elektrofiziológiai vizsgálatok eredményeit (Apartis et al., [1998](#); Borhegyi et al., [2004](#); Duque et al., [2000](#); Ford et al., [1989](#); Hassani et al., [2009](#); Simon et al., [2006](#); Stewart & Fox, [1989](#); Varga et al., [2008](#)). Bland és munkatársai például a tüzelési ráta változása alapján csoportosították az MS neuronjait *theta-on* és *theta-off* csoportokba, illetve tüzelési mintázatuk alapján fázisos (*theta-bursting*) és tónusos (nem-ritmikus) kategóriákba. Petsche és munkatársai jellemezték az A- és B-típusú neuronokat, ahol a B-típusúak stabil fáziskapcsolattal kapcsolódtak a theta-hoz (Petsche et al., [1962](#)). Azóta számos tanulmány vizsgálta a B-típusú neuronokat (Apartis et al., [1998](#); Borhegyi et al., [2004](#); Joshi et al., [2017](#); King et al., [1998](#); Stewart & Fox, [1989](#)), de az A-típus kevesebb figyelmet kapott. Más tanulmányok alacsonyabb frekvenciájú ritmusokról is beszámoltak, ideértve a "lassú oszcillációkat" és a légzéshez kapcsolódó ritmikus aktivitást (Buzsáki et al., [1986](#); Tsanov, [2015](#); Tsanov et al., [2014](#); Wolansky et al., [2006](#)). Ezzel összhangban mi is megfigyeltünk ritmikus aktivitást a delta frekvenciasávban, különösen az uretánnal altatott patkányoknál. A fentiek miatt az hippocampalis felvételeket theta és nem-theta epizódokra bontottuk és az MS sejteket ritmikusságuk alapján jellemeztük mindkét állapotban (nem-ritmikus, delta-ritmikus vagy theta-ritmikus). Bár ez kilenc elméleti kombinációt jelent, a legtöbb MS neuron néhány jellegzetes típusba tartozott.

Egy korábbi tanulmányban Stewart és Fox azt találták, hogy miután atropinnal megszüntették a theta-oszcillációt az uretánnal altatott patkányok hippocampus-ában, az MS neuronok egy alcsoportja theta-ritmikus maradt (Stewart & Fox, [1989](#)). Egy másik altatásos vizsgálatban a septalis neuronok 15%-ánál írtak le fázisos *bursting*-et a nem-theta állapotok alatt (Ford et al., [1989](#)). Vizsgálataink során mi is azonosítottunk olyan feltételezett *pacemaker* neuronokat, amelyek theta-ritmikus *burst*-öket tüzeltek, függetlenül attól, hogy a CA1-ben jelen volt-e theta oszcilláció. Ez a csoport a szabadon mozgó egerek MS-neuronjainak 13%-át tette ki; azonban altatott rágcsálókban a ritmikus *burst*-ölő neuronok alacsonyabb százalékát találtuk, összhangban néhány korábbi jelentéssel (King et al., [1998](#); Stewart & Fox, [1989](#)). A *pacemaker*ek százalékos arányának eltérései az egyes tanulmányok között egyrészt a torzított mintavételből eredhet, mivel a felvétel során az MS a theta-ritmikus aktivitás jelenléte alapján azonosítható, másrészt a ritmikusság definíciónk szigorúságából. Mivel a ritmikus szinkronizáció mechanizmusainak elemzéséhez szükséges adatminőség biztosítása érdekében viszonylag konzervatív inklúziós kritériumokat alkalmaztunk a szignifikáns ritmikusságra (4. ábra), ez a *pacemaker*ek alacsonyabb százalékát eredményezhette az adathalmazainkban. Ezenfelül elképzelhető, hogy egyes MS neuronok éber körülmények között *pacemaker*ként azonosíthatók, altatott körülmények között azonban nem.

Azokat az MS neuronokat, amelyek csak hippocampalis theta alatt theta-ritmikus *bursting*-et, *follower* neuronoknak neveztük mivel tüzelési mintáik általában megfeleltek a hippocampus aktuális hálózati állapotának. Ez a tulajdonság azonban nem zárja ki annak lehetőségét, hogy ők is részt vesznek a theta genézisben. Ezek a neuronok ugyanis hajlamosak erősen szinkronizálódni egymással és a *pacemaker* neuronokkal mind a theta, mind a nem-theta állapotok során. Optogenetikai *tagging* kísérletek a *pacemaker* és *follower* neuronok nagy arányát mutatták a PV+ GABAerg csoportban, ami arra utal, hogy ez a ritmikán alapuló funkcionális megkülönböztetés az anatómiailag meghatározott PV-expresszáló csoporton belül is alkalmazható.

Korábbi tanulmányok beszámoltak ritmikus neuronok *theta-skipping* viselkedéséről mind az entorhinális kéregben (EC) (Brandon et al., [2013](#); Jeffery et al., [1995](#)), mind az MS-ben (Kay et al., [2020](#); King et al., [1998](#); Varga et al., [2008](#)). A *theta-skipping* viselkedésű neuronok minden második hippocampalis theta ciklusban tüzeltek, ezáltal ritmikussági frekvenciájuk a hippocampalis theta frekvenciájának felével volt egyenlő. Patkányokban kimutatták, hogy az MS bemenet szükséges a *theta-skipping* viselkedéshez az EC-ben (Brandon et al., [2013](#)). A *theta-skipping* viselkedés az EC-ben valószínűleg gátló rebound mechanizmusokra által jön létre, amelyek döntő fontosságúak lehetnek a *grid* sejtek jellegzetes tüzelési mezőinek kialakításában (Hasselmo, [2014](#)). Ebben a disszertációban megerősítettük a *theta-skipping* neuronok jelenlétét uretánnal altatott patkányok septumban. Míg e neuronok egy része rendszeresen, minden második ciklusban tüzel, más neuronok kevésbé szabályos

mintázatot mutattak, akár több ciklust is kihagyva. Érdekes módon nagyon kevés *theta-skipping* neuront találtunk altatott és szabadon mozgó egerekben, vagyis náluk a septalis *theta-skipping* nem feltétlenül szükséges a rácsmintázatok kialakításához.

