

**A mediális prefrontális kéreg szerepe az auditoros  
szenzoros-motoros kapuzó mechanizmusban**

**Doktori (PhD) értekezés**

**Tóth Attila**

**PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM**

**ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR**

**Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola**

**Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Szekeres Júlia**

**Programvezető: Prof. Dr. Karádi Zoltán**

**Témavezető: Prof. Dr. Szabó Imre**

**Prof. Dr. Lénárd László**

**Pécs, 2019**

# Tartalomjegyzék:

<b>1. Rövidítések</b>	<b>4</b>
<b>2. Bevezetés</b>	<b>6</b>
<b>2.1. Irodalmi áttekintés</b>	<b>10</b>
<b>2.1.1. A megrezzenési reakció</b>	<b>10</b>
<b>2.1.1.1. Az akusztikus megrezzenési reakció (ASR)</b>	<b>10</b>
<b>2.1.1.2. Az ASR-ben részt vevő neurális körök</b>	<b>13</b>
<b>2.1.1.3. Az ASR-ben részt vevő neurotranszmitter rendszerek</b>	<b>19</b>
<b>2.1.2. Az Akusztikus Startle Reakció módosított változata</b>	<b>20</b>
<b>2.1.2.1. Prepulzív gátlás (PPI)</b>	<b>20</b>
<b>2.1.2.2. A PPI csökkenés neuropszichológiai jelentősége és a csökkenés lehetséges neurofarmakológiai hátterei</b>	<b>21</b>
<b>2.1.3. A mediális prefrontális kéreg szerepe PPI során</b>	<b>25</b>
<b>2.1.4. Mediális Prefrontális Kéreg (mPFC) funkcionális szerepe a szenzoros-motoros gátlásban</b>	<b>28</b>
<b>2.1.5. A sokcsatornás idegsejtaktivitás regisztrálásának elméleti háttere</b>	<b>31</b>
<b>2.1.5.1. Tetród technika</b>	<b>32</b>
<b>3. Probléma felvetés</b>	<b>36</b>
<b>3.1. Célkitűzések</b>	<b>36</b>
<b>4. Módszerek</b>	<b>38</b>
<b>5. Módszertani eredmények (technikai fejlesztések)</b>	<b>41</b>
<b>5.1. PCB mikrodrive</b>	<b>41</b>
<b>5.1.1. PCB mikrodrive-al kapcsolatos előzmények</b>	<b>41</b>
<b>5.1.2. Anyagok és módszerek</b>	<b>42</b>
<b>5.1.3. Módszertani eredmény diszkussziója</b>	<b>53</b>

<b>6.</b>	<b>3D fejjgyorsulásmérő eszköz</b>	<b>58</b>
<b>7.</b>	<b>Elektrofiziológiai eredmények</b>	<b>63</b>
<b>7.1.</b>	<b>Anyagok és módszerek</b>	<b>63</b>
<b>7.1.1.</b>	<b>Kísérletben felhasznált állatok</b>	<b>63</b>
<b>7.1.2.</b>	<b>Elektróda beültetés</b>	<b>64</b>
<b>7.1.3.</b>	<b>Magatartási vizsgálatok és felszerelések</b>	<b>64</b>
<b>7.1.4.</b>	<b>Adatelemzés</b>	<b>67</b>
<b>7.1.5.</b>	<b>Szövettani értékelés</b>	<b>70</b>
<b>7.2.</b>	<b>Elektrofiziológiai mérési eredmények</b>	<b>71</b>
<b>7.2.1.</b>	<b>Szövettan</b>	<b>71</b>
<b>7.2.2.</b>	<b>Fejjgyorsulás mérés startle és PPI alatt</b>	<b>72</b>
<b>7.2.3.</b>	<b>Idegsejt válaszok</b>	<b>73</b>
<b>7.2.3.1.</b>	<b>Rövid válasz időtartamú sejtek</b>	<b>75</b>
<b>7.2.3.2.</b>	<b>Közepes válasz időtartamú sejtek</b>	<b>77</b>
<b>7.2.3.3.</b>	<b>Hosszú válasz időtartamú sejtek</b>	<b>78</b>
<b>7.3.</b>	<b>Elektrofiziológiai eredmények diszkussziója</b>	<b>81</b>
	<b>Konklúzió</b>	<b>89</b>
	<b>Publikációs jegyzék</b>	<b>91</b>
	<b>Bibliográfia</b>	<b>98</b>
	<b>Köszönetnyilvánítás</b>	<b>107</b>

# 1. Rövidítések

5HT – Szerotonin

6-OHDA – 6-hidroxi-Dopamin

ACh – Acetilolin

ADD – Attention Deficit Disorder/figyelemhiány zavar

ASR – Akusztikus Startle Reakció

BRGC - pontobulbaris formatio reticularis nucleus gigantocellularis

BZD – benzodiazepin

CCK – Cholecystokinin

CT – Computer Tomography/komputer tomográfia

DA – Dopamin

DZ - diazepam

EMG – elektromiogramm

EP – Evoked Potential/kiváltott potenciál

ERP – Evoked Response Potential/kiváltott válasz potenciál

ESK – elsődleges startle kör

FLM - fasciculus longitudinalis medialis

fMRI – functional Magnetic Resonance Imaging/funkcionális mágneses rezonancia imaging

GABA – Gamma amino-vajsav

GLU – Glutamát

GVI - gerincvelői interneuronok

LFP – Local Field Potential/lokális mező potenciál

MBRF – medialis formatio bulboreticularis

MLR – mesencephalicus lokomotoros régió

mPFC – mediális Prefrontális kéreg

MT - motoros egység

NAC – Nucleus Accumbens

NMDA – N-metil-D-Aszparaginsav

NRGC – nucleus reticularis gigantocellularis

NRPC - nucleus reticularis pontis caudalis  
NRPC – nucleus reticularis pontis caudalis  
NVLL – nucleus ventralis lemniscus lateralis  
OBF – Orbitofrontalis kéreg  
OCD – Obsessive Compulsive Disorder/kényszerbetegség  
OSK - oliva superior komplex  
PCB – Printed Board Circuit/nyomtatott áramkör  
PET – Pozitron Emission Tomography/pozitron emissziós tomográfia  
PFC – Prefrontális kéreg  
PPI – Prepulzív Inhibíció  
PPTg – nucleus pedunculopontis tegmentalis  
RF – formatio reticularis  
RS – reticularis sejtek/neuronok  
SMK – spinális/gerincvelői motor központ  
SPL – Sound Pressure Level/hangnyomás  
VCN – nucleus ventralis cochlearis  
VLL – lemniscus ventrolateralis  
VTA – Ventralis Tegmentalis Area

## 2. Bevezetés

*„Az ember agyát nem azért alakította ki a természet, hogy az igazságot keresse, hanem azért, hogy élelem, biztonság és hasonló dolgok után kutasson, hogy felismerje az előnyös helyzeteket, hogy nap, mint nap segítse az embert az életben maradásban. Az agy a túlélés szerve.” Szent-Györgyi Albert*

*„Dolgok teremődnek körülünk, nem tudni, honnan. Belépnek valamely kapun, amelyet nem látott senki. Az ember, együtt és külön-külön, a tudásból csak az ismert részt becsüli. Nem tudja, hogyan szerezhet ismeretet az Ismeretlen révén. Nem fonák dolog ez?” Csuang-Ce*

