

Vélemény Dr. Nádasy Zoltán akadémiai doktori disszertációjáról

Nádasy Zoltán életművének akadémiai doktori disszertációban ismertetett része három fő téma köré szerveződik. Az első a milliszekundumos időskálán szerveződő multineuronális mintázatokról szól, a második az oszcillatorikus populációs aktivitásokhoz kapcsolódó neuronális kódolást veszi górcső alá, míg a harmadik humán alanyok entorhinális kérgéből mért grid-sejtekre fókuszál. Általános megjegyzés, hogy az ismertetett cikkek beszúrása a disszertációba nem minden esetben sikerült maradéktalanul. Az első két publikációból több ábra is hiányzik, és a két grid-sejtes cikk (PNAS és Science Advances) szupplementuma sem található a dolgozatban. Ez önmagában nem okozott gondot, hisz a disszertáció alapját képező mindegyik tanulmány elérhető a világhálón, azonban halvány kételyt ébreszt a dolgozat elkészítésének alaposágával kapcsolatban. Főképpen azért, mert a kísérletek körülményeiről, a mérési módszerekről és az elemzés részleteiről ezekben a járulékos dokumentumokban találhatóak alapvetően fontos információk. Egy kicsit ebbe az irányba hat az egyébként relatíve nem nagy számú elírás, helytelen szóhasználat, melyek felsorolásától most eltekintek. Mindezeket valamennyire ellensúlyozza, hogy a szerző magyarázó illusztrációi magas színvonalúak, érthetően mutatják be / foglalják össze az egyes részek eredményeit. A fejezetek előtti idézetek segítenek kontextusba helyezni a kifejtett témával kapcsolatos eredményeket. Összességében a Disszertáció formai szempontból az előbbi hibák ellenére megfelelő színvonalon lett összeállítva. A dolgozat tartalmával kapcsolatos észrevételeimet, megjegyzéseimet az alábbiakban, az egyes fejezetehez kapcsolódóan fogalmazom meg.

Az **első témához** két publikáció tartozik, melyek közül a korábbi a szerző és munkatársainak legnagyobb hatású, bátran állítható, hogy úttörő felfedezéséről szól. A **második**, fáziskódolás témájában írt munkák, bár nagyobb területet fognak át, mégis jóval szerényebb visszhangot váltottak ki. Ennek egyik oka, hogy az elsőként bemutatott cikkben közölt eredmények és az ezekből levolt következtetések még a populációs doktrína felfutása előtt jelentek meg, míg a fáziskódolással kapcsolatban számos fontos publikáció látott napvilágot a Jelölt munkáit megelőzően. Hasonló mondható el a doktori pályázat beadásához időben legközelebbi, annak **harmadik részében** közölt adatokat ismertető két grid-sejtes cikkkel kapcsolatban. Fontos és új részleteket tárnak fel, de hatásuk jóval kisebb, mint a kutatói karrier elején, a Buzsáki laborból származó eredményeké.

I.

Napjainkban az idegtudományi kutatás radikális szemléletváltásának lehetünk szemtanúi. A neurális kód feltörésére tett kísérletek az egy-sejt centrikus megközelítést meghaladva a populációs mintázatok elemzése felé fordultak. Donald O'Hebb korát messze meghaladó felvetései alapozták meg a szinkron tüzelő neuronokból álló mintázatok kialakulását és szerepét taglaló assembly hipotézist, melynek kísérletes bizonyítására több évtizedig várni kellett. Először a tetród-, majd kis késéssel a félvezető-alapú többcsatornás elektródarendszerek elterjedése nyitotta meg az utat több neuron viselkedő állatokban történő párhuzamos mintavételezése felé, lehetővé téve a neuronok közötti korrelációs mintázatok elemzését. Matthew Wilson, Bruce McNaughton, Williams Skaggs és munkatársaik mutatták meg először neuronok közötti korrelációk tanulást követő, alvás alatti átrendeződését. Felfedezésük megalapozták a memória kialakulásának rendszer-konzolidációs hipotézisét, és rámutattak az alvás fontosságára az ébrenlét során kialakuló mintázatok visszajátszás révén történő stabilizálásában. A korrelációs mintázatok finomszerkezetét, a neuronok egymáshoz való viszonyát, szekvenciák kialakulását ezekben a munkákban még nem vizsgálták. E területen hozott jelentős elérelépést a Jelölt **első cikkben** részletezett eredménye. Statisztikailag robusztus módszerekkel (szekvencia-templáthoz való hasonlóság alapján történő keresés és eseménykörüli együttes tüzelési valószínűségek meghatározása) azonosítottak ismétlődően előforduló,