Mind patkányokban, mind egerekben találtunk egy csoport tónusosan aktív neuront, amelyek valószínűleg kolinergnek, mivel (i) tüzelési mintázatauk hasonlít a korábbi publikációkban leírtakhoz (Brazhnik & Fox, [1997](#); Mamad et al., [2015](#); Tsanov, [2015](#)), (ii) kollégáim hasonló ritmikai és szinkronizációs tulajdonságokkal rendelkező kolinerg neuronokat azonosítottak más bazális előagyi struktúrákból (Laszlovszky et al., [2020](#)), és (iii) a ritmikus bazális előagyi kolinerg neuronok egy korábbi tanulmányban (Lee et al., [2005](#)) nem mutattak fázis kapcsolatot a hippocampalis thetával, ahogyan mi sem találtuk erre utaló jelet a tónikusan aktív csoport esetében. A theta-ritmikus kolinerg neuronok valószínűleg inkább a neocorticalis theta oszcillációhoz kapcsolódnak, ami a posterior cinguláris kéregből vezethető el (Destradre & Ott, [1982](#); Lee et al., [2005](#)). Ezenfelül, kollégáim beszámoltak a nucleus basalis kolinerg neuronjainak és a hallókéreg theta-sávú aktivitásának viselkedésspecifikus szinkronizációjáról is (Laszlovszky et al., [2020](#)). Ez megerősíti, hogy az MS kolinerg neuronok szerepe a hippocampalis theta generálásában valószínűleg többnyire közvetett a GABAerg neuronokon keresztül, a theta amplitúdó szabályozásával, de a theta ritmusának generálásában nem vesznek részt (Dannenberg et al., [2015](#); Lee et al., [1994](#); Yang et al., [2014](#), [2017](#)). Minden bizonnyal izgalmas jövőbeli kutatási irány lesz annak jobb megértése, hogy a többféle theta ritmus hogyan lép dinamikus kölcsönhatásba az agyban, beleértve az aktív érzékelési folyamatokkal való szinkronizációt (Moore et al., [2013](#); Ranade et al., [2013](#); Semba & Komisaruk, [1984](#)), a lokális *pacemaker* csoportok bevonását (Manseau et al., [2008](#)) és a sejtek rezonancia tulajdonságaival való kölcsönhatást (Zemankovics et al., [2010](#)).

5.3 A septalis *pacemaker*ek Huygens-szinkronizációja

A XVII. században Christiaan Huygens megfigyelte, hogy két, azonos gerendára lógatott ingaóra, idővel szinkronizálódtak, amit ő a "két óra szimpátiájának" nevezett (Huygens, [1673](#); Oliveira & Melo, [2015](#); Ramirez et al., [2016](#); Willms et al., [2017](#)). Azóta számos dinamikus rendszerben találtak ilyen szinkronizációt, amikor az egyes oszcillátorok frekvenciájuk és periódusidejük tekintetében közelebb kerülnek egymáshoz (Equihua & Ramirez, [2018](#); Ramirez et al., [2016](#)). Mi is ilyen mechanizmust azonosítottunk az MS *pacemaker* neuronok között, ami arra utal, hogy egy Huygens-szinkronizációs mechanizmus állhat a hippocampusba továbbított erős theta-ritmikus septalis kimenet létrehozásának hátterében. Kapcsolt oszcillátorok Huygens-szinkronizációja általában fázisos vagy ellenfázisos szinkronizáció (Korteweg, [1906](#); Ramirez et al., [2014](#)), de bármelyik típus okozhat frekvencia szinkronizációt (Czolczynski et al., [2011](#); Ramirez et al., [2014](#), [2016](#)). Ez, legalábbis részben

magyarázatot adhat az uretánnal altatott patkányok MS pacemakerének megfigyelt ellenfázisos tüzelésre. Kísérletek és modellezési tanulmányok a Huygens-szinkronizáció kevésbé gyakori módjait is megfigyelték, mint a részleges szinkronizációt, amikor az oszcillátorok 180 foknál kisebb fáziskülönbséggel szinkronizálódnak; a "kioltást", amikor a két oszcillátor elnyomja egymást; az "kiütést", amikor az egyik oszcillátor szupresszálódik, de a másik hatására mégis csöndesen ritmikus marad; és az amplitúdó-modulációt, amely a kölcsönös befolyásolás következménye (Ramirez et al., [2014](#)). Izgalmas jövőbeli irány lesz megvizsgálni, hogy a Huygens-szinkronizáció mögött álló, gyakran komplex nemlineáris közönséges-differenciálegyenlet-rendszerek *limit*-viselkedését leíró széleskörű tudásanyag alkalmazható-e és hogyan alkalmazható az idegi hálózatokra. Például elképzelhető, hogy a "moduláló" viselkedés felhasználható a *cross-frequency coupling* jelenség leírására (Buzsáki & Wang, [2012](#); Lisman & Jensen, [2013](#)), míg a „kioltás” és az „kiütés” szinkronizációs hibáknak tekinthetők, amelyek az oszcillopátiák jellemzésénél hasznosulhatnak (Hunt et al., [2017](#)) (lásd a disszertáció *“Oscillopathies: a rationale behind this study”* című fejezetét). Elméleti tanulmányok magyarázatot adhatnak arra, hogy a kimeneti oszcillációs periódus hogyan és miért térhet el a kapcsolt oszcillátorok sajátperiódusaitól (Dilão, [2009](#); Ramirez et al., [2016](#)), amelyet neuronális oszcillációkkal összefüggésben is megfigyeltek, és amely leképzelhető, hogy a fázisprecesszió alapjául is szolgál (Geisler et al., [2007](#); O’Keefe & Recce, [1993](#); Zutshi et al., [2018](#)).

5.4 PV+ *pacemaker* sejtek

A PV és a HCN csatorna expresszióját már többször összefüggésbe hozták az MS GABAerg neuronok ritmikus *pacemaking* tulajdonságával (Borhegyi et al., [2004](#); Kocsis & Li, [2004](#); Varga et al., [2008](#); Xu et al., [2004](#)). Más tanulmányok azonban azt feltételezték, hogy a ritmikus septalis glutamaterg vagy kolinerg neuronok működhetnek a theta *pacemaker*ekként (Manseau et al., [2005](#); Mysin et al., [2015](#); Smythe et al., [1992](#); Ujfalussy & Kiss, [2006](#)), de lásd (Vandecasteele et al., [2014](#)). Mi ebben a tanulmányban több MS sejttípus optogenetikai azonosításával megerősítettük, hogy a PV-expresszáló GABAerg neuronok alkotják valószínűleg a folyton theta-ritmikus csoport nagy részét. Ugyanakkor azt találtuk, hogy a GABAerg neuronok közt kevés a theta-ritmikus, ami arra utalhat, hogy a ritmikus részhalmazuk feltételezhetőleg PV-expresszáló. Megerősítettük, hogy a septalis *pacemaker*ek két ellentétes fázispreferenciájú csoportot alkottak a hippocampalis theta oszcillációhoz képest uretánnal altatott patkányokban, ahogyan arról korábban mások is beszámoltak (Borhegyi et al., [2004](#); Joshi et al., [2017](#); Varga et al., [2008](#)).