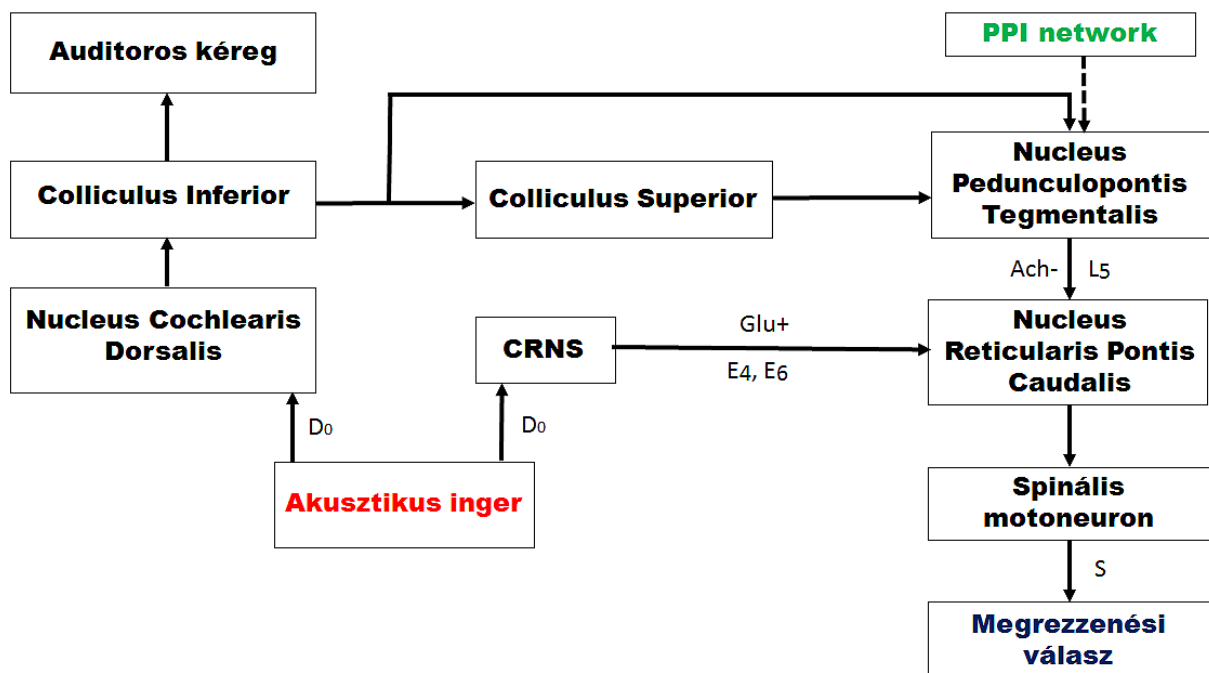
A központi idegrendszer korlátozott információfeldolgozási kapacitása szükségessé teszi, hogy megakadályozza a magatartás szempontjából irreleváns ingerek belépését a magasabb idegrendszeri központokba. Ennek elérésére számos mechanizmus alakult ki, melyek külön-külön és közösen is hatékonyan szelektálják a bejövő információ mennyiségét. A szenzoros-motoros kapuzó mechanizmusok az agy jelfeldolgozó mechanizmusának alapvető komponensei, melyek szükségesek az egyén szempontjából fontos ingerek kiválasztásához. A megszürt információk elvezetnek a szervezett viselkedési folyamat kialakításához (Graham et al., 1975) (Blumenthal et al., 1996) (Swerdlow et al., 2000) (Fendt et al., 2001). Ennek a folyamatnak a kísérletes szempontból történő vizsgálatával kapcsolatban, talán a legnagyobb relevanciával a megrezzenési reakció (startle reakció) és annak módosított változata, a prepulzív gátlás (PPI) bír.

Modalitás szempontjából, bármilyen erős szenzoros inger képes kiváltani megrezzenési választ. (Humán vizsgálatok során előszeretettel alkalmazott forma az akusztikus- mellett, a taktilisinger (air-puff) alkalmazása.) A leginkább kutatott, és legtöbb eredményt szolgáltató megrezzenési forma az akusztikus inger által kiváltott reakció. Az akusztikus megrezzenési (startle) reflex és ennek módosított változata a prepulzív gátlás számos neuropszichiátriai betegségben eltéréseket mutat [skizofrénia, skizotíp személyiségzavar (schizotypal personality disorder), Huntigton-kór, kényszerbetegség (obsessive compulsive disorder, OCD), Tourette-szindróma, figyelemdeficit szindróma (FDD, attention deficit disorder, ADD)] [(Swerdlow and Geyer, 1998)]. Az előbb felsorolt betegségek közös nevezője, hogy a beérkező szenzoros információk szűrésének csökkenése következményeként megváltozik az arra adott motoros és ezzel együtt a kognitív válasz.

A szenzoros-motoros kapuzási deficit vizsgálatára számos metodikát alakítottak ki. Azonban az irodalom áttekintése alapján úgy véljük, hogy a gátlás hiányának háttérben álló idegrendszeri elváltozások vizsgálatához a legpontosabb eredményeket a prepulzív inhibíció (PPI) szolgáltathatja.

A kapuzó (gating) mechanizmus hibás működése hozzájárulhat a szenzoros túltöltöttséghez vagy flooding kialakulásához, amely végül kognitív fragmentációt, gondolati, észlelési zavarokat (thought disorder) és egyéb pszichotikus szimptomákat eredményezhet [(Braff and Geyer, 1990); (Geyer et al., 1990); (Braff et al., 2001a)].

A megrezzenési reakció egy rendkívül gyors, reflexszerű reakció, mely arra utal, hogy csak néhány idegsejt közötti kapcsolat hozza létre a jellegzetes választ (1. ábra).



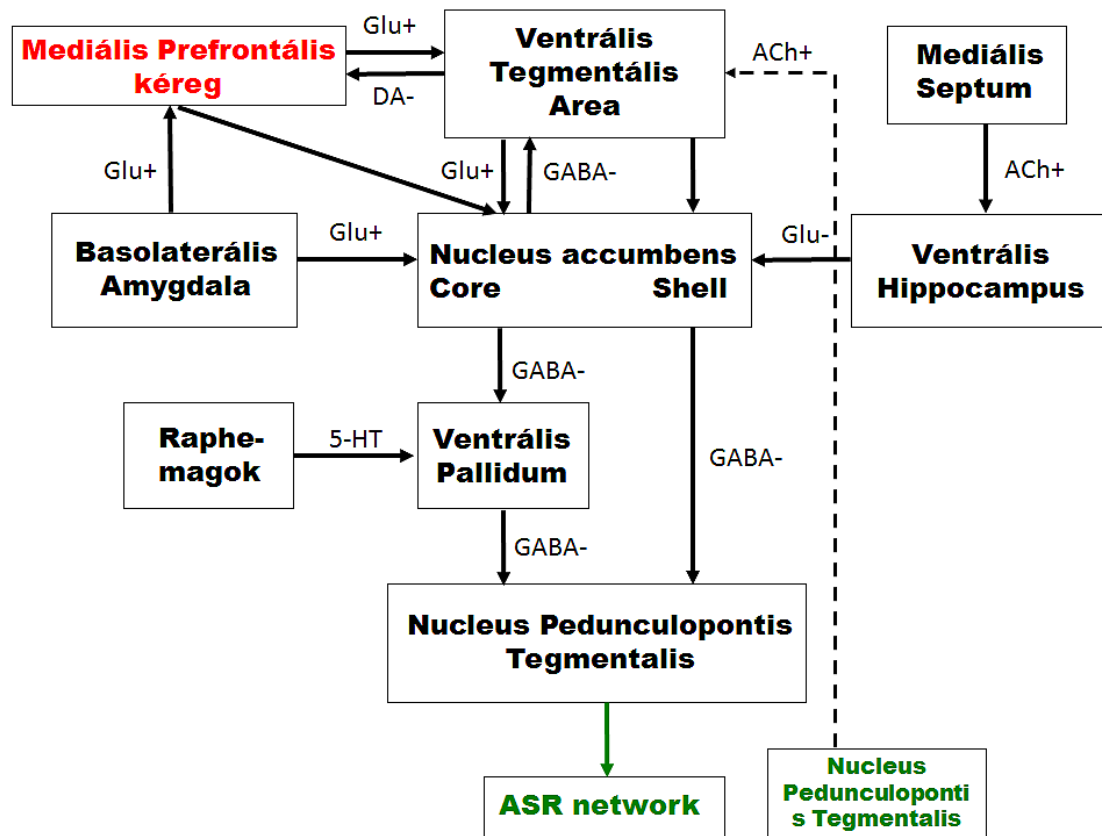
1. ábra

*Hipotetikus akusztikus startle hálózat Schmajuk és Larauri nyomán (Schmajuk and Larrauri, 2005). Az akusztikus startle hálózatban résztvevő agyi régiók és neurotranszmitterek: Glu-glutamát; ACh-acetilkinolin; DA-dopamin; 5-HT-szerotonin;  $D_0$  zaj intenzitás dB-ben;  $E_4$ ,  $E_6$ - excitátoros szignál;  $L_5$ - inhibitoros szignál;  $S$ - startle válasz*

Azonban az egyszerű elsődleges felépítés mellett, egymásra épülő mechanizmusok hozzákapcsolódását is megfigyelhetjük a megfelelő reakció kialakításakor. Ilyen például a figyelem, a tanulás és más kognitív folyamatok, melyek mindegyikénél a Prefrontális Kéreg döntő fontosságú.

A prepulzív gátlás már önmagában is roppant összetett folyamat, amelyben szintén szerepet játszanak kérgi területek, elsősorban a Prefrontális Kéreg, mely fontos szabályozó feladatot lát el a folyamatban (2. ábra).





2. ábra

*Hipotetikus PPI hálózat Schmajuk és Larauri nyomán (Schmajuk and Larrauri, 2005). A PPI-ben résztvevő agyi régiók és neurotranszmitterek: Glu-glutamát; ACh-acetilkin; DA-dopamin; 5-HT-szerotonin; GABA- gamma amino-vajsav*

Erre utalnak a terület lézióját követő PPI változást eredményező kísérletek [(Koch and Bubser, 1994); (Japha and Koch, 1999); (Schwabe et al., 2004, Schwabe and Koch, 2004)].

A Prefrontális Kéreg rendkívül komplex felépítése és ebből származó szerepe, valamint a megrezzenési reakció alatti igen gyors fejmozgás, mely jelentős mozgási artefaktot okoz a regisztrálás során, komoly akadályt gördít az elé, hogy elektrofiziológiai módszerekkel megfigyelhetővé váljon az itt található idegsejtek működése, megrezzenési startle response és annak módosított változata, a PPI alatt. Vizsgálataink végrehajtása során arra törekedtünk, hogy ennek az

agyterületnek, a mediális prefrontális kéregnek a neuronális változásait regisztráljuk és analizáljuk.