több neuronból álló szekvenciákat, melyek rövidebb időablakban, tömörítve újrakisztottak az éber periódust követő alvás során megjelenő nagy frekvenciás tranziensekhez (ripple) kapcsolódva. A szerző eredményeinek publikálása óta az ismétlődő multineuronális mintázatokkal foglalkozó tanulmányok száma robbanásszerű növekedésnek indult. Új, a korábbiaknál hatékonyabb és érzékenyebb assembly-detekciós módszerek láttak napvilágot (lásd Adriano Tort és munkatársainak principális komponens és független komponens analízist kombináló módszere, Lopes dos Santos et al., 2013, J. Neurosci. Methods), melyek alkalmazásával mélyebb betekintést nyertünk az agyi információkódolás mechanizmusába. A szekvenciák viselkedési korrelátumainak elemzése rámutatott, hogy ezen mintázatok több / más információt hordoznak, mint a mintázatot alkotó neuronok. Feltárult a neuronhálózatok rendkívül gazdag belső dinamikája, szekvenciák spontán, akár helyi mezőpotenciál oszcillációktól független kialakulása, melyek közül a külvilág ingereivel korrelálók megerősödnek, míg az ezekhez nem kapcsolódók eltűnnek. Fény derült arra, hogy a korreláltan tüzelő neuronok alkotja mintázatok evolúciósan konzerváltak, már gerinctelenekben is megfigyelhetők. A populációs mintázatok elemzése beépült a rendszerneurobiológiai kutatások alapszerepei közé. Az eredmények gazdag utóélete meggyőző bizonyítéka a munka jelentőségének. *Szívesen olvastam volna bővebb áttekintést a Jelölt eredményeinek publikálása óta eltelt időszak multineuronális mintázatokkal kapcsolatos eredményeiről.* Egy viszonylag friss review-ban David Tingley és Buzsáki György kifejti, hogy a hippocampusz fő funkciója szekvenciák generálása lehet (Buzsáki és Tingley, 2018, TICS). A szekvenciák egy epizód különböző aspektusainak kérgi reprezentációi között létesítenek kapcsolatot. A kialakuló szekvenciákat a hálózat egyedfejlődés során meghatározott konnektivitása, korábbi eseményekről kialakult memórianyomok és az aktuális ingermintázat határozza meg. Fontos kérdés a szekvencián belüli sorrend fontossága. Mind humán, mind állatkísérletes adatok bizonyítják, hogy a hippocampusz nélkülözhetetlen események sorrendiségének memorizálásához. Események bekövetkezési sorrendje (vagy akár térben egymás után következő helyek) az azokat kódoló hippocampális (és neokortikális) neuronok tüzelési sorrendjében is tetten érhető. *A Jelölt véleménye szerint mennyire lehet fontos a szekvencián belüli sorrend? Elképzelhetőnek tarja, hogy a sorrend külső hatásra történő megváltoztatásával fel lehet cserélni egy emlényomban az események sorrendjét?*

További kérdés a mezőpotenciál oszcillációk szekvenciákban betöltött szerepének fontosságát érinti. Egyrészt hippocampális szekvenciák esetében a piramissejtek theta ritmushoz képesti fázis precessziójának kulcsszerepe van. Azonban vannak más időskálán sőt, oszcillatorikus aktivitás hiányában szerveződő szekvenciák, melyek ismétlődése nem periodikus, hanem külső eseményhez, vagy belső állapotváltozáshoz köthető. Bonyolítja a helyzetet, hogy szekvenciákat számos, akár biológiai ritmustól független időablakot használva is lehet detektálni potenciálisan minden agyterületen, hovatovább agyterületek között. *Ebből következik, hogy a szekvenciális mintázatok egy részének létrejöttében az oszcillációk szerepe vitatható. Erről szeretném kikérni a Jelölt véleményét.* A fentiekből következik, hogy a szekvenciák azonosításának jelentősége túlmutat a bináris neuronális kimenet és a folytonos mezőpotenciál közötti kapcsolat kódolásban betöltött szerepének demonstrálásánál, és sokkal inkább facilitálta a továbblépést a egy-neuron centrikustól a populációs megközelítés felé.

Ide kénytelen vagyok beszúrni egy pontosítást. A Jelölt szerint „The precise phase-locking between gamma oscillations and spikes was demonstrated more than 20 years later in my 2022 article (...)”. Azonban már a hivatkozott saját publikáció előtt Lasztóczy Bálint és Thomas Klausberger 2016-ban részletesen elemezte helyesjtek fáziskapcsoltságát különböző frekvenciájú gamma oszcillációkhoz (Neuron).