5.5 A glutamaterg aktiváció thetat vált ki

A theta kialakulását az MS *pacemaker* neuronok tüzelési rátájának jelentős növekedése kísérte. Ez a megfigyelés összhangban van korábbi tanulmányokkal, amelyek szerint a fokozott tónusos gerjesztő meghajtás képes az MS hálózatot theta állapotba kapcsolni (Korvasová et al., 2021; Lu et al., 2011; Müller & Remy, 2018; Oddie et al., 1996; Ujfalussy & Kiss, 2006). Ennek a serkentő meghajtásnak az eredetére több sejtípust és útvonalat is említ a szakirodalom, beleértve az MS kolinerg, glutamaterg neuronjait vagy a felszálló agytörzsi bemeneteket (Hajszan et al., 2004; Leranth & Frotscher, 1989; Müller & Remy, 2018; Oddie & Bland, 1998; Zaborszky et al., 2012). Mi azt találtuk, hogy az MS glutamaterg neuronok erősen és nem-ritmikusan növelték tüzelési sebességüket a CA1 theta kezdetén, ami arra utal, hogy ez a csoport lehet az a központi relé, amely a változó tónusú gerjesztés szintjét közvetíti az MS *pacemaker* hálózatba. Ez a feltevés összhangban van az anatómiai eredményekkel, amelyek azt mutatják, hogy a helyi gerjesztő neuronok biztosítják az MS GABAerg neuronok gerjesztő bemeneteinek többségét (Hajszan et al., 2004).

Ezenfelül, *optotagging* kísérleteinkben az MS glutamaterg neuronok aktiválása theta oszcillációt indukált a CA1-ben. Fontos megjegyeznünk, hogy a theta ritmust 20 Hz-es stimulációs frekvenciával idéztük elő, jóval a theta-tartomány felett, vagyis ezek a neuronok nemcsak akkor képesek theta-indukcióra, ha theta-tartománybeli frekvenciákon stimulálják őket (Robinson et al., 2016). A fenti eredmények összhangban vannak azokkal a megfigyelésekkel, amelyek beszámolnak a glutamaterg neuronok szerepéről a mozgással kapcsolatos aktiváció továbbításában az MS más sejtípusaihoz vagy akár azon túl (Fuhrmann et al., 2015; Justus et al., 2017; Korvasová et al., 2021; Oddie et al., 1996; Teitelbaum et al., 1975).

5.6 A theta generáló *pacemaker*ek hálózati modellje

A septalis *pacemaker* hálózat korábbi modelljei vagy a GABAerg (Denham & Borisjuk, 2000; Ujfalussy & Kiss, 2006; Wang, 2002) vagy a glutamaterg (Ujfalussy & Kiss, 2006) *pacemaker* mechanizmusokat vizsgálták. Ezek a korábbi munkák már közvetetten utaltak egy potenciális Huygens-szinkronizációs mechanizmusra. Wang és munkatársai például felvetették, hogy a deszinkronizált septalis *pacemaker* sejtek különböző frekvenciákon oszcillálhatnak (lásd (Wang, 2002), 4. ábra). Ezenkívül Ujfalussy és munkatársai azt írták, hogy "a GABAerg szinapszisok blokkolása a ping-pong modellünkben ezen neuronok deszinkronizációját okozza, de a sejtek theta periodikusak maradnak". A Huygens-szinkronizációt azonban sem kísérletileg nem tesztelték, sem közvetlenül nem modellezték. A korábbi modellek többnyire arra összpontosítottak, hogy feltárják a különböző oszcillátor hálózatok egymásra gyakorolt hatását, például két GABAerg MS csoport ellentétes tüzelési fázissal (Ujfalussy & Kiss, 2006),

vagy MS és CA1 GABAerg csoportok (Denham & Borisjuk, [2000](#); Wang, [2002](#); Zou et al., [2011](#)) vagy MS GABAerg és glutamaterg neuronok (Mysin et al., [2015](#)). Így a korábbi ping-pong modellekben a szinkronizációs mechanizmus legalább két dedikált gátló csoport jelenlétét igényelte, a csoportok közötti torzított, nem véletlenszerű összeköttetéssel. Ezzel szemben mi azt találtuk, hogy az MS GABAerg *pacemakerek* minimalista, homogén hálózata is elegendő volt ahhoz, hogy koherens theta-ritmikus kimenetet hozzon létre fokozott tónusos gerjesztés hatására. Míg az MS-hálózat deszinkronizációjával ritkán foglalkoztak a korábbi elméleti munkákban, mi megfigyeltük, hogy modellünk a tónusos serkentés csökkenésére gyors, spontán deszinkronizációt mutatott. Ez az MS modellhálózat képes volt reprodukálni az in vivo szinkronizáció több jellemzőjét, beleértve a Huygens-szinkronizációt, a megnövekedett tüzelési rátát, a gyorsabb ritmikus tüzelést, a csökkent *theta-skippinget* és az *intra-burst* tüzelési frekvencia növekedését.

5.7 Perspektívák

Egy izgalmas nyitva hagyott kérdés a ritmikussági csoportok összetételével kapcsolatos: vajon különböző sejtekről, különbözően kapcsolt sejtekről vagy állapotfüggő csoport átmenetekről van szó?

A számítógépes modellemet vizsgálva az látható, hogy bizonyos esetekben megjelentek például 'follower' szerű viselkedést mutató sejtek - pedig a hálózat összes eleme azonos pacemaker sejt modellből származik. Így könnyen elképzelhető, hogy a 'follower' tulajdonság a hálózatba való 'bevontság' függvénye is, mely kapcsoltság vagy állapotfüggő is lehet.

Ahhoz hogy az állapot függést vizsgálhassuk, krónikus kísérletekre lenne szükség. A különböző kísérleti körülmények közti csoport stabilitás vizsgálatára érdekes lehetne olyan felvétel sort tervezni, ahol az egér/ patkány alvás- ébrenlét (aktív és nem aktív) felvételeit követően végül uretános altatással zárnánk. Így nyomon követhetnénk a ritmikussági csoportok állapot függő változásait. Azonban megjegyzendő, hogy még sokcsatornás elvezetéssel is kicsi az esélye, hogy minden ritmikussági csoportot tudjunk rögzíteni egy felvételi mélységben.

Ebből a szempontból legértékesebb adatok optogenetikával kombinált kísérletekből származnának. Patkányban végzett mérésekkel nagyobb eséllyel sikerülne a teljes ritmikussági palettát lefedni. Emellett nagyon értékes volna kolinerg sejtek azonosítása is.

A rögzített sejszámok növekedését követően, további betekintést nyújthatna az azonosított ritmikussági és optogenetikai csoportok tüzelési metrika és hullámforma analízise. Ha sikerülne a septalis ritmikus csoportok hippocampalis állapotfüggő csoportjait más paraméterek alapján is azonosítani, akkor meg lehetne spórolni a hippocampalis LFP elvezetését. A technikai egyszerűsítésen túl, a kisebb mértékű beavatkozás (invazivitás- és a hálózat megzavarásának csökkentése), illetve a

megfelelő minőségű hippocampalis jel kiválthatósága miatt is releváns lenne egy ilyen adatbázis létrehozására törekedni.