## **2.1 Irodalmi áttekintés**

### **2.1.1.1.1 A megrezzenési reakció**

A startle vagy megrezzenési reakció egy hirtelen fellépő erős inger által kiváltott védekező reakció. Kiváltható akusztikus, taktilis vagy vizuális ingerrel, emberben és állatban egyaránt [(Landis and Hunt, 1937)]. A válaszmintázatban elsőként a szemhéj csukódik be, az arc-, nyak- és testizomzat megrándul, és a teljes test megrövidül, különösen a hátsó nyaki régió. Ugyanakkor, a szívfrekvencia megnő és az éppen folyamatban lévő magatartás megszakad. Ez a válaszmintázat a startle protektív funkcióját sugallja a sérüléssel, predátorral és a sokkal szemben, ami egyben felkészíti az organizmust a vészreakcióra (fight or flight) adott adekvát válaszra. Annak ellenére, hogy roppant egyszerű reflexről van szó, a megrezzenés mértékét erősen befolyásolják külső és belső jellemzők. Így azt mondhatjuk, hogy a megfelelő vizsgálati módszer alkalmazásával, a startle non-zéró alapvonallal rendelkezik, ami növekedhet, illetve csökkenhet. Ezért értékes viselkedési mérőeszközként szolgálhat a szenzoros-motoros válasz plaszticitásának vizsgálatához.

### **2.1.1.1.2 Az akusztikus megrezzenési reakció**

Az akusztikus startle választ (acoustic startle response, ASR) egy 80 dB-nél nagyobb hangnyomású (SPL), hirtelen felfutású inger képes kiváltani [(Davis and Ferraro, 1984); (Pilz et al., 1987)]. Annak ellenére, hogy a startle reakció egy viszonylag egyszerű reflexszerű működés, hasznos eszközként szolgál a szenzoros-motoros válasz plaszticitás mechanizmusának vizsgálatához. Koch és

Ebert [(Koch and Ebert, 1998)], a megrezzenési reakció neurobiológiai hátterének vizsgálatához az akusztikus inger által kiváltott válaszra (ASR) fókuszált, amit elsősorban emlősökön, azon belül is főként patkányon, egéren, macskán és emberen vizsgáltak. Az ASR patkányban és emberen azonos stimulus paraméterek mellett váltható ki és azonos válaszmintázatot generál. Az állatkísérletekben kapott eredmények ezért kiterjeszthetők emberre. Az állatokon végzett vizsgálatok, melyek az ASR neuronális mechanizmusaira és különböző plaszticitási formáira vonatkoznak, segíthetik a humán szenzoros-motoros integráció megértését. Ennek a jelenségnek a jelentőségét az adja, hogy a csökkent startle reaktivitás patkányban olyan funkcióromlásra utal, amely humán vizsgálatok során skizofrén betegeknél volt megfigyelhető. Ez a válaszcökkenés elsősorban figyelmi és szenzoros-motoros kapuzási deficitben nyilvánult meg [(McGhie and Chapman, 1961); (Braff and Geyer, 1990); (Geyer et al., 1990); (Braff et al., 2001b)].

Az ASR a magatartási plaszticitás számos formáját mutatja. Kialakulása a hallás kifejlődése után azonnal, a posztnatális 12. naptól megjelenik patkányban. Az ASR nagyságára és latenciájára az inger intenzitása [(Pilz et al., 1987); (Pilz et al., 1988)], valamint a stimulusok közti intervallumok hossza [(Davis, 1970)], a folyamatban lévő cselekvés [(Wecker and Ison, 1986); (Plappert et al., 1993)] és az egyéni különbségek vannak hatással. A diurnális ritmus, szenzoros környezet (háttérzaj, prepulse) és drogok tovább módosíthatják a válasz mértékét. Az ASR változtatható az élőlény perceptuális vagy emocionális állapotában beálló eltérésekkel is. Az ASR válasz növekedik kondicionált vagy nem kondicionált averzió során. Ezzel szemben csökkenthető a megrezzenést kiváltó inger többszöri megismétlésével vagy egy, a startle választ kiváltó stimulust megelőző, úgy nevezett figyelmeztető, más néven prepulse inger alkalmazásával. A latencia vagy más pozitív facilitáló hatások további válasznövekedést okozhatnak. Az ASR válaszbán bekövetkezett növekedés kiváltható szisztémás vagy

intracerebrális drogbeadással, amit széles körben alkalmaznak a szenzoros-motoros reaktivitás meghatározására, mind állatoknál, mind emberben. Röviden, szorongásoldó drogok, mint a yohimbine és azon drogok, amelyek csökkentik a központi idegrendszer gátló neurotranszmisszióját, mint a glicin receptor antagonistá strichnin, növelik az ASR-t, míg azon farmakonok, amelyek csökkentik a központi idegrendszer ingerlékenységét, mint az etanol vagy a diazepam, csökkentik az ASR mértékét. A legtöbb szorongásoldó csak a félelmi- vagy a szorongás kiváltotta ASR-t redukálja és nincs hatással az ASR alapvonalára. Az előzőkben bemutatott szenzoros receptorok és a motoros effektor rendszer közötti információ áramlás, ami vagy serkentés vagy inhibíció, módosítják az akusztikus megrezzenési válasz mértékét. Ezért az ASR-t közvetítő pályák ismerete előfeltétele az ASR módosítás megértésének.

Az emlősökben az ASR egy alapvető készenléti reakció a rövid, hangos, hirtelen bekövetkező hangingerre. Ez a reflex a testen végigvonuló, a szkeletális izmok rapid, fázikus kontrakcióját eredményezi.

A reflex 2 nagyobb komponensből áll:

- a. Elsődleges, korai válasz, rendkívül rövid latenciával. E korai komponens egységei a következő sorrendben jelentkeznek:

1. pinna reflex (fül flexio)
2. arc- és fejizom kontrakció 5-6 ms
3. elülső végtag kontrakció 6-7 ms
4. hátulsó végtag kontrakció 8-9 ms

[1-2 fej ASR]

[3-4 test ASR]

- b. Késői, oldódási válasz (megfagyás, orientáció) 15 ms.

Az ASR azonban nem korlátozódik csak az emlősökre. Rovaroknál negatív fonotaktikus választ figyeltek meg bizonyos ultrahang frekvenciára. Ez a válasz rövid latenciájú, sztereotíp, minden vagy semmi jellegű volt. Ebből látszik, hogy

az ASR nemcsak az emlősökben, hanem más fajokban is túléléssel kapcsolatos jelentőséggel bír.

### **2.1.1.1.3 Az ASR-ben részt vevő neurális körök**

A reflex elsődleges komponensének rövid latenciája azt sugallja, hogy ezt a reflexet csak kevés szinapszissal rendelkező neurális kör hozza létre.

Davis [(Davis et al., 1982)] meghatározta az úgynevezett elsődleges startle kört (ESK). A szenzoros információ először a nucleus ventrális cochleárist éri el (VCN), majd onnan a nucleus ventrális laterális lemniscusba jut (NVLL), innen a nucleus reticuláris pontis caudálist éri el (NRPC) és végül a spinális motoros központba (SMK) fut be az információ.

A formáció reticuláris több szenzoros modalitásból kap bemenetet. Belőle származnak a gerincvelőbe lefutó hosszabb projekciók. Ezek a rostok azonban gátló hatást fejtenek ki a gerincvelő motoneuronjaira. A lézió, ami magába foglalja az NRPC-t, hiperaktivitást okoz. Azonban az NRPC léziója csökkenti a válaszképességet az ASR stimulusra [(Leitner et al., 1980)]. Ezekből következik, hogy az ASR és az általános aktivitás bizonyos aspektusai között disszociáció van. Wu és munkatársai [(Wu et al., 1988)] megvizsgálták a reticuláris neuronok válaszmintázatát és anatómiai megoszlását az ASR ingerre nézve. Rövid latenciájú válasszal rendelkező sejtek a mediális pontomedulláris agytörzs nagy részében helyezkedtek el az NRPC-től NRGK-ig (nucleus reticuláris gigantocelluláris). Ezen egységek válasz latenciája átlag 12.1 ms volt (3-52 ms). A vizsgált sejtek 75%-a 19 ms-nál kevesebb latenciával válaszolt. A sejtek 66%-a összefüggést mutatott az axiális mozgásokkal (fej, nyak). Továbbá, az ASR-rel összefüggő egységek, a többszörösen összetett faciális mozgásokra, vizuális, szomatoszenzoros stimulációra, végtag mozgásokra, fej-nyak mozgásra, szájmozgásra is neuronális választ mutattak. Azonban, ezen sejtek egyike sem függött össze az egyszerű faciális, szem, illetve nyelvmozgásokkal.