Az értekezés **második tanulmánya** az első nyomdokain haladva megmutatta, hogy egymásba ágyazott sztereotipikus mintázatot egyszerű neuronhálózatok is képesek létrehozni, ezek kialakulása a neuronhálózatok alapszerepe. Az eredmények jelentőségét csökkentik, ahogy arra a szerző is rámutat, a kísérleti preparátumból eredő limitációk. Felmerülhet, hogy a megfigyelt mintázatok ennek, és nem

valamiféle alapvető működési elvnek köszönhetően jönnek létre. A találatok validitását azonban későbbi tanulmányok megerősítették: spontán megjelenő ismétlődő mintázatokat mutattak ki számos preparátumban, mint például organotipikus és akut szeletben és legújabban organoidokban. Mítöbb, a szerző tanulmányában leírtakhoz hasonló egymásba ágyazott mintázatokat találtak az intakt agyban is.

A Jelölt is megfogalmazta a megfigyelt mintázat perturbációkkal szembeni robosztusságára vonatkozó kérdést. Az ismertetett cikkben erre vonatkozóan nincs adat, azonban a későbbi publikációk alapján szívesen olvastam volna többet erről.

A Jelölt által vázolt karácsonyfa metafora rendkívül elegánsan mutatja be a szekvenciális aktivitás háttérében áló attraktor dinamika szerepét a kódolásban, különösen új információk meglévő szekvenciákba épülésében. A leírt modellben kulcsszerepe van a szekvenciák vázát alkotó gyorsan tüzelő piramisjeleknek. Ezek alapján feltételezhető, hogy a szekvenciák változékonyságáért, esetleges spontán átrendeződéséért a lassabban tüzelő, plasztikusabb tagok lehetnek felelősek, ezek cserélődésének lehet nagyobb a valószínűsége. *Kérdésem, hogy a szövettenyészetben megfigyelték-e, hogy a gyorsabban tüzelő neuronok helyzete a szekvencián belül kevésbé változik az alacsonyabb aktivitású tagokkal összehasonlítva?*

Két, a neuronális aktivitás időbeli szerveződését alapvetően befolyásoló szereplőről nem esik szó a dolgozatban: az egyik a gátlás, a másik a különböző kéreg alatti modulátorok szerepe. *Az első munkában detektáltak-e gyorsan tüzelő, valószínűsíthetően interneuronokat a szekvenciákban? A replay kialakulásában esszenciális szerepe van a modulátoroknak, ezért egy bekezdést érdemes lenne ennek a témának is szentelni,* különös tekintettel arra, hogy a moduláció képes a szinaptikus tanulási szabályokat is felülírni, például a spike timing-dependent plasticity-t időzítésfüggetlenné tenni (Seol et al., 2007, Neuron).

II

A Disszertáció második fele a fáziskódolásról szól, különös tekintettel a gamma oszcillációhoz (röviden gamma) kapcsolt tüzelés reprezentációk kialakításában betöltött szerepére. Itt is be kell szűrnöm egy pontosítást: a hippokampális theta nem a mediális septalis kolinerg, hanem főleg a GABAerg pacemaker jellegű aktivitást mutató és részben a glutamaterg populációtól ered, míg a kolinerg komponens csak modulálja, de meghajtani nem tudja a thetat (ld. Vandecasteele et al., 2014, PNAS; Hangya et al., 2009, J. Neurosci.; Kocsis et al., 2022, Cell Reports). Visszatérve a Jelölt eredményeihez: az első cikk az információ utazó gamma hullámokhoz kapcsolt tüzelés formájában történő kódolását leíró modelltől szól, amely túllép a gamma állóhullámokhoz viszonyított fáziskódolásra épülő Binding by Synchrony elven. Eszerint nem a szinkronitás, hanem a koherencia és a neuronhálózat tagjai között az oszcillatorikus aktivitás utazóhullám jellegéből adódó fázisgrádiens a modell kulcsfontosságú jellemzői. Fontos megjegyezni, hogy a neuronhálózatok közötti koherencia fontosságát a közöttük létrejövő kommunikációban már a Jelölt ismertetett cikke előtt megfogalmazta Pascal Fries a communication through coherence elvben (2005), bár az eredeti leírásban még zero-lag szinkronitást feltételezett, majd a modell későbbi iterációjába épített be késleltetést a kapcsolt hálózatok között. A Jelölt modelljében a gamma fáziskapcsolt információfeldolgozás négy stációra bontható: kódolás, gamma-fázishoz igazítás, kompresszió és rekonstrukció. A lépések részletesebben: különböző intenzitású bemenetek intenzitás-függő látenciával aktiválják a bemeneti réteg neuronjait, majd a következő rétegben a látenciakód fáziskóddá alakul: a kódolandó információ célneuronjai az intracelluláris gamma bejövő impulzushoz legőzelebbi gamma ciklus csúcsán sülnek ki, megtörténik a „gamma alignment”. Ezt követően konvergens kapcsolatokon keresztül a gamma-kapcsolt neuronok kimenete létrehoz egy akciós potenciál sorozatot a modell 3. rétegében. A sorozatban az akciós potenciálok (AP) sorrendje megfelel az upstream neuronok kisülési sorrendjének. Végül az AP-sorozattá kompresszált információ a fáziskódoló réteggel egyező gamma fázisgrádiens mutató neuronokban (4. azaz