A tüzelési metrikák egy része azonban állapot függő, ezért egy kutatásban nehéz lenne például a kísérletek közti különböző altatási mélységek miatti variabilitást kontrollálni. Ha pusztán a septalis felvétel állna rendelkezésünkre -anélkül, hogy tudnánk valójában milyen állapot milyen arányban volt uralkodó a hippocampusban (pl. sikerült-e thetat kiváltani farokcsípéssel)- akkor csak az átlag septalis populációs aktivitásra hagyatkozhatnánk, vagyis nem egy általános klasszifikációt tudnánk javasolni, hanem minden felvételben, de legalábbis kísérletben, külön-külön, ehhez pedig sok sejtes rögzítések kellene.

Más lenne a helyzet, ha a hullámformák alapján jól elkülönülő csoportokat kapnánk. Ez arról is árulkodna, hogy a sejtek különböző ioncsatorna összetételűek lehetnek.

Izgalmas jövőbeli kutatási irány a patch-seq megközelítés, mely kombinálja az elektrofiziológia, morfológia és transcriptómia eszköztárát- bár ezt ma még kevés helyen végzik nagy volumenben.

Kutatásomban nem szerepelnek legátlásos kontroll kísérletek. Az optogenetikai gátlásról tudjuk, hogy nagyon lecsökkenti a hippocampalis thetat, így finomabb Huygens szinkronizáció típusú jelenségek megfigyelésére kevésbé alkalmas, specifikus serkentésekkel lehetne érdemes erősebb ok-okozati összefüggéseket bizonyítani. Például társszerzős cikkemben (Király et al., [2023](#)) szerepelnek 'whole-cell patch clamp', illetve akut optogenetikai kísérletek éber egerekben, melyekben azt láthatjuk, hogy a hippocampus PV sejtjei megbízhatóan követik a medialis septum PV+ sejtjeinek theta modulált 22-80 Hz-es serkentését. Ilyen típusú jövőbeli kísérletek közvetlenebb bizonyítékkal szolgálhatnak az általam leírt mechanizmusra.

Izgalmas jövőbeli kutatási iránynak gondolom a glutamaterg sejtek theta generálásban betöltött szerepének vizsgálatát. Érdemes lehet például tovább boncolgatni, hogy a septalis glutamaterg sejtek stimulálásával kiváltott hippocampalis theta vajon különböző frekvencia-amplitudó-térbeli karakterisztikát mutat-e mint a spontán megjelenő vagy fájdalom stimulálással kiváltott theta.

Az általam bemutatott minimális hálózati modell képes volt thetat generálni, méghozzá a frekvencia szinkronizáció mechanizmusával. Ennél azonban a biológiai rendszer feltehetőleg sokkal komplexebb, így speciális szempontok vizsgálatához a modell finomítására van szükség. Izgalmas modellezési paradigmák lehetnek a tSC (theta spectralis components) vizsgálata; a follower és theta-follower sejtek beépítése; a septalis nem-ritmikus, esetleg hippocampalis theta fázishoz kötött, sejtek beépítése bemenetként; a hippocampalis visszacsatolás hatásának vizsgálata; és a hippocampus 'fázis-precessio' hatásának vizsgálata.

A hippocampalis theta szorosan kötődik bizonyos viselkedésekhez (pl. exploráció, memória kódolás, stb.). Bár altatott és éber elvezetések is vizsgáltak, specifikus viselkedési feladatokból származó adatok nem voltak. Természetesen egy ilyen kísérlet sorozat nagyon sok értékes adattal szolgálhatna, másrészt viszont elvégzése körülményes és hosszadalmas. Technikai oldalról a két elektródás mérések -esetleg optogenetikával kombinálva- már alaptól kihívást jelentenek, még abban az esetben is, ha sikerül a célterületeket eltalálni. A viselkedési faktorok által okozott variabilitás pedig komplikálhatja az eredmények értelmezését. Érdemes lenne szem előtt tartani, hogy viselkedés alatt főleg az urethane érzékeny, 1-es típusú theta-t tudnánk elemezni, ami magasabb frekvenciájú komponenseket hordoz. Mindemellett, természetesen nagyon értékes volna például egy medialis septum függő munkamemória vizsgálat, lehetőleg elválasztva a navigációs komponensből (pl. adaptive associative learning paradigmában).

Azt hiszem a disszertációban bemutatott eredmények minimum közvetetten hordoznak humán relevanciát. Első körben patológiás állatmodelleken lehetne vizsgálni az általam megfigyelt sejt csoportok összetételének, frekvenciájának és a szinkronizáció mechanizmusainak változásait krónikusan, illetve abnormális aktivitás körül is (pl. rohamok). Ezután humán szeletekből (in vitro), esetleg műtét alatti felvételekből (in vivo) származó elektrofiziológiai adatokat lehetne elemezni. Minden adat releváns lehet, függetlenül attól, hogy egészséges vagy kóros szövetből származik. Természetesen non-invasive humán felvételek is érdekesek lehetnek, de sajnos ezeknek a módszereknek a térbeli felbontása bőven gyengébb az invazív elvezetésekénél. Ha sikerülne bizonyos elváltozásokat feltárni, az például az Alzheimer kór korai diagnosztikájának hiányos eszköztárában is komoly szerepet kaphatna.

Az elmúlt években jelentős eredmények születtek egér kísérletekben a terápiás potenciállal kapcsolatban (lásd az "Oscillopathies" fejezetet). Például Etter et al. J20-APP AD modellben bemutatta, hogyan lehet a medialis septum PV+ sejtjeinek supra-theta stimulálásával a hippocampus lassú gamma amplitudóját, illetve theta fázis kapcsolódását helyreállítani, és így a tekintélyes plaque felhalmozódás ellenére is a sebzett memória nyomokat visszaállítani (Etter et al., [2019](#)).

A medialis septum a rohamok elleni stimulálásra is hatékony lokációnak tűnik (Takeuchi et al., [2021](#)). Ismert, hogy bizonyos epilepsziás rohamokat a hippocampalis theta megváltozása előz meg, illetve hogy annak kiváltása antiepileptikus hatású. Optogenetikai patológiás állatmodellekben vizsgálható lenne például a glutamaterg stimuláció hatása, akár roham megakadályozás, -csillapítás vagy -utóhatás (viselkedési hiperaktivitás) tekintetében is. Természetesen fontos megjegyezni, hogy humánban ilyen mélyagyi területek nehezen elérhetők, illetve az optogenetikai eszköztár egyelőre csak állatmodellekben használható. Komoly terápiás reményekkel kecsegtet viszont a sonogenetika a neurodegeneratív betegségekkel való küzdelemben (Fan et al., [2021](#)).