Tónusosan aktív, axiális mozgásokkal összefüggő sejtek válasza függött az állat testhelyzetétől az ingerlés alatt. A vizsgálat során 4 tónusosan aktív sejtet figyeltek meg, melyek maximális fenntartott tüzelést mutattak ipsilaterális mozgásnál. Az egységek válaszai 40-60 százalékkal voltak redukáltabbak kontralaterális testhelyzetben. Az auditoros RS neuronok átlagos vezetési sebessége 117.3+7.3 m/s volt. Nem válaszoló RS sejteknél a vezetési sebesség 87 m/s volt.

Yeomans és munkatársai [(Yeomans et al., 1989)] kimutatták, hogy nagyon rövid refrakter periódusú axonok közvetítik az ASR-t az RS-ben, míg a VCN-ben és a VLL-ben hosszabb periódusú axonok közvetítik. Ebert és Ostwald (Ebert and Ostwald, 1991) leírták az ASR-rel összefüggő kiváltott válasz (ERP) változását patkány közepagi régióban. Ez a potenciál a nucleus pedunculopontis tegmentalis (PPTg) által generált. A PPTg az elektrofiziológiailag determinált mesencephalicus lokomotoros régióban (MLR) fekszik. A PPTg és a rostralisán elhelyezkedő RS reciprok összeköttetésben van az extrapiramidális rendszer diencephalicus struktúráival. A corticálisan kiváltott izommozgások gátlása következik be, ha a PPTg stimuláljuk. Így az ASR alatti MLR aktivációja a folyamatban lévő motoros program gátlását vagy módosítását eredményezheti. Egyes kutatók véleménye szerint az ASR biológiai előnye éppen ez, megszakítani az éppen folyó motoros programot. A „biológiai relé” segítségével az állat képes lesz válaszolni a hirtelen jelentkező averzív ingerre, amilyen gyorsan csak lehet.

Az MLR azonban, mint azt később látni fogjuk, szerepet kap a prepulzív gátlásban is.

Ebert és Ostwald publikációjukban azt is felvetik, hogy az ASR által generált kiváltott válasz, a szimultán elvezett elektromiogramm (EMG) kései komponensével egyidőben jelenik meg. Ez a késői válasz jól tükrözheti a közepagi aktivációt. Ezen MLR area léziója nem szünteti meg az ASR-t. Az ASR korrelált potenciál tulajdonsága későn jelenik meg, ahhoz, hogy kifejezze az

elsődleges ASR körök aktivációját. A szerzők a Davis által feltételezett elsődleges ASR körök meglétét is megkérdőjelezzik, mivel nem találtak anatómiai bizonyítékot arra, hogy létezne a lemniscus ventrolateralis-ból (VLL) az NRPC-be történő projekció. Ezzel szemben, a cochlearis magvakból bemenetet kapnak a pontin magvak, valamint a nucleus ventrális laterális tegmentális (NVLL). Ezek a szubkortikális területek információt szolgáltatnak a faciális és a trigeminális magoknak. Azonban, a vizsgálataik során, nem tudták a meglévő technikai eszközeikkel az elsődleges ASR pályák szenzoros-motoros átkapcsoló régióját meghatározni. Ennek az eredménytelenségnek a háttérében esetleg még az állhatott, hogy nem csak egy pályarendszer vezeti az auditoros információkat a középgagyból a motoros magvakba.

Az nucleus reticularis pontis caudalis (NRPC), valamint a trigeminális neuronok, közvetlenül kapnak auditoros bemenetet a cochlearis magból és az oliva superiorból.

Ha mindezek az utak együtt és külön-külön is aktiválódnak az ASR alatt, akkor felmerül a kérdés, hogy melyik az a specifikus szenzoros-motoros átkapcsoló mag, amely az elsődleges válasz kezdetére érzékeny? A középgagy alapvető fontosságú az ASR kialakításában, azonban az agytörzsi formatio reticularis (RF), amely a teljes hálózat legrostrálisabb része, szinergista módon működik. Az ASR-t azáltal váltja ki, hogy összegzi az excitátoros bemeneteket a premotoros és a motoros magvakban.

Mindezek a vizsgálatok elsősorban a teljes test-ASR-re vonatkoznak.

Cassella és munkatársa [(Cassella and Davis, 1986)] felvetették azt a problémát, hogy a test-ASR motoros neuron aktivitásválaszai, valamint a spinális interneuronok kisülései egy-sejt technikával nehezen vizsgálhatók. Egyszerűbb anatómiai struktúrát kerestek emiatt, és a fül pinna reflexét vizsgálták meg. Anatómiai vizsgálatok szerint, a külső fül mozgást a faciális motoros magok mediális része hozza létre, amely összeköttetésben áll a paralemniscális zónával,

az pedig a lemniscus ventrolateralis-al (VLL). Gerincevelő átvágott (T2), éber állat pinna reflexe a teljes test ASR kapcsán megfigyelhető tulajdonságokat mutatta, mint a habituáció, érzékenyítés, prepulzív gátlás, félelem kondicionálás, intenzitás függés. Emiatt Cassella és Davis egy-sejt aktivitás regisztrálására alkalmasabbnak találták a faciális neuronokból történő elvezetéseket, mivel ezek az idegsejtek rövid latenciával válaszoltak az ASR stimulusokra (kevesebb, mint 6 ms). Arra a következtetésre jutottak az így kapott eredményekből, hogy egy egyszerű neurális kör közvetíti az általuk megfigyelt választ, ami a nucleus ventralis cochlearis-ból, a paralemniscalis zona idegsejtjeiből és a faciális motoros neuronokból áll.

Pellet [(Pellet, 1990)] megpróbálta definiálni a fej ASR reticuláris központjában az információ átvitelének lehetséges helyeit. Az ASR-t indukáló stimulusra rövid latenciával válaszoló sejteket a nucleus reticularis pontis caudalis-on kívül a pontobulbaris formatio reticuláris nucleus gigantocellulárisában (BRGC) találta meg macskában. Pellet miután újra megvizsgálta BRGC lehetséges szinaptikus relay szerepét az elsődleges ASR-ben, a következő megállapításokra jutott:

### ***1. Fej ASR szenzoros része:***

A nucleus ventralis cochlearis nagyon rövid latenciájú „on” sejtjei esszenciálisak az ASR közvetítésében.

### ***2. A fej ASR motoros része:***

MBRF-FLM (medialis formatio bulboreticularis - fasciculus longitudinalis medialis) régió auditoros bemenetet kap, ami miatt az ASR ingerre a BRGC sejtek fázikus kisülést produkálnak. Pellet vizsgálatai eredményei alapján a következő megállapításokat teszi: ha a BRGC-ben egy klikk által kiváltott potenciál átlagos 3.5 ms latenciájához hozzáadjuk az elektromosan kiváltott startle 2.1 ms latenciáját, akkor 5.6 ms-t kapunk, ami megfelel a fej ASR latenciájának. Továbbá megfigyelte, hogy a BRGC léziója megszünteti az ASR-t. Davis ezzel szemben



azt tapasztalta, hogy a BRGC léziója nem szünteti meg a test ASR-t. Valószínű, hogy a testre helyezett gyorsulásmérővel történő mérések csak a test ASR-t tudják pontosan mérni, így a fej gyors mozgását nem jelzik megbízhatóan. További munkák szükségesek ahhoz (neurotoxikus lézió, stb.), hogy egyértelműen bebizonyíthassák, hogy a BRGC alkalmas és szükséges átkapcsoló mag a fej ASR kialakításában. Az eredmények alapján feltételezhető, hogy az elsődleges szinapszis a nucleus ventralis cochlearis-ban található, míg az ASR válasz premotoros része, amit „fej” ASR-ként is nevezhetünk, a pontobulbaris formatio reticularis nucleus gigantocellularis neuronjai idéznek elő.

Pellet megvizsgálta, vajon mi lehet a másodlagos szinapszis a két régió között. Oliva superior komplex (OSK): Anatómiailag jól meghatározható, hogy az OSK neuronok a faciális magvakba adnak bemenetet. Így szerepe lehet a pinna reflex kiváltásában is. Azonban, ennek a régióknak az elektromos ingerlése nem váltott ki fej ASR-t. Továbbá, annak nem találták anatómiai bizonyítékát, hogy az OSK közvetlen inputot biztosítana a formatio reticularis-ba.

Nucleus ventralis lemniscus lateralis (NVLL): Direkt összeköttetés mutatható ki a VCN neuronokkal. NVLL ingerlését követően 2.8 ms latenciával alakítja ki a fej ASR-t. Klikkre adott kiváltott potenciál latenciája VCN:1.4 ms; NVLL: 2.3 ms; BRGC: 3.2 ms. Elektromosan kiváltott startle latenciája NVLL-ből 2.8 ms a BRGC-ből 2.1 ms. Az így kapott 0.7 ms különbség megfelel a 0.6 ms-nak, a BRGC-NVLL neuronjai közötti szinaptikus transzmissziós késéssel. Mindezek az eredmények jelzik a NVLL-BRGC összeköttetést. Anatómiailag azonban ezt nem sikerült meghatározni.