kimeneti réteg) létrehozza a kompresszió előtti rétegben az eredeti bemenet által kialakított mintázatot, ezáltal megtörténik az információ rekonstrukciója. A Jelölt több példán is meggyőzően mutatja be a modell működését. Azonban a sokodalúság egyben a modell gyengesége is. *Túl sok mindent akar megmagyarázni, ehhez viszont véleményem szerint elég merészen lépi át a biológiai realitásokat, nem tudja meggyőzően bemutatni a modell komponenseinek biológiai megfelelőit. Ebből a részből is hiányzik a modell publikálása óta eltelt idő eredményeinek sokkal részletesebb áttekintése. Szükséges lett volna azonosítani mind a modellt támogató, mind az annak ellentmondó biológiai eredményeket, különös tekintettel az adott jelenséget magyarázó rivális modellekkel való összehasonlításra. Először is, kulcsfontosságú lenne megmutatni, hogy a gamma utazóhullám, erre viszont nem ad bizonyítékot, az irodalomban inkább az ellenkezőjére találunk példát (zero lag synchrony). Míg a modell meggyőzően működhet a szenzoros rendszerekből hozott példákon, a távolabbi jelenségekre való alkalmazása több kérdést is felvet. Az egyik ilyen problémás példa a fázis precesszió, a másik a grid sejtek térben periodikus aktivitása, melyre később részletesebben kitérek. Bár különböző területek közötti gamma oszcillációk pár milliszekundumos késleltetéséről van adat (amire a Jelölt hivatkozik is), egyelőre még nem nyert bizonyítást a modell alapját képező feltételezés, miszerint a gamma oszcilláció utazóhullám, akár kortikális kolumnán belül, akár nagyobb területek között. Még nem sikerült a feltételezett fáziskülönbségeket sem kimutatni szomszédos neuronok intracelluláris gamma oszcillációi között. Ehhez többszörös in vivo patch vagy az egyre inkább intakt állatokban is bevezethető membrán potenciál szenzorok alkalmazása szükséges, így erre az adatra még várni kell. Többszörös in vivo patch mérési eredmény már van az irodalomban, de ezen cikkekben nem térnek ki (legalábbis tudomásom szerint) paralel elvezetett neuronok membránpotenciáljának gamma frekvenciás kapcsoltságára. Egyébként a szepto-hippokampális rendszerben nemrég publikált David Tingley és Buzsáki György egy, a Jelölt modelljével részben átfedő jelenséget: a hippokampális theta fáziskapcsolt helykód laterális szeptális (LS) útvonalkóddá transzformációját (Tingley and Buzsaki, 2018, Neuron). Ebben az esetben a preszinaptikus piramisisejek felelnének meg a gamma alignment rétegnek, míg a hippokampusz laterális septum kapcsolatban történne a kompresszió. Sajnos még nincs információ arról, hogy LS-ből érkező információt hogyan olvassák ki a downstream hipotalamikus területek.*

*További probléma, hogy az in vivo mérhető gamma stabilitása / szabályossága nem kompatibilis a modell által feltételezett milliszekundumos precizitással. Jó példa a hippokampális gamma oszcillációk theta ciklusokhoz kapcsolt dinamikája: az exploráció során theta ciklusok különböző fázisaihoz különböző bemenetekhez köthető, eltérő frekvenciájú gamma ritmusok kapcsolódnak (a theta ciklus első felében az entorhinális eredetű mid gamma dominál, majd felülkerekedik a CA3-ból jövő lassú gamma). Mítöbb, a theta ciklusok heterogének, viselkedésfüggően változik a gamma tartalmuk, ahogy ezt Gido van de Ven és munkatársai mutatták David Dupret csoportjából. Emellett mindegyik gamma típus ciklushossza és magnitúdója is jelentős variabilitást mutat. *Hogyan egyeztethető össze a gamma oszcillációk ilyen variabilitása a modell által feltételezett precizitással?* Ehhez a kérdéshez kapcsolódik, hogy a modell perturbációtűrése nem lett tesztelve. A biológiai rendszerek egyik legfőbb erőssége az alkalmazkodóképességen felül a külső hatásokkal szembeni ellenállóképességük, melynek egyik kulcsa a redundancia. Fontos lett volna kideríteni a modell komponenseinek zavartűrését zajt adva a kódolási folyamat megfelelő stádiumaihoz (kódolás, gamma-kapcsolás, kompresszió, rekonstrukció). *Hogyan befolyásolná a gamma ciklusonkénti variabilitásának növelése, esetleg az in vivo mért gamma változékonyságának imitálásával, ezen fokozatok kimenetét? Mennyire tolerálja a modell a gamma alignment és a rekonstrukciós réteg közötti gamma fázisgrádiens megzavarását? Másik lehetőség a redundancia mértékének meghatározása a modell rétegeiből neuronok eltávolításával, ezzel annak kiderítése, hogy a feldolgozás stádiumai közül melyik mennyire érzékeny a hálózat egy részének kiesésére.* Felmerül továbbá a pontosság és redundancia közötti dilemma. Másképp fogalmazva, mennyire redundáns a neurális kód. Az egyik szélsőség, hogy összetartozó információmorzsákat kódoló neuronok összehangolt*