Ezenfelül izgalmas ötletnek hangzik a rohamok körüli szinkronizációs mechanizmusokat a Huygens szinkronizációs kontextusban értelmezni. Például elképzelhető, hogy rohamok környékén megszűnő septo-hippocampalis theta generálás analógiát mutathat egy fizikai rendszerekben megfigyelhető ‘quenching’ (‘amplitude death’) jelenséggel, mely során oszcillátorok kölcsönhatása az oszcillációk megszűnéséhez vezet. Az időszakos (‘modulatory’) és részleges (‘partial’) szinkronizációk dinamikája ugyanakkor keretet adhat állapotfüggő illetve instabil dinamikák leírására. A “The Sympathy of clocks” részben említett kapcsolódási erősség, csillapítási faktor és a felfüggesztő tartók keresztmetszetének paraméterei elképzelhető, hogy megfeleltethetőek egy biológiai rendszer elemei közötti kapcsolatok erősségének, serkentő/ gátló összetételének, illetve a tónusos bemenetek erősségének szintjével.

6 Publikációk

1. **Barnabás Kocsis**, Sergio Martínez-Bellver, Richárd Fiáth, Andor Domonkos, Katalin Sviatkó, Dániel Schlingloff, Péter Barthó, Tamás F. Freund, István Ulbert, Szabolcs Káli, Viktor Varga, Balázs Hangya (2022). Huygens synchronization of medial septal pacemaker neurons generates hippocampal theta oscillation. Cell Reports, Volume 40, Issue 5, 2022, 111149, ISSN 2211-1247, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111149>.
2. Bálint Király, Andor Domonkos, Márta Jelítai, Vítor Lopes-dos-Santos, Sergio Martínez-Bellver, **Barnabás Kocsis**, Dániel Schlingloff, Abhilasha Joshi, Minas Salib, Richárd Fiáth, Péter Barthó, István Ulbert, Tamás F. Freund, Tim J. Viney, David Dupret, Viktor Varga & Balázs Hangya (2023). The medial septum controls hippocampal supra-theta oscillations. Nature Communications, ISSN 2041-1723, <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41746-0>.

7 Hivatkozások

1. Apartis, E., Poindessous-Jazat, F. R., Lamour, Y. A., & Bassant, M. H. (1998). Loss of rhythmically bursting neurons in rat medial septum following selective lesion of septohippocampal cholinergic system. *Journal of Neurophysiology*, 79(4), 1633–1642. <https://doi.org/10.1152/jn.1998.79.4.1633>
2. Bakker, R., Tiesinga, P., & Kötter, R. (2015). The Scalable Brain Atlas: Instant Web-Based Access to Public Brain Atlases and Related Content. *Neuroinformatics*, 13, 353–366.
3. Borhegyi, Z., Varga, V., Szilagyi, N., Fabo, D., & Freund, T. F. (2004). Phase segregation of medial septal GABAergic neurons during hippocampal theta activity. *The Journal of Neuroscience*, 24(39), 8470–8479.
4. Brandon, M. P., Bogaard, A. R., Schultheiss, N. W., & Hasselmo, M. E. (2013). Segregation of cortical head direction cell assemblies on alternating theta cycles. *Nature Neuroscience*, 16(6), 739–748. <https://doi.org/10.1038/nn.3383>
5. Brazhnik, E. S., & Fox, S. E. (1997). Intracellular recordings from medial septal neurons during hippocampal theta rhythm. *Experimental Brain Research*, 114(3), 442–453. <https://doi.org/10.1007/PL00005653>
6. Buzsáki, G. (2002). Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron*, 33(3), 325–340. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00586-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00586-x)
7. Buzsáki, G. (2006). *Rhythms of the Brain*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195301069.001.0001>
8. Buzsáki, G., Czopf, J., Kondakor, I., & Kellenyi, L. (1986). Laminar distribution of hippocampal rhythmic slow activity (RSA) in the behaving rat: Current-source density analysis, effects of urethane and atropine. *Brain Research*, 365(1), 125–137.
9. Buzsáki, G., & Moser, E. I. (2013). Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience*, 16(2), 130–138. <https://doi.org/10.1038/nn.3304>
10. Buzsáki, G., & Wang, X.-J. (2012). Mechanisms of gamma oscillations. *Annual Review of Neuroscience*, 35, 203–225. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150444>
11. Cutsuridis, V., & Poirazi, P. (2015). A computational study on how theta modulated inhibition can account for the long temporal windows in the entorhinal-hippocampal loop. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 120, 69–83.
12. Czolczynski, K., Perlikowski, P., Stefanski, A., & Kapitaniak, T. (2011). Huygens' odd sympathy experiment revisited. *International Journal of Bifurcation and Chaos*, 21(7), 2047–2056. <https://doi.org/10.1142/S0218127411029628>
13. Dannenberg, H., Pabst, M., Braganza, O., Schoch, S., Niediek, J., Bayraktar, M., Mormann, F., & Beck, H. (2015). Synergy of direct and indirect cholinergic septo-hippocampal pathways coordinates firing in hippocampal networks. *Journal of Neuroscience*, 35(22), 8394–8410. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4460-14.2015>
14. Denham, M. J., & Borisyuk, R. M. (2000). A model of theta rhythm production in the septal-hippocampal system and its modulation by ascending brain stem pathways. *Hippocampus*, 10(6), 698–716. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:6<698::AID-HIPO1008>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:6<698::AID-HIPO1008>3.0.CO;2-Z)