Alternatív megoldás: A preoliváris régióban, ahova az NVLL idegsejtek bementet képeznek, a reticuláris sejtekről kimutatták, hogy összeköttetéssel rendelkeznek a gerincvelő motoros neuronjaival.

Nucleus Reticularis Pontis Caudalis (NRPC): Klasszikus, harmadik szinaptikus átkapcsoló magként van szerepe, figyelembe véve az elsődleges feladatát ASR-

ben. Elektrofiziológiai adatok nem támasztják alá, hogy a NRPC az elsődleges relay lenne a fej ASR során a NVLL és a BRGC között. Emiatt az is feltételezhető, hogy a NRPC és a BRGC az akusztikus startle válasz különböző komponenseinek a kialakításában vesz részt.

Lehetséges párhuzamos körök:

1. nucleus ventralis cochlearis - nucleus ventralis lemniscus lateralis - pontobulbaris formatio reticularis nucleus gigantocellularis- gerincvelői interneuronok - motoros egység (1. ábra)
2. nucleus ventralis cochlearis - nucleus reticularis pontis caudalis - gerincvelői interneuronok - motoros egység (1. ábra)
3. nucleus ventralis cochlearis - nucleus reticularis pontis caudalis- fasciculus longitudinalis medialis- gerincvelői interneuronok - motoros egység (1. ábra)

Rosen és Davis [(Rosen and Davis, 1988)] vizsgálták az amygdala ingerlés szerepét az ASR időbeli karakterisztikájának megnövekedésére. Előzetes munkáikban már bebizonyították, hogy az amygdala centrális magjának elektromos ingerlése megnöveli az ASR-t. Ez a facilitáció a félelem által potenciózott ASR-re hasonlított. Az ASR ingerlés előtt 5 milisecundummal adott amygdala stimuláció növeli az ASR-t. Ennek hátterében a rövid tranzit idő állhat, amíg az inger az amygdalából az elsődleges startle körökbe jut. Valószínűleg ez a idegrendszeri kör csak 1-2 szinapszist tartalmazhat. Az ASR megnövekedése akkor volt konzisztensen nagy, ha az ingerlés 1.25 ms-mal előzte meg az ASR stimulust. 2.5-5 ms intervallum változó megnövekedést mutatott. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy az amygdala ASR-t fokozó hatása rövid időtartamú. A stimuláció hatása függhet az állat viselkedésétől és az inger prezentációjának tartamától. Az amygdala ASR-re adott válaszána mértéke akkor vált maximálissá, amikor az ingerlés kezdési időpontja egybe esett a 20 ms

hosszúságú, „burst” típusú zaj kezdetével illetve, ha az ingerlést megelőzte 2.5 ms-mal egy megrezzenést nem kiváltó hanginger, úgynevezett „klikk” (0.1 ms időtartamú). Ebből az is kiderül, hogy az amygdala ingerlés nemcsak az elsődleges ASR köröket, hanem a késői komponenseket is befolyásolja. A megnövekedett ASR intenzitás a magas amplitúdójú késői és a korai válasz kombinációja lehet. Yunger és Harvey 1973-ban közölt kísérleteiből kiderül, hogy a mediális előagyi köteg lézió nem volt hatással az ASR-re, míg ennek a régióknak a léziója patkányokban fokozta az ASR mértékét, ha előtte láb shock-kot alkalmaztak [(Yunger and Harvey, 1973)].

#### **2.1.1.1.4 Az ASR-ben részt vevő neurotranszmitter rendszerek**

Kellogg és kollégái [(Kellogg et al., 1983)] kísérletében, a zaj potenciálta ASR-t a diazepam (DZ) csökkentette. Ennek a hatásnak a mértéke csökkent, ha az állatoknak benzodiazepin (BZD) receptor antagonistát adtak (RO15-1788) a DZ adás előtt. A DZ nemcsak zaj, hanem félelem, továbbá sötétség potenciózást jelent, amely az ASR-re is csökkentő hatással van. Feltételezhető, hogy mind a három tünet a BZD-GABA receptor komplexekre hat.

Ebert és Koch [(Ebert and Koch, 1992)] megvizsgálta a glutamát receptorok szerepét az akusztikus input közvetítésében az agytörzs reticuláris részében. Akusztikus kiváltott aktivitás megnövekedett a pontin formatio reticulárisában, glutamát adása után, ezzel szemben csökkent glutamát receptor blokkolását követően. Komplet gátlás csak néhány neuronon volt megfigyelhető.

Krase és munkatársai [(Krase et al., 1993)] kimutatták, hogy glutamát antagonisták redukálják az ASR-t.

## **2.1.2 Az Akusztikus Startle Reakció módosított változata**

### **2.1.2.1 Prepulzív gátlás (PPI)**

Az ASR válasz nagyságát lecsökkentheti a megrezzenést kiváltó inger előtt 30-500 msec-mal alkalmazott, megrezzenést nem kiváltó stimulus (Hoffman and Ison, 1980). Ezt a jelenséget prepulzív gátlásnak [prepulse inhibíció-nak (PPI)] nevezzük, melyet a szenzoros-motoros gátló-kapuzó mechanizmus működés fokmérőjeként használnak [(Hoffman and Ison, 1980)].

A kísérletek során a zavaró zajok elnyomása érdekében 50-70 dB erősségű háttérzajt alkalmaznak, amely azonban a startle amplitúdó nagyságát jelentősen megnöveli [(Hoffman and Wible, 1969)]. A megrezzenési válasz nagysága két fő jellemző paramétertől függ: (1) a prepulzív inger intenzitásától és (2) az ingerek közötti intervallumok hosszától. Ezek a prepulzív gátlás létrejöttének is fontos kritériumai. A megrezzenést kiváltó küszöbérték általában 90-105 dB. A megfelelő intenzitású prepulzív inger nagysága 1-20 dB-lel kiemelkedik a háttérzajból, de önmagában nem vált ki megrezzenést. A prepulzív intenzitás növelésével a PPI mértéke is növekszik [(Hoffman and Wible, 1970); (Li et al., 1998a); (Reijmers and Peeters, 1994a)].

A megrezzenési amplitúdó gátlásának másik feltétele a prepulzív és startle inger közötti időintervallum, amely 30-500 msec között megfelelő [(Graham, 1975); (Hoffman and Ison, 1980); (Li et al., 1998b); (Reijmers and Peeters, 1994b); (Swerdlow et al., 1992a)]. A maximális hatást azonban a két hang közti 50-200 msec-os eltérés eredményezi, az ennél kisebb vagy nagyobb intervallum hatása fordított harang-görbe formájú csökkenést mutat. A prepulzív és a megrezzenést kiváltó ingerek felszálló szárának meredeksége, és a prepulzív inger időtartama szintén befolyásolja a PPI-t [(Reijmers and Peeters, 1994b)]. A hirtelen megjelenő, vagyis meredeken felszálló szárú ( $< 0,1$  msec), közepes időtartamú [prepulzív inger: 20 msec, startle inger: 40 msec; (Reijmers and Peeters, 1994b)] stimulusok

eredményezik a legnagyobb prepulzív gátlásokat. A PPI már az első prepulzív-startle próbánál megjelenik, jelezve, hogy nem tanulási folyamatról van szó.

### **2.1.2.2 A PPI csökkenés neuropszichológiai jelentősége és a csökkenés lehetséges neurofarmakológiai háttere**

A prepulzív gátlás csökkenti az ASR mértékét. Ez a jelenség azonban számos neuropszichiátriai betegségnél hiányzik, amit úgy értelmezhetünk, mint a gátló-kapuzó mechanizmus csökkent képességét a benyomuló szenzoros, motoros vagy kognitív információkkal szemben. Ezen a betegségek közé tartozik például: a skizofrénia, a skizotipikus személyiség, a Huntington betegség, a kényszerbetegségek, Tourette-szindróma és a figyelmi deficités betegségek [(Swerdlow and Geyer, 1998)]. Felmerült, hogy a deficit vajon a szenzoros-motoros gátlás-kapuzás kapacitás változásának vagy a figyelmi válaszcsökkenésnek lehet-e a következménye, ami a csökkent prepulzív inger detektálásának az eredménye [(Campeau and Davis, 1995); (Davis et al., 1990); (Dawson et al., 2000); (Grillon et al., 1992); (Swerdlow et al., 1992b)]. A „preattentive filter mechanizmus” elnevezést, Graham vezette be 1975-ben, a PPI humán leírásaként. Úgy jellemezte a folyamatot, hogy a kis intenzitású inger protektív hatásúvá válik azáltal, hogy megelőzi a fokozott választ kiváltó ingert és ezáltal megóvjaa a szervezetet a tiszta perceptuális hatástól, továbbá elkerüli a fokozott inger okozta hibás feldolgozást. Graham szerint a „preattenció” nem szükséges, hogy fennálljon a percepció figyelmi folyamat előtt. Swerdlow és munkatársai azonban kimutatták, hogy a kezelés, amely során a PPI csökkenés megfigyelhető volt, de az nem volt hatással az ASR alapvonalára, velejárója a PPI-nek, jelezve, hogy az állatok képesek voltak érzékelni a prepulse ingert a csökkent PPI vizsgálatok alatt is [(Swerdlow et al., 1992b)]. Másrészt, a PPI mértékét lecsökkentő kezelések, mint a szisztematikusan adott phencyclidin vagy apomorphin hatására, csökken a prepulzív inger érzékelése a kombinált PPI és a félelem kondicionált kísérletben [(Varty and Higgins, 1995)]. Az eredmények arra

utalnak, hogy csökkent a prepulzív inger detekciójának a mértéke is. Humán vizsgálatokból az derült ki, hogy a PPI fokozódhat, ha a vizsgált személy figyelme a prepulzív ingerre összpontosult [(Blumenthal et al., 2004); (Filion et al., 1993); (Jennings et al., 1996)]. Ezzel bizonyították, hogy a PPI mechanizmus több, mint egyszerű szenzoros-motoros kapuzó folyamat, mivel annak egyik előfeltétele a figyelem. A figyelem, mint top-down mechanizmus van hatással a PPI perceptuális szintjére, ahol a magasabb szintű inger processzálas (kognitív processzálas) óvja a gating-kapuzó mechanizmust, ami az alapját képezi a PPI-nek.