aktivitásából áll össze a reprezentáció, ha kiesnek neuronok, a kód összeomlik. A másik véglet, hogy az egyedi neuronok aktivitása nem bír jelentőséggel, a populáció aktivitása hordozza a többletinformációt, melyből leképezi a környezetből érkező ingermintázatot, vagy akár egy viselkedéshez tartozó mozgássorozatot (oszillációktól függetlenül). Környezeti paraméterek (az állat pozíciója), viselkedési mintázatok, memóriatartalmak magas megbízhatósággal dekódolhatók párhuzamosan mért neuronok aktivitásából. Napvilágot láttak olyan clusterless dekódoló algoritmusok, melyek az egyedi neuronok aktivitása helyett a multiunit jelet veszik figyelembe a résztvevő neuronok megkülönböztetése (spike sorting) nélkül. Megjegyzendő, hogy az eddig sikeresen bevezetett agy-gép csatolók is multineuronális mintázatokot tanulnak és dekódolják ezekből a páciens szavait vagy mozgási szándékait. Hovatovább, még neuronális akciós potenciálokra sincs szükség bizonyos jellemzők dekódolásához: különböző frekvenciatartományba tartozó mezőpotenciál oszcillációkból is dekódolható pl. a kísérleti alany pozíciója (Agarwal, Nanthia Suthana, Liang's paper...). Ezen jeltípusok redundánsak, az általuk megvalósítható kódolás pedig perturbációtűrő.

Az egész disszertáción végigvonul a gondolat, miszerint a spike-field fáziskapcsoltság esszenciális a neuronális kódolás szempontjából. Saját eredményeinek jelentőségét is ennek kontextusában hangsúlyozza. A fenti, populációs dekódolással kapcsolatos fejlemények és az utóbbi évek felfedezései azonban árnyalják ezt a képet. Az egyik meglepő felfedezés denevérek navigációjának neurális alapjairól szól. E szerint denevérek hippokampuszából nem vezethető el a rágcsálókéhoz hasonló folytonos theta, azonban fáziskódolás ennek hiányában is megvalósul (nem más típusú oszcillációkhoz, hanem egyedi hullámokhoz kapcsolódva). *Ezen eredmények felvetik a kérdést: vajon mennyire univerzális (evolúciósan konzervált) a kódolás rágcsálókban megfigyelt azon formája, ami neuronális akciós potenciálok mezőpotenciál oszcillációk fázisához való időzítésén alapul?*

Végül ki kell térnem további közelmúltban publikált eredményekre, melyek megkérdőjelezik a modellben vázolt mechanizmus fázis precesszióban és entorhinális grid kialakulásában való részvételét. *A fázisprecesszió hátterében több mechanizmust is leírtak, ezekről részletes kísérleti adatok állnak rendelkezésre (ld. Losonczy Attila és Jeff Magee munkáit). Ezt figyelembe véve fontos lett volna részletesebben írni arról, hogy ezen adatok hogyan támogatják, illetve miben mondanak ellent a modellben leírtaknak.* Az entorhinális grid kialakulásával kapcsolatban pedig pár éve publikálták, hogy a grid sejtek fázisprecessziójának megszűnése nem interferál a térben periodikus tüzeléssel (Lepperod et al., 2021, Science Advances). Eszerint a grid sejt-aktivitás theta / gamma kapcsoltsága nem szükséges a grid kialakulásához. Egy korábbi munkában pedig azt bizonyították, hogy a grid mezőkhöz kapcsolt aktivitás nem az intracelluláris oszcillációk magnitúdójához, hanem nem oszcillatorikus ramp-ek megjelenéséhez köthető. *Fontos lenne, hogy a Jelölt megvizsgálja az általa felvázolt modellt a fenti megjegyzések fényében.*