15. Destexde, C., & Ott, T. (1982). Is a retrosplenial (cingulate) pathway involved in the mediation of high frequency hippocampal rhythmic slow activity (theta)? *Brain Research*, 252(1), 29–37. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(82\)90975-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(82)90975-1)
16. Dillão, R. (2009). Antiphase and in-phase synchronization of nonlinear oscillators: The Huygens's clocks system. *Chaos*, 19(2). <https://doi.org/10.1063/1.3139117>
17. Duque, A., Balatoni, B., Detari, L., & Zaborszky, L. (2000). EEG correlation of the discharge properties of identified neurons in the basal forebrain. *Journal of Neurophysiology*, 84(3), 1627–1635.
18. Equihua, G. G. V., & Ramirez, J. P. (2018). Synchronization of Hindmarsh-Rose Synchronization of Hindmarsh-Rose Synchronization of Hindmarsh-Rose neurons Huygens-like coupling Synchronization of Hindmarsh-Rose neurons Huygens-like coupling Huygens-like coupling. *IFAC-PapersOnLine*, 51(33), 186–191. <https://doi.org/10.1016/j.ifacol.2018.12.115>
19. Etter, G., van der Veldt, S., Manseau, F., Zarrinkoub, I., Trillaud-Doppia, E., & Williams, S. (2019). Optogenetic gamma stimulation rescues memory impairments in an Alzheimer's disease mouse model. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13260-9>
20. Fan, C. H., Wei, K. C., Chiu, N. H., Liao, E. C., Wang, H. C., Wu, R. Y., Ho, Y. J., Chan, H. L., Wang, T. S. A., Huang, Y. Z., Hsieh, T. H., Lin, C. H., Lin, Y. C., & Yeh, C. K. (2021). Sonogenetic-Based Neuromodulation for the Amelioration of Parkinson's Disease. *Nano Letters*, 21(14), 5967–5976. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c00886>
21. Ford, R. D., Colom, L. V., & Bland, B. H. (1989). The classification of medial septum-diagonal band cells as σ -on or σ -off in relation to hippocampal EEG states. *Brain Research*, 493(2), 269–282. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)91162-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)91162-1)
22. Freund, T. F., & Antal, M. (1988). GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, 336(6195), 170–173.
23. Fuhrmann, F., Justus, D., Sosulina, L., Kaneko, H., Beutel, T., Friedrichs, D., Schoch, S., Schwarz, M. K., Fuhrmann, M., & Remy, S. (2015). Locomotion, Theta Oscillations, and the Speed-Related Firing of Hippocampal Neurons Are Controlled by a Medial Septal Glutamatergic Circuit. *Neuron*, 86(5), 1253–1264. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.05.001>
24. Geisler, C., Robbe, D., Zugaro, M., Sirota, A., & Buzsáki, G. (2007). Hippocampal place cell assemblies are speed-controlled oscillators. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(19), 8149–8154. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610121104>
25. Golomb, D., Donner, K., Shacham, L., Shlosberg, D., Amitai, Y., & Hansel, D. (2007). Mechanisms of Firing Patterns in Fast-Spiking Cortical Interneurons. *PLoS Computational Biology*, 3(8), e156. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0030156>
26. Green, J. D., & Arduini, A. A. (1954). Hippocampal electrical activity in arousal. *J. Neurophysiol*, 17, 533–557.
27. Hajszan, T., Alreja, M., & Leranth, C. (2004). Intrinsic vesicular glutamate transporter 2-immunoreactive input to septohippocampal parvalbumin-containing neurons: Novel glutamatergic local circuit cells. *Hippocampus*, 14, 499–509.
28. Hangya, B., Borhegyi, Z., Szilagy, N., Freund, T. F., & Varga, V. (2009). GABAergic Neurons of the Medial Septum Lead the Hippocampal Network during Theta Activity. *Journal of Neuroscience*, 29(25), 8094–8102. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5665-08.2009>

29. Hassani, O. K., Lee, M. G., Henny, P., & Jones, B. E. (2009). Discharge profiles of identified GABAergic in comparison to cholinergic and putative glutamatergic basal forebrain neurons across the sleep-wake cycle. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(38), 11828–11840. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1259-09.2009>
30. Hasselmo, M. E. (2014). Neuronal rebound spiking, resonance frequency and theta cycle skipping may contribute to grid cell firing in medial entorhinal cortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1635), 20120523. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0523>
31. Hunt, M. J., Kopell, N. J., Traub, R. D., & Whittington, M. A. (2017). Aberrant Network Activity in Schizophrenia. *Trends in Neurosciences*, 40(6), 371–382. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2017.04.003>
32. Huygens, C. (1673). *Horologium Oscillatorium: Sive de motu pendulorum ad horologia aptato demonstrationes geometricae*. F. Muguet.
33. Jeffery, K. J., Donnett, J. G., & O'Keefe, J. (1995). Medial septal control of theta-correlated unit firing in the entorhinal cortex of awake rats. *NeuroReport*, 6(16), 2166–2170. <https://doi.org/10.1097/00001756-199511000-00017>
34. Joshi, A., Salib, M., Viney, T. J., Dupret, D., & Somogyi, P. (2017). Behavior-Dependent Activity and Synaptic Organization of Septo-hippocampal GABAergic Neurons Selectively Targeting the Hippocampal CA3 Area. *Neuron*, 96(6), 1342-1357.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.10.033>
35. Justus, D., Dalügge, D., Bothe, S., Fuhrmann, F., Hannes, C., Kaneko, H., Friedrichs, D., Sosulina, L., Schwarz, I., Elliott, D. A., Schoch, S., Bradke, F., Schwarz, M. K., & Remy, S. (2017). Glutamatergic synaptic integration of locomotion speed via septoentorhinal projections. *Nature Neuroscience*, 20(1), 16–19. <https://doi.org/10.1038/nn.4447>
36. Kahana, M. J., Sekuler, R., Caplan, J. B., Kirschen, M., & Madsen, J. R. (1999). Human theta oscillations exhibit task dependence during virtual maze navigation. *Nature*, 399, 781–784.
37. Káli, S., & Zemankovics, R. (2012). The effect of dendritic voltage-gated conductances on the neuronal impedance: A quantitative model. *Journal of Computational Neuroscience*, 33(2), 257–284. <https://doi.org/10.1007/s10827-012-0385-9>
38. Kay, K., Chung, J. E., Sosa, M., Schor, J. S., Karlsson, M. P., Larkin, M. C., Liu, D. F., & Frank, L. M. (2020). Constant Sub-second Cycling between Representations of Possible Futures in the Hippocampus. *Cell*, 180(3), 552-567.e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.014>
39. King, C., Recce, M., & O'Keefe, J. (1998). The rhythmicity of cells of the medial septum/diagonal band of Broca in the awake freely moving rat: Relationships with behaviour and hippocampal theta. *The European Journal of Neuroscience*, 10(2), 464–477.
40. Király, B., Domonkos, A., Jelitai, M., Lopes-dos-Santos, V., Martínez-Bellver, S., Kocsis, B., Schlingloff, D., Joshi, A., Salib, M., Fiáth, R., Barthó, P., Ulbert, I., Freund, T. F., Viney, T. J., Dupret, D., Varga, V., & Hangya, B. (2023). The medial septum controls hippocampal supra-theta oscillations. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-41746-0>
41. Klausberger, T., & Somogyi, P. (2008). Neuronal diversity and temporal dynamics: The unity of hippocampal circuit operations. *Science*, 321(5885), 53–57. <https://doi.org/10.1126/science.1149381>