A csökkent PPI szint számos állatkísérlet során megfigyelhető, mint például: az ovariális hormonszint változás után [(Koch, 1998)], vagy a különböző transzmitter rendszerek manipulációit követően, agyi léziók esetén [(Koch and Schnitzler, 1997); (Swerdlow et al., 1992a); (Geyer et al., 1993); (Ellenbroek et al., 1995)], eltérő nevelési kondíciók [(Varty and Higgins, 1994); (Crawley et al., 1997)], genetikai törzsek és a korábbi információkra utalva a különböző neuropszichiátriai betegségek során [(Geyer and Braff, 1987); (Swerdlow and Geyer, 1998)] volt megfigyelhető.

A humán neuropszichológiai betegségekhez, azon belül is a szizofréniával analógiát mutató, legszembetűnőbb állatkísérletes eredmények azokból a vizsgálatokból származtak ahol a PPI mértékének csökkenése mellett a mesoaccumbalis dopamin rendszer túlműködése volt megfigyelhető [(Rigdon, 1990); (Swerdlow et al., 1994)]. PPI csökkenést idéz elő a ventrális striátumban, azon belül a nucleus accumbens (NAcc) közepes dendrit tuskájú neuronjai [(Swerdlow et al., 1990b)], valamint a mediális striátumban [(Swerdlow et al., 1992a, Wan and Swerdlow, 1993, Wan et al., 1994)], az itt található idegsejtek fokozott aktivitása, ami a D2 dopamin receptorok túl működésének a következménye.

PPI csökkenést idézhető elő a következő neurotranszmitterek segítségével: szerotonin (5-HT<sub>2</sub>) receptor blokkolását követően [(Sipes and Geyer, 1994)], a noradrenerg rendszer gátlásával [(Saitoh et al., 1986)], illetve az  $\alpha_2$ -noradrenerg receptor génkiütését követően [(Sallinen et al., 1998)]. A deficit kialakult az  $\alpha_1$ -noradrenerg receptor ingerlésével [(Carasso et al., 1998)] és az NMDA receptorok non-kompetitív blokkolásával [(al-Amin and Schwarzkopf, 1996); (Bakshi et al., 1994); (Kretschmer and Koch, 1998); (Mansbach and Geyer, 1991)], továbbá az NMDA receptor glycin kötő helyének gátlásával [(Furuya and Ogura, 1997); (Kretschmer and Koch, 1997)].

Az előzőekben felsorolt farmakológiai módszerekkel kiváltott PPI deficit a következő módon foglalható össze: a felsorolásban szereplő farmakonok potenciális neuroleptikus hatással rendelkeznek [(Hoffman and Donovan, 1994); (Johansson et al., 1994); (Swerdlow and Geyer, 1993); (Swerdlow et al., 1991); (Schwarzkopf et al., 1993)]. PPI deficit kiváltható szisztémás vagy intra-accumbális DA agonista adásával, ami klasszikus antipszichotikus ágensekkel, mint például haloperidollal, megszüntethető [(Swerdlow et al., 1994)]. A szisztémásan beadott apomorfín, mely PPI csökkenést idéz elő, haloperidol mikroinfúziója a nucleus accumbens vagy más agyterületre, legátolja az így kialakult hatást. Ebből arra lehet következtetni, hogy a haloperidol hatással van számos olyan agyi szubsztrátra, ami befolyásolja a prepulzív gátlást [(Hart et al., 1998)]. A PPI, mivel nem zéró alapvonalal rendelkezik, ezért az olyan neuroleptikumok, amelyek csökkentik az alapvonalat, megnövelik a megrezzenés gátlását [(Depoortere et al., 1997)].

Számos kutató próbálta megfejteni mi állhat a PPI csökkenés hátterében. Ezekben a vizsgálatokban főként a neuronális hálózatokat szabályozó szelektív transzmitter rendszerekre fókuszáltak. A nucleus accumbens septi (NAC) az egyik elsődleges központja számos transzmitter rendszernek, ami hatással van a PPI-re. A NAC egy erős dopaminerg innervációt kap a VTA-tól. A túlzottan

magas DA receptor stimuláció vagy lézió indukálta DA receptor szuperszenzitivitás a NAC-ban PPI csökkenést eredményez [(Swerdlow et al., 1992b)]. Ebben az esetben, interakciós zavar lép fel a glutamát és a DA neurotranszmitterek között, amely folyamat fontos szerepet játszik skizofréniában is. A PPI során bekövetkező glutamát-DA interakció a NAC területén egy igen alaposan vizsgált terület.

A PPI csökkenés non-kompetitív NMDA antagonistákkal alkalmazásával is kiváltható. Ebben az esetben dopamin antagonistákkal nem alkalmaznak, hanem direkt NMDA receptor blokkoló segítségével idézik elő a DA rendszeren keresztül a PPI módosító hatást [(Keith et al., 1991)]. A non-kompetitív NMDA antagonisták dizocilpine intra-accumbalis injekciója megnöveli a prepulzív gátlás mértékét [(Reijmers et al., 1995)]. Ezzel szemben kompetitív NMDA antagonisták intra-accumbalis injekciója csökkenti a PPI-t [(Kretschmer and Koch, 1997), (Kretschmer and Koch, 1998)]. Mióta ismert, hogy a striatalis DA felszabadulás mértéke kortikális és limbikus glutamaterg afferens kontroll alatt áll, felmerült, hogy vajon a DA glutamát interakció fontos-e a PPI szabályozásában? A NAC direkt projekciót kap a ventrális hipocampus-tól (vHIP) [(Groenewegen et al., 1987)] és ezek a hipocampalis rostok konvergálnak a NAC tüske neuronjaihoz, a VTA dopaminerg afferensével együtt [(Totterdell and Smith, 1989); (Sesack and Pickel, 1990)]. A VTA neuron terminálisain kialakuló fokozott DA felszabadulást a hipocampalis afferens stimulációja idézi elő. Ezt a hatást egy direkt preszinaptikus glutamaterg mechanizmuson, elsősorban a NAC shell régióján keresztül fejtik ki [(Blaha et al., 1997); (Brudzynski and Gibson, 1997)]. A ventrális hipocampusban (vHIP) végrehajtott különböző kémiai ingerlések, mint a muscarinos acetylcholin (mACh) agonista carbachol (Caine et al., 1991, 1992), glutamát NMDA agonista [(Wan and Swerdlow, 1996, Klärner et al., 1998)], valamint GABA antagonisták picrotoxin [(Japha and Koch, 1999)] adásával PPI csökkenést idéztek elő. Ez a PPI csökkentő hatás megfigyelhető volt



transzsinaptikus ingerlés hatására felszabadult ACh eredményeként, az egész vHIP-ben, egészen a mediális septum-ig. Mióta azonban ismert, hogy a DA antagonistá spiperone [(Caine et al., 1991)] vagy a haloperidol [(Wan and Swerdlow, 1996)] nem befolyásolja a vHIP stimuláció által előidézett PPI csökkenést, így ezt a hatást DA független mechanizmusként értelmezik. Csökkent PPI-t idéztek elő intra-NAC core sejtjeibe adott glutamát agonista AMPA infúziójával, ami a párhuzamosan beadott haloperidol hatását is redukálta. Ez alapján kijelenthető, hogy a NAC core régiója a DA-glutamát interakción keresztül fejt ki szabályozó hatását a PPI-ra [(Wan et al., 1995); (Wan and Swerdlow, 1996)]. A vHIP stimulációja elvezet a PPI teljes körű deficitjéhez, ami megfelel a c-Fos neuromarkerral történt, eltérő cortico-limbicus előagyi struktúráknál (NAC, septalis nucleusok, számos piriform és prefrontális régió) megfigyelhető eredményekhez. Ebben a vizsgálatban a PPI deficit még 2 nappal a hippocampalis stimuláció után is kimutatható volt [(Klarner et al., 1998)].