III

A disszertáció harmadik fő témája a humán grid sejt aktivitással kapcsolatban két cikk alapján került kifejtésre. A két munka illeszkedik a reprezentációk geometriájáról szóló publikációk növekvő sorába (pl. Nieh et al., 2021, Nature; Courellis et al., 2024, Nature). A grid sejtek felfedezését követően 5 évet kellett várni, míg a navigáció hátterében álló rendszer ezen komponenseire utaló bizonyítékokat találtak emberben. Ahogy a Jelölt is rámutat, munkájuk korábbi eredményeket erősít meg, illetve tovább is lép ezekhez képest. Az elsőként megjelent humán grid-sejtes publikációban fMRI-vel a neuronális aktivitás változásának indikátoraként használt BOLD szignál periodikus változásáról számoltak be a temporális lebeny entorhinális régiójában (EC) virtuális navigáció során. A Jelölt és munkatársai ezen megközelítéssel túllépve közvetlenül mértek neuronális aktivitást két epilepsziás beteg entorhinális kérgéből a strukturális MR és a mérőelektrodok hossza alapján elvileg az EC 2./3. rétegéből, azonban az erről mutatott ábrából ez nem állapítható meg egyértelműen. Négy virtuális környezetben tesztelték az alanyokat, melyek nemcsak

méretükben, hanem vizuális komplexitásban is különböznek. Az egyes helyszíneken töltött időt 5, maximum 10 percben limitálták, így egy alanyt mind a négy környezetben le tudtak tesztelni, követve a regisztrált entorhinális neuronok viselkedését különböző kontextusokban. Szignifikáns különbségeket találtak a rágsálók entorhinális grid-sejteinek térbeli tüzeléséhez képest: a hexagonális grid-mező elrendezés mellett kimutattak rektanguláris gridet, melynek orientációja a sarkokhoz volt horgonyozva. A grid orientációja az alaprajz geometriájától is függött és jelentős eltérést mutatott a négyzet és a táglalap alapú környezetekben. A rágsálókban mérttel ellentétben a grid csomópontjai közötti távolság sem volt állandó, a környezet méretétől függött. A munka számos kérdést vet fel, amelyekre szeretnék választ kapni a Jelölttől. *Az egyik, hogy a virtuális környezetek miért nem csak a méretükben különböztek? Külön lehetett volna tesztelni a grid felbontásának (rácsméret) függését a környezet méretétől, ha ugyanolyan alakú és vizuális komplexitású csak méretben különböző környezetben végezték volna a vizsgálatot. Emellett ugyanolyan méretű de különböző komplexitású kontextusokban kideríthették volna, hogy a környezet vizuális részletei hogyan befolyásolják az entorhinális kódolást. Detektáltak torzulást a gridben, esetleg a grid field-ek változását a környezet kitüntetett pontjai közelében (pl. oszlopok a Luxor templom pavilonjában, vagy az alienek űrhajója közelében)? Kirajzolódott valamilyen topográfia a regisztrált, térben periodikus tüzelést mutató neuronok EC-n belüli elhelyezkedése és gridjük tulajdonságai között (rácsméret, orientáció, forgásszimmetria)? A szomszédos elektródokon vagy az adott elektród által mért grid-sejtek rácsai mennyire voltak hasonlóak, sikerült-e azonosítani a rágsálókban kimutatható modulokat? Alig van az ismert adatokban a grid-sejtektől eltérő, de térben modulált neuron (pl. border sejtek). Nem találtak ilyeneket, vagy valamilyen más okból hagyták ki ezeket a tanulmányból?* Edvard Moser és csoportja a grid-sejtek aktivitásának populációs elemzésével derítették fényt a grid hálózat aktivitásának toroidális topológiát mutató dinamikájára (Gardner et al., 2022, Nature). Az egyes grid-sejtek a navigáció során egy tórusz felületét járják be. Ezt a dinamikát a grid-sejtek aktivitását meghatározó folytonos attarktor hálózat modellje közelíti legjobban, melynek létrejöttében a laterális gátlásnak kulcsszerepe van. *Ide kapcsolódó kérdés, hogy találtak-e gátló neuront (extracelluláris elvezetésben spike alak, tüzelési ráta és az autokorrelogram morfológiája alapján kísérletet lehet tenni a klasszifikációra), és ha igen, az milyen aktivitást mutatott? Figyelembe véve, hogy csak viszonylag kevés neuront tudtak párhuzamosan elvezetni, próbálkoztak-e mégis populációs szintű elemzéssel?* A Jelölt a humán grid-ek környezet méretétől való függését az ember által befogható terek óriási méretbeli variabilitásával magyarázza (ebből a szempontból is érdekes lenne megvizsgálni majmok grid reprezentációját különböző dimenziójú kontextusokban). Megjegyzendő, hogy rágsálók élőhelye is radikálisan eltérő dimenziójú tereket foglalhat magában (főleg az állat méretéhez képest, elég egy mezei egérre gondolni, ami a néhány centiméteres fészke és a több ezer négyzetméteres mező között ingázik táplálékkeresés közben), így a Jelölt magyarázata a grid periódus és a környezet dimenziói közötti korrelációra nem biztos, hogy teljesen megállja a helyét. *Tudna a Jelölt valamilyen alternatív magyarázatot adni a humán gridek rágsálókéhoz képest nagyobb változékonyságára? Ide tartozó kérdés, hogy nem térbeli entitások grid-szerű reprezentációjában vajon tetten érhető-e a rácsméretben regisztrált variabilitás, és ha igen, mi lehet az oka?* Nem tudok sajnos elmenni megjegyzés nélkül a szupplementumban bemutatott néhány neuron AP-jának furcsa alakja mellett: a Fig S10 B-, S11 C-, S19 B-, S20 B- és további paneleken láthatók közel 20 ms szélességű, elvileg egyedi neuron akós potenciálok. Ez egy nagyságrenddel nagyobb szélesség az extracellulárisan elvezetett AP-k szélességéhez képest. Mindezek kételyt ébresztenek bennem az alkalmazott spike sorting algoritmussal kapcsolatban. További példát hoznék a Fig. S28-ról: a B-panel a multiunit és a szeparált neuron waveform-jai közötti különbséget hivatott mutatni. Jól látszik, hogy a szeparált unit hullámformája két csúccsal bír, ami elég biztos jele annak, hogy két, különböző neuronhoz tartozó AP összezsúszott. Ilyen összeolvadt hullámformák elválasztása az extracelluláris AP-k elkülönítésének egyik jelentős kihívása. Ez is lehet a fő oka annak, hogy a MUA és az egyedi neuronhoz tartozóként klasszifikált jelek klaszterei jól elkülöníthetőek, de ebben az esetben csak a MUA és egy nem