42. Kocsis, B., & Li, S. (2004). In vivo contribution of h-channels in the septal pacemaker to theta rhythm generation. *European Journal of Neuroscience*, 20(8), 2149–2158. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03678.x>
43. Kocsis, B., Martínez-Bellver, S., Fiáth, R., Domonkos, A., Sviatkó, K., Schlingloff, D., Barthó, P., Freund, T. F., Ulbert, I., Káli, S., Varga, V., & Hangya, B. (2022). Huygens synchronization of medial septal pacemaker neurons generates hippocampal theta oscillation. *Cell Reports*, 40(5). <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111149>
44. Korteweg, D. (1906). Les horloges sympathiques de Huygens. *Archives Neerlandaises Des Sciences Exactes et Naturelles*, 11, 273–296.
45. Korvasová, K., Ludwig, F., Kaneko, H., Sosulina, L., Tetzlaff, T., Remy, S., & Mikulovic, S. (2021). Locomotion induced by medial septal glutamatergic neurons is linked to intrinsically generated persistent ring. *bioRxiv*, 2021.04.23.441122.
46. Kramis, R., Vanderwolf, C. H., & Bland, B. H. (1975). Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat: Relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane, and pentobarbital. *Experimental Neurology*, 49(1), 58–85. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(75\)90195-8](https://doi.org/10.1016/0014-4886(75)90195-8)
47. Kvitsiani, D., Ranade, S., Hangya, B., Taniguchi, H., Huang, J. Z., & Kepecs, A. (2013). Distinct behavioural and network correlates of two interneuron types in prefrontal cortex. *Nature*, 498(7454), 363–366. <https://doi.org/10.1038/nature12176>
48. Laszlovszky, T., Schlingloff, D., Hegedüs, P., Freund, T. F., Gulyás, A., Kepecs, A., & Hangya, B. (2020). Distinct synchronization, cortical coupling and behavioral function of two basal forebrain cholinergic neuron types. *Nature Neuroscience*, 23(8), 992–1003. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0648-0>
49. Lee, M. G., Chrobak, J. J., Sik, A., Wiley, R. G., & Buzsáki, G. (1994). Hippocampal theta activity following selective lesion of the septal cholinergic system. *Neuroscience*, 62(4), 1033–1047. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)90341-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)90341-7)
50. Lee, M. G., Hassani, O. K., Alonso, A., & Jones, B. E. (2005). Cholinergic basal forebrain neurons burst with theta during waking and paradoxical sleep. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(17), 4365–4369. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0178-05.2005>
51. Leranth, C., & Frotscher, M. (1989). Organization of the septal region in the rat brain: Cholinergic-GABAergic interconnections and the termination of hippocampo-septal fibers. *The Journal of Comparative Neurology*, 289(2), 304–314. <https://doi.org/10.1002/cne.902890210>
52. Lima, S. Q., Hromádka, T., Znamenskiy, P., & Zador, A. M. (2009). PINP: a new method of tagging neuronal populations for identification during in vivo electrophysiological recording. *PLoS One*, 4, 6099.
53. Lisman, J. E., & Jensen, O. (2013). The Theta-Gamma Neural Code. *Neuron*, 77(6), 1002–1016. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.03.007>
54. Lu, C. B., Ouyang, G., Henderson, Z., & Li, X. (2011). Induction of theta-frequency oscillations in the rat medial septal diagonal band slice by metabotropic glutamate receptor agonists. *Neuroscience*, 177, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.01.004>
55. Mamad, O., McNamara, H. M., Reilly, R. B., & Tsanov, M. (2015). Medial septum regulates the hippocampal spatial representation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00166>

56. Manseau, F., Danik, M., & Williams, S. (2005). A functional glutamatergic neurone network in the medial septum and diagonal band area. *Journal of Physiology*, 566(3), 865–884. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.089664>
57. Manseau, F., Goutagny, R., Danik, M., & Williams, S. (2008). The hippocamptoseptal pathway generates rhythmic firing of GABAergic neurons in the medial septum and diagonal bands: An investigation using a complete septohippocampal preparation in vitro. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(15), 4096–4107. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0247-08.2008>
58. Mikulovic, S., Restrepo, C. E., Siwani, S., Bauer, P., Pupe, S., Tort, A. B. L. L., Kullander, K., & Leão, R. N. (2018). Ventral hippocampal OLM cells control type 2 theta oscillations and response to predator odor. *Nature Communications*, 9(1), 3638. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05907-w>
59. Moore, J. D., Deschênes, M., Furuta, T., Huber, D., Smear, M. C., Demers, M., & Kleinfeld, D. (2013). Hierarchy of orofacial rhythms revealed through whisking and breathing. *Nature*, 497(7448), 205–210. <https://doi.org/10.1038/nature12076>
60. Müller, C., & Remy, S. (2018). Septo–hippocampal interaction. *Cell and Tissue Research*, 373(3), 565–575. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2745-2>
61. Mysin, I. E., Kitchigina, V. F., & Kazanovich, Y. (2015). Modeling synchronous theta activity in the medial septum: Key role of local communications between different cell populations. *Journal of Computational Neuroscience*, 39(1), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10827-015-0564-6>
62. Oddie, S. D., & Bland, B. H. (1998). Hippocampal formation theta activity and movement selection. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 22(2), 221–231. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(97\)00003-1](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(97)00003-1)
63. Oddie, S. D., Stefanek, W., Kirk, I. J., & Bland, B. H. (1996). Intraseptal procaine abolishes hypothalamic stimulation-induced wheel-running and hippocampal theta field activity in rats. *Journal of Neuroscience*, 16(5), 1948–1956. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.16-05-01948.1996>
64. O’Keefe, J., & Recce, M. L. (1993). Phase relationship between hippocampal place units and the EEG theta rhythm. *Hippocampus*. <https://doi.org/10.1002/hipo.450030307>
65. Oliveira, H. M., & Melo, L. V. (2015). Huygens synchronization of two clocks. *Scientific Reports*, 5, 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep11548>
66. Paxinos, G., Franklin, K. B. J., & Franklin, K. B. J. (2001). *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press.
67. Petsche, H., Stumpf, C., & Gogolak, G. (1962). The significance of the rabbit’s septum as a relay station between the midbrain and the hippocampus I. The control of hippocampus arousal activity by the septum cells. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 14(2), 202–211. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(62\)90030-5](https://doi.org/10.1016/0013-4694(62)90030-5)
68. Ramirez, J. P., Fey, R. H. B., Aihara, K., & Nijmeijer, H. (2014). An improved model for the classical Huygens’ experiment on synchronization of pendulum clocks. *Journal of Sound and Vibration*, 333(26), 7248–7266. <https://doi.org/10.1016/j.jsv.2014.08.030>
69. Ramirez, J. P., Olvera, L. A., Nijmeijer, H., & Alvarez, J. (2016). The sympathy of two pendulum clocks: Beyond Huygens’ observations. *Scientific Reports*, 6(March), 1–16. <https://doi.org/10.1038/srep23580>