Ezek a viselkedési és funkcionális térképezésből származó adatok alapján kijelenthető, hogy a PPI szabályozása egy komplex mintázattal kapcsolatos. Továbbá, hogy hosszantartó kölcsönös viszonyba hozható az előagyi régió számos, más területével.

### **2.1.3 A mediális prefrontális kéreg szerepe PPI során**

A PPI deficittel kapcsolatban a prefrontális kéreg roppant fontos szerepéről számoltak be skizofrén betegek esetében [(Hazlett et al., 1998)]. Glutamaterg afférens, ami a mediális prefrontális kéregből indul, szerepet játszhat a NAC DA felszabadulásának szabályozásában és a PPI regulációjában. A patkány mediális prefrontális kérgének 6-hidroxi-dopamin (6-OHDA) léziójával [(Bubser and Koch, 1994)] a prefrontocorticalis DA receptorok gátlása eltűnik. Ezzel a hatással megegyező eredményt okoz a mediális prefrontális kérgi neuronok GABA antagonistá picrotoxinnal történő diszinhibíciója [(Japha and Koch, 1999)].

Mindkét esetben PPI csökkenést idézhető elő, amely hatások haloperidol-lal antagonizálhatók. A jelenség hátterében a következő változás áll, a prefrontális kérgi DA hipofunkció jelentős DA felszabadulást okoz a NAC core régiójában, mivel csökken a DA legfontosabb inhibítoros hatása a kérgi glutamaterg kimenetet adó neuronokra. A gátlás megszűnésének a hatására a VTA-ba irányuló glutamaterg bemenet a kéreg felől megnövekszik, ami ezáltal fokozza a DA felszabadulást [(Karreman and Moghaddam, 1996); (Taber and Fibiger, 1995)]. Azonban a prefrontális kéreg glutamaterg és a NAC tegmentális DA-erg afferense között továbbra is fenn áll a kapcsolat.

A mediális prefrontális kéreg jelentős szerepet játszik az accumbális DA általi PPI szabályozásban, amit további kutatási eredmények támasztanak alá. Ezekből arra lehet következtetni, hogy más transzmitterek, mint az adozin vagy más neuropeptidok, mint a neurotensin és a CCK is fontos szerepet játszanak a NAC PPI regulációjában [(Feifel and Swerdlow, 1997); (Feifel et al., 1997); (Hauber and Koch, 1997); (Koch and Hauber, 1998)]. Non-kompetitív NMDA antagonisták (MK-801, phencyclidin és ketamin) szisztematikus beadása során konzisztensen PPI csökkenés volt megfigyelhető [(Mansbach and Geyer, 1991)]. Ezek a PPI mértékét csökkentő hatások DA antagonistákkal nem voltak antagonizálhatók [(Keith et al., 1991)], csupán atipikus neuroleptikumokkal [(Bakshi et al., 1994); (Johansson et al., 1994)], mint a nitrit-monoxid szintetáz gátlók [(Johansson et al., 1997)] vagy  $\alpha$ 1-noradrenerg antagonistákkal prazosin [(Bakshi and Geyer, 1997)]. Még nem ismert, hogy a központi idegrendszerben hol blokkolódnak azok az NMDA receptorok, melyek non-kompetitív antagonisták adásán keresztül fejtik ki hatásukat a PPI-re. Lokális MK-801 infúzió a NAC-ba egyik alkalommal növelte a PPI-t [(Reijmers et al., 1995)], máskor nem mutatott semmilyen PPI-re gyakorolt hatást [(Bakshi and Geyer, 1998)]. Az előzőekkel szemben, a basolateralis amygdalába vagy a dorzális hippocampus-ba adott MK-801, csökkentette a PPI mértékét [(Bakshi and Geyer,

1998)]. Ezzel kapcsolatban érdemes megjegyezni, hogy a bazolaterális amygdala lézió szintén PPI csökkenést idézett elő (Decker et al., 1995); (Wan and Swerdlow, 1997)Wan and Swerdlow, 1997), amely hatásról kijelenthető, hogy a szabályzás a ventrális pallidumból származó amygdaloid projekción keresztül történik [(Wan and Swerdlow, 1997)]. Feltűnő különbség mutatkozik a kompetitív és non-kompetitív open-channel NMDA receptor blokkolók PPI-re kifejtett hatása között. A korai kísérletekben arról számoltak be, hogy szisztémásan adott kompetitív NMDA antagonisták nincs hatással a PPI-re [(Swerdlow et al., 1992b)]. Ezzel szemben a későbbi cikkekben arról számoltak be, hogy az AP-5-nek az intraaccumbalis adása [(Kretschmer and Koch, 1997), (Kretschmer and Koch, 1998); (Reijmers et al., 1995)] vagy a glicin-típusú NMDA receptor antagonisták, mint a 7-chlorokynurenic sav [(Kretschmer and Koch, 1997), (Kretschmer and Koch, 1998)], csökkenti a PPI-t. Ehhez hasonlóan, egy kompetitív NMDA receptor antagonisták, a CGS19755 a szisztémás adása vagy a 7-chlorokynurenic sav intracerebroventriculáris alkalmazása csökkent PPI-t eredményezett [(Furuya and Ogura, 1997)].

Egy elegáns vizsgálat sorozatban, amelyben a mesoaccumbalis DA rendszer túlműködésének hatásáról számoltak be, kimutatták, hogy a PPI-t szabályozó hálózat GABAerg projekciója, a NAC-ból a ventrális pallidumba fut, ahonnan a GABAerg projekció deszcendál a PPTg-be [(Swerdlow et al., 1990a); (Kodsi and Swerdlow, 1994), (Kodsi and Swerdlow, 1995), (Kodsi and Swerdlow, 1997)]. A ventrális pallidumban található 5-HT<sub>2A</sub> receptorokat tartalmazó idegsejtek, melyek összeköttetésben vannak a szintén ezen a célterületen előforduló GABA és cholinerg interneuronokkal, jelentős szerepet töltenek be a PPI ventrális előagyi regulációjában. A receptor agonisták (DOI) teljesen megszüntette a PPI hatását, míg a receptor antagonisták MDL 100,907 infúziója a célterületre növelte a PPI-t, illetve ellensúlyozta az agonisták hatását [(Sipes and Geyer, 1997)]. A jelenlegi elképzelés az, hogy a PPI deficitért főként a DA-rendszer túlműködése a felelős

és nem a szisztémásan vagy intraaccumbálisan adott NMDA receptor gátlók, melyeknek a szabályozását a NAC-ventralis-pallidalis kimenő pályája végzi [(Kretschmer and Koch, 1997), (Kretschmer and Koch, 1998)].

A PPI szintén csökkenthető szelektíven felnevelt [(Ellenbroek et al., 1995); (Ellenbroek et al., 1998)], szociálisan izolált patkány törzs kialakításával [(Geyer et al., 1993)], továbbá emelve a női szteroid szex hormonok szintjét mind patkányoknál, mind emberben [(Koch, 1998)] és végül a különböző állattörzsek alkalmazása során [(Varty and Higgins, 1994); (Paylor and Crawley, 1997)]. Az izoláltan felnevelt patkányok PPI deficitje azonban megfordítható neuroleptikumok, mint seroquel vagy olanzapine adásával [(Bakshi et al., 1998)]. A nagyszámú kísérletes eredmény ellenére még mindig nem tisztázott, hogy melyik az a neuronális hálózat, mely hatással van a PPI-re, és idézi elő az elváltozásokat.

### **2.1.3.1 Mediális Prefrontális Kéreg (mPFC) funkcionális szerepe a szenzoros-motoros gátlásban**

A prefrontális kéreg (PFC) neuronális inhibícióban betöltött szerepével kapcsolatban számos vizsgálatot hajtottak végre, különböző neuroszichológiai betegcsoportoktól kezdve a különféle emlősállatokon végzett modell kísérleteken keresztül [(Swerdlow et al., 2005); (Egner and Hirsch, 2005); (Shoemaker et al., 2005); (Knight et al., 1999)]. Az eredmények alapján megállapítható, hogy a PFC igen fontos szerepet tölt be a neurális inhibíciós folyamatban, azonban sem az intrinsic, sem az extrinsic inhibitoros kontrollja ma még nem ismert. A kérdéssel kapcsolatban releváns munkákból derült ki, hogy mi is lehet a prefrontális kéreg funkcionális szerepe. Erre legalkalmasabb eszköznek a különböző PFC sérülést szenvedett személyektől, valamint állatkísérletekből származó adatok elemzéseit tartják számon. Az eredmények analízise alapján azt feltételezik, hogy ez a régió fontos szerepet tölt be a rövid távú figyelmi feladatok végrehajtásában, ahol a külső

ingerekre kellett öszpontosítani [(Carli et al., 2006); (Bailey and Mair, 2004); (Knight et al., 1995)]. Humán, fokális PFC károsodás vagy állatoknál kísérleti céllal elvégzett PFC lézió esetén, az inhibítoros szenzoros folyamatok szignifikánsan leromlottak [(Knight et al., 1989); (Yamaguchi and Knight, 1990), (Yamaguchi and Knight, 1991); (Rosenkranz and Grace, 2001)]. A releváns és irreleváns ingerek feldolgozása és azok értelmezése komoly zavart idéz elő a fent leírt problémával küzdő betegeknél [(Woods and Knight, 1986); (Christakou et al., 2001)]. A PFC diszfunkció elvezethet a hibás új stimulus identifikációjáig (Knight, 1984), amely előidézi a csökkent inhibítoros kontrollt, ami során az asszociációs kéreg integrálja a kognitív és emocionális folyamatokat [(Rule et al., 2002); (Phan et al., 2005); (Maren and Quirk, 2004); (Runyan et al., 2004)]. A PFC károsodás elvezethet egy további drámai viselkedés gátlás csökkenéséhez, ami a választásos viselkedések végrehajtása során egy impulzív viselkedési szindrómát és csökkent adaptációt eredményezhet [(Carli et al., 2006); (Chudasama et al., 2005)].