megfelelően szeparált jelforma különbségéről lehet szó. *A spike sorting egyébként egy gyorsan, az elvezetési technikákkal párhuzamosan evolválódó terület, ezért érdekes lenne a cikk alapját jelentő adatokra ráereszteni egy újabb, és jelenleg az (egyik) legjobbnak tartott templát-egyezésen alapuló sortert (pl. Kilosort valamelyik verzióját), és megnézni, vajon mennyire változnak az eredmények.* Egyébként a második témába vágó cikk szupplementumában is szerepelnek példa AP-k, azonban ott mindegyik 1 ms-nál keskenyebb. Elvileg ugyanazokat az izolált unitokat használták mindkét cikkben, de a két cikk szupplementumát összevetve az elsőben jónéhány széles hullámformát mutatnak, míg a másodikban bemutatott jelek szélessége már jobban megfelel extracelluláris AP-k jelalakjának. A legegyszerűbb magyarázat, hogy az X-tengely felirat az első cikk példájánál nem jó. A másik lehetőség, hogy az adathalmazok nem egyeznek. *Kérdés, mi az oka a diszcrepanciának?* Sajnos az első cikk szupplementumában közölt grafikonok és felirataik nem kellő gondossággal lettek feliratozva / elrendezve (pl. X-tengely skála a Fig S18 F-panelen vagy a térbeli aktivitástérkép és autokorrelogram feliratai nem a megfelelő grafikonok alatt szerepelnek, a fontok mérete nem ugyanolyan).