70. Ranade, S., Hangya, B., & Kepecs, A. (2013). Multiple modes of phase locking between sniffing and whisking during active exploration. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(19), 8250–8256. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3874-12.2013>
71. Robinson, J., Manseau, F., Ducharme, G., Amilhon, B., Vigneault, E., El Mestikawy, S., & Williams, S. (2016). Optogenetic activation of septal glutamatergic neurons drive hippocampal theta rhythms. *Journal of Neuroscience*, 36(10), 3016–3023. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2141-15.2016>
72. Rutishauser, U., Ross, I. B., Mamelak, A. N., & Schuman, E. M. (2010). Human memory strength is predicted by theta-frequency phase-locking of single neurons. *Nature*, 464(7290), 903–907. <https://doi.org/10.1038/nature08860>
73. Semba, K., & Komisaruk, B. R. (1984). Neural substrates of two different rhythmical vibrissal movements in the rat. *Neuroscience*, 12(3), 761–774. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(84\)90168-4](https://doi.org/10.1016/0306-4522(84)90168-4)
74. Simon, A. P., Poindessous-Jazat, F., Dutar, P., Epelbaum, J., & Bassant, M. H. (2006). Firing properties of anatomically identified neurons in the medial septum of anesthetized and unanesthetized restrained rats. *The Journal of Neuroscience*, 26(35), 9038–9046.
75. Smythe, J. W., Colom, L. V., & Bland, B. H. (1992). The extrinsic modulation of hippocampal theta depends on the coactivation of cholinergic and GABA-ergic medial septal inputs. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 16(3), 289–308. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80203-9](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80203-9)
76. Sotty, F., Danik, M., Manseau, F., Laplante, F., Quirion, R., & Williams, S. (2003). Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: Novel implications for hippocampal rhythmicity. *Journal of Physiology*, 551(3), 927–943. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.046847>
77. Stewart, M., & Fox, S. E. (1989). Two populations of rhythmically bursting neurons in rat medial septum are revealed by atropine. *Journal of Neurophysiology*, 61(5). <https://doi.org/10.1152/jn.1989.61.5.982>
78. Takeuchi, Y., Nagy, A. J., Barcsai, L., Li, Q., Ohsawa, M., Mizuseki, K., & Berényi, A. (2021). The Medial Septum as a Potential Target for Treating Brain Disorders Associated With Oscillopathies. *Frontiers in Neural Circuits*, 15. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.701080>
79. Teitelbaum, H., Lee, J. F., & Johannessen, J. N. (1975). Behaviorally evoked hippocampal theta waves: A cholinergic response. *Science*, 188(4193), 1114–1116. <https://doi.org/10.1126/science.175440>
80. Tokuda, K., Katori, Y., & Aihara, K. (2019). Chaotic dynamics as a mechanism of rapid transition of hippocampal local field activity between theta and non-theta states. *Chaos*, 29, 113115.
81. Tsanov, M. (2015). Septo-hippocampal signal processing: Breaking the code. *Progress in Brain Research*, 219, 103–120. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2015.04.002>
82. Tsanov, M., Chah, E., Reilly, R., & O'Mara, S. M. (2014). Respiratory cycle entrainment of septal neurons mediates the fast coupling of sniffing rate and hippocampal theta rhythm. *European Journal of Neuroscience*, 39(6), 957–974. <https://doi.org/10.1111/ejn.12449>
83. Ujfalussy, B., & Kiss, T. (2006). How do glutamatergic and GABAergic cells contribute to synchronization in the medial septum? *Journal of Computational Neuroscience*, 21(3), 343–357. <https://doi.org/10.1007/s10827-006-9082-x>

84. Vandecasteele, M., Varga, V., Berényi, A., Papp, E., Barthó, P., Venance, L., Freund, T. F., & Buzsáki, G. (2014). Optogenetic activation of septal cholinergic neurons suppresses sharp wave ripples and enhances theta oscillations in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(37), 13535–13540. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411233111>
85. Varga, V., Hangya, B., Kránitz, K., Ludányi, A., Zemankovics, R., Katona, I., Shigemoto, R., Freund, T. F. T. F., & Borhegyi, Z. (2008). The presence of pacemaker HCN channels identifies theta rhythmic GABAergic neurons in the medial septum. *Journal of Physiology*, 586(16), 3893–3915. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.155242>
86. Wang, X.-J. (2002). Pacemaker Neurons for the Theta Rhythm and Their Synchronization in the Septohippocampal Reciprocal Loop. *Journal of Neurophysiology*, 87(2), 889–900. <https://doi.org/10.1152/jn.00135.2001>
87. Willms, A. R., Kitanov, P. M., & Langford, W. F. (2017). Huygens' clocks revisited. *Royal Society Open Science*, 4(9), 170777. <https://doi.org/10.1098/rsos.170777>
88. Wolansky, T., Clement, E. A., Peters, S. R., Palczak, M. A., & Dickson, C. T. (2006). Hippocampal Slow Oscillation: A Novel EEG State and Its Coordination with Ongoing Neocortical Activity. *Journal of Neuroscience*, 26(23), 6213–6229. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5594-05.2006>
89. Xu, C., Datta, S., Wu, M., & Alreja, M. (2004). Hippocampal theta rhythm is reduced by suppression of the H-current in septohippocampal GABAergic neurons. *European Journal of Neuroscience*, 19(8), 2299–2309. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2004.03316.x>
90. Yang, C., McKenna, J. T., Zant, J. C., Winston, S., Basheer, R., & Brown, R. E. (2014). Cholinergic neurons excite cortically projecting basal forebrain GABAergic neurons. *Journal of Neuroscience*, 34(8), 2832–2844. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3235-13.2014>
91. Yang, C., Thankachan, S., McCarley, R. W., & Brown, R. E. (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? *Current Opinion in Neurobiology*, 44, 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.05.004>
92. Yoder, R. M., & Pang, K. C. H. (2005). Involvement of GABAergic and cholinergic medial septal neurons in hippocampal theta rhythm. *Hippocampus*, 15, 381–392.
93. Zaborszky, L., van den Pol, A., & Gyengesi, E. (2012). The Basal Forebrain Cholinergic Projection System in Mice. In C. Watson, G. Paxinos, & L. Puellas (Eds.), *The Mouse Nervous System* (1st ed., pp. 684–718). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369497-3.10028-7>
94. Zemankovics, R., Káli, S., Paulsen, O., Freund, T. F., & Hájos, N. (2010). Differences in subthreshold resonance of hippocampal pyramidal cells and interneurons: The role of h-current and passive membrane characteristics. *The Journal of Physiology*, 588(12), 2109–2132. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.185975>
95. Zou, X., Coyle, D., Wong-Lin, K. F., & Maguire, L. (2011). Computational study of Hippocampal-septal theta rhythm changes due to Beta-Amyloid-Altered ionic channels. *PLoS ONE*, 6(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021579>
96. Zutshi, I., Brandon, M. P., Fu, M. L., Donegan, M. L., Leutgeb, J. K., & Leutgeb, S. (2018). Hippocampal Neural Circuits Respond to Optogenetic Pacing of Theta Frequencies by Generating Accelerated Oscillation Frequencies. *Current Biology*, 28(8), 1179–1188.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.02.061>