A grid-témában csatolt második cikk az első adatait használva a grid-sejtek gammához viszonyított fázisainak térbeli eloszlását vizsgálja, és megállapítja, hogy a tüzelési aktivitáson túl az akciós potenciálok gamma-fázispreferenciája is térben periodikus eloszlást mutat. Mitöbb, a fázisgrid rácsávolsága a tüzelési aktivitásból számoltéhoz hasonlóan korrelál a környezet méretével. Végül pedig a virtuális alany pozícióját pontosabban lehetett becsülni a térbeli fáziseloszlás, mint a tüzelési aktivitás alapján. A cikk logikus kiterjesztése a korábbi grid-sejtekkel kapcsolatos eredményeknek, azonban néhány metodikai, illetve az eredményekkel kapcsolatos kérdés itt is felmerül. Az első, hogy a gammát stabilnak tekintik, de erre irodalmi hivatkozásokon kívül semmilyen bizonyítékot nem mutatnak. *Szükségesnek tartottam volna mind a gamma frekvenciájának, mind amplitúdójának stabilitását demonstrálni például kontextusváltásokhoz kapcsolódóan* (egyébként a Fig. 1 E-panelen elég komoly theta-fázisfüggő amplitúdómoduláció látszik). A gamma instant fázisának kiszámolásához a lassú gamma sávra koncentráltak. A hippocampusban a direkt entorhinális bemenethez a midgamma sáv kapcsolódik (Laura Colgin által fast gamma-nak hívott sáv), a dorzális hippocampus CA1 régiója és a mediális entorhinális kéreg között ebben a sávban szignifikáns koherencia detektálható. *Miért mégis a lassú gammához viszonyított fázispreferenciát számolták (a Fig. 1 D-panelen látszik egy béta és egy lassú gamma csúcs, a mid gamma sáv viszont le van vágva)? Az akciós potenciálok gammához viszonyított fázisának térbeli eloszlása mellett érdekes lenne látni a theta és a gamma amplitúdó és fáziseloszlását az elektróda griden, esetleg meghatározni a theta / gamma terjedésének irányát (bár a grid kicsi mérete ezt lehet, hogy nem tette volna lehetővé), jobban illusztrálандó a regisztrált gamma utazóhullám jellegét. További kérdés, hogy mennyire volt a gamma sebességfüggő?* A Jelölt a regisztrált neuronok fázisgrid mezőjén belüli konstans preferenciáját a gamma sebességfüggő frekvenciaváltozására vezeti vissza (a Jelölt szavaival: „...instead of aligning our path with an internal clock, our brain aligns the speed of the internal clock to our location. Assuming that gamma is that clock, the alignment of that clock can be achieved by the modulation of frequency, i.e., by speeding up or slowing down gamma.”), erre azonban semmilyen bizonyítékot nem szolgáltat. Megjegyzendő, hogy rágszálókban a magasabb frekvenciás gamma sebességfüggése szignifikánsabb, mint a lassú gammáé. *A fentieket figyelembe véve fontos lett volna meghatározni az avatar sebessége és a gamma frekvenciája / amplitúdója közötti korrelációt.* A Jelölt a térbeli fázistérkép kiszámolását jelentős innovációként mutatja be. Az újítás jelentőségét semmiképpen nem lekicsinyelve, de meg kell jegyezni, hogy már korábbi munkákban volt példa preferált fázis térbeli eloszlásának meghatározására (pl. Tingley and Buzsáki, 2018, Neuron). Mitöbb, a fázis és linearizált pozíció közötti korreláció (a.k.a. fázis precesszió) kvantifikálásának hosszú hagyománya van, ezt síkra kiterjeszteni véleményem szerint nem igényel konceptuális ugrást. Az eredményekben említi a Jelölt, hogy a fázisból és a tüzelési rátából számolt gridek nem mindig fednek át. *Az ábrákat nézve helyesebb lett volna azt írni, hogy inkább nem fednek át (van olyan eset is, amikor néhány*

mező átfed, a legtöbb azonban nem). Ez viszont azt is jelenti, hogy a fázisgridet aktivitásgrid mezőkön kívüli AP-k alkotják. Mivel a bemutatott neuronok aktivitása még a grid mezőben is alacsony, felmerül a kérdés, hogy mennyire lehet szignifikáns néhány fáziskapcsolt AP hatása, egyáltalán, statisztikailag mennyire szignifikáns egy mintázat, amit nagyon kevés esemény hoz létre? *Hogyan viszonyulhat ez a lassú gammához fáziskapcsolt EC-kimenet az impulzusszámot tekintve domináns, thetához és magasabb frekvenciájú gammához kapcsolt EC-kimenethez, ami az aktivitásgridben manifesztálódik?*

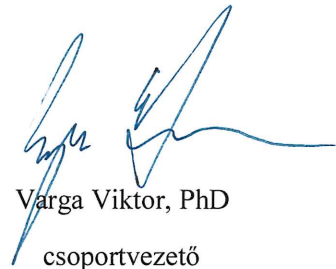
A dolgozat **utolsó fejezetében** a Jelölt összefoglalja a Disszertáció alapját képező cikkek fentebb is kifejtett főbb üzeneteit. Az ismertetett munkák alapján a Jelölt fő konklúziója saját megfogalmazásában:

„Based on these findings, a new view of neural dynamics is shaping up. According to this view, neurons and spikes are interchangeable entities of the neural code. At the same time, the local field of subthreshold oscillations (LFO) are the placeholders for information by modulating the spike probability. Information is still conveyed by action potentials, but the spatial-temporal granularity of information (i.e., which neuron fires and when) encoded by spikes (i.e., which neuron fires and when) is defined by the dynamics of the LFO.”

Eme megállapítást számos, a neuronális kód időbeli szerveződéséről szóló publikáció támogatja. Ennek ellenére arról sem lehet elfeledkezni, hogy az akciós potenciálok mezőpotenciálokhoz kapcsolt tüzelése csak egyik fontos komponense az agyi információfeldolgozásnak. Emellett más, nem periodikus mintázat, populációs jelenség, elektrofiziológiai módszerekkel nem is mérhető folyamat határozza meg / modulálja, hogy a külvilágból érkező ingermintázatokkal mi történik az agyi fekete dobozban.

A bírálatban megfogalmazott hiányosságok ellenére javaslom az MTA doktora cím odaítélését Dr. Nádasy Zoltánnak.

Budapest, 2025. 01. 17.



Varga Viktor, PhD
csoportvezető

Kéreg Alatti Moduláció Kutatócsoport
HUN-REN KOKI