A PFC funkciójában bekövetkezett eltérésekkel kapcsolatban azt feltételezik, hogy szerepet játszanak a skizofrénia etiológiájában [(Cannon et al., 2005); (Selemon, 2001); (Weinberger et al., 2001)]. Skizofrén betegekhez hasonlóan, a fokális PFC károsodottakban figyelmi és az ingerre történő diszkriminációs zavarok léptek fel [(Elliott and Sahakian, 1995); (Pantelis et al., 1997), (Pantelis et al., 1999)]. További általános jellegzetessége a skizofrénianak a „szenzoros flooding”, vagyis a normális esetben kikapuzott, filterezett információk, eltérő érzéklet forrásaivá válnak [(Venables, 1964), (Venables, 1969)]. Más pszichológiai betegségeknél, mint a mániás kényszeres betegség, a poszt-traumás stressz és a drog addikciónál szintén megtalálható ez a szenzoros filterezési probléma, amit szintén „szenzoros flooding”-ként határoznak meg [(Rossi et al., 2005); (Ghisolfi et al., 2004); (Adler et al., 2001)] és mindegyik esetben okként PFC diszreguláció szerepel [(Richert et al., 2006); (Self, 1998)].

Az alábbiak alapján kijelenthető, hogy az egy-sejt aktivitás regisztrálása és annak analízise speciális lehetőséget biztosít a szenzoros-motoros kapuzó mechanizmus vizsgálatához és így a mechanizmus megértéséhez. A szenzoros-motoros kapuzó mechanizmus, azon belül is a PPI, bizonyos agyi struktúrákhoz köthető, mindenütt jelenlevő és konzisztens mechanizmus eredménye. Ezáltal, a kapuzó mechanizmus szempontjából kitüntetett régió, elsősorban a PFC-nek a folyamat szabályozásában betöltött szerepének vizsgálata, szabadon mozgó, viselkedő állatokon, komoly jelentőséggel bír.

Az előbbieken bemutattam, hogy a megrezzenési reakció és annak módosított változata, a prepulzív gátlás milyen jelentőséggel bír a szenzorosmotoros gátlással kapcsolatban. Továbbá részleteztem, a prefrontális kéreg jelentőségét a PPI szabályozása során. Végül kitértem arra is, hogy az egy-sejt aktivitási vizsgálatok még további, a szabályozás pontosabb megértéséhez szolgáltatnának információt.

A fenti állításokat figyelembe véve azzal szembesültünk, hogy jelenleg nincs olyan technikai megoldás, amely a rendkívül gyors fejmozgások regisztrálására alkalmas lenne, szabadon mozgó, viselkedő állatokon. További problémaként merült fel, hogy a szimultán történő egy-sejt aktivitások regisztrációjára, ami a későbbiekben elvezethet a lokális és a nagyobb hálózatok vizsgálatához, igen csekély számú megoldás ismert. Mindezeket összefoglalva szükséges volt egy olyan sokcsatornás elvezető rendszer, headstage kialakítása, mely alkalmas a megrezzenési reakció során is stabil unit aktivitás regisztrálásra, valamint egy olyan megoldásra, amely a tér három dimenziójában szabadon mozgó állaton is nagy pontossággal képes a megrezzenési válaszok mértékének meghatározására.

A továbbiakban bemutatom a sokcsatornás elvezetéssel kapcsolatban általunk alkalmazott multi-unit technika elméleti hátterét.

### **2.1.5 Sokcsatornás elvezetés elméleti háttere**

Az idegrendszert alkotó sejtek egymással akciós potenciálokon keresztül kommunikálnak. Ezeket a rövid lefutású feszültségváltozásokat más néven spike-nak hívjuk. A neuronoknál általában a spike aktivitás valamilyen külső inger hatására jön létre. Az inger származhat: a szervezeten belülről, tehát lehet belső jelre adott, illetve a külső környezetből jövő hatások eredményeként, azaz lehet az idegsejtek külső hatásra adott válasza.

Az ingerekre adott sejt válaszok  $\mu\text{V}$ -os amplitúdó nagyságúak, valamint ms időtartamúak lehetnek. A neuronális válaszok között bizonyos, sejt típusra jellemző refrakter periódus (2-5ms) következtében, a spike-ok közötti időintervallum alakul ki, amikor a sejt ingerületbe nem hozható. A neuronok működése és azon belül a spike aktivitás határozza meg az idegsejtek közötti kommunikációt, amely elvezet az idegrendszer válaszáinak kialakításához. Ennek megértéséhez a neuronális válaszok szeparációjára van szükség, amellyel az egyes spike típusok, és ezáltal az azokat generáló sejtek, elkülöníthetők tehetők.

Attól függően, hogy a regisztráláshoz használt elektródánk hol helyezkedik el, beszélhetünk: extracelluláris, illetve intracelluláris elvezetésről. Extracelluláris elvezetés során az elektróda a sejt közötti térben található. Ennek a típusú elvezetésnek az előnye, hogy nagyszámú sejtet lehet szimultán regisztrálni, azonban a jel amplitúdója viszonylag alacsony, 10-500  $\mu\text{V}$  nagyságú. Második esetben, mely során, a sejten belüli térből vezetünk el, nagyobb amplitúdójú sejt válaszokat kapunk, azonban csak az adott sejt aktivitását tudjuk ennél az elvezetési módszernél megfigyelni.

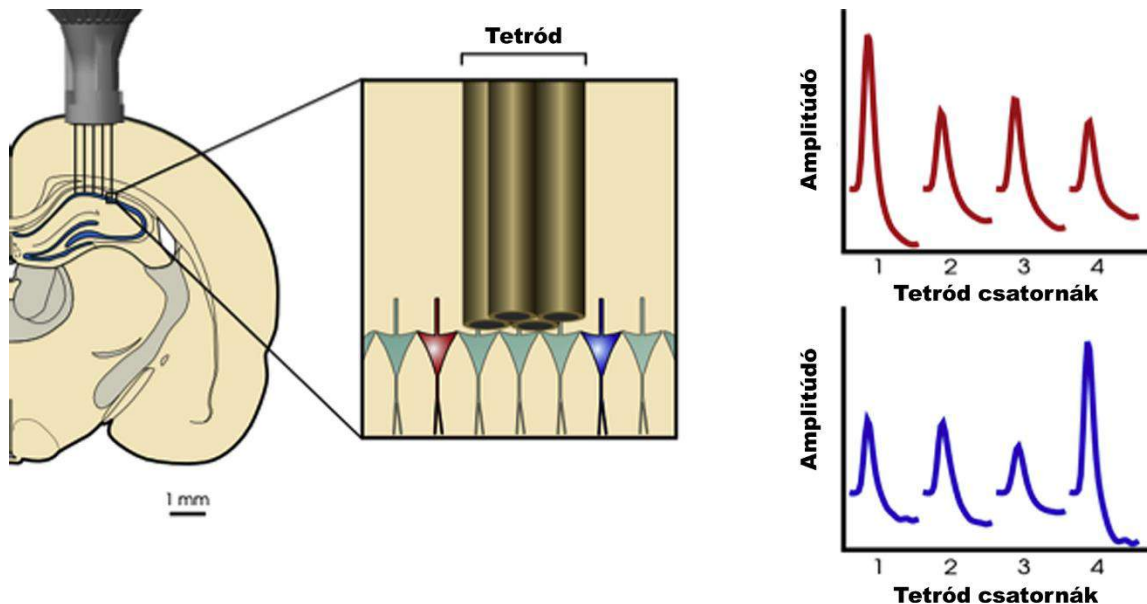
Spikesorting algoritmusokat az extracelluláris elvezetésekéből származó jelek feldolgozására alkalmazunk, mivel a szimultán spike aktivitásokat el kell tudni különíteni egymástól. Az extracelluláris térben az egyes neuronok sejt kiséülésein kívül lokális mezőpotenciálok (LFP) is regisztrálhatók, melyek a posztszinaptikus potenciálok szummációjából keletkeznek.

### **2.1.5.1 Tetród technika**

Az extracelluláris térből történő elvezetések során többfajta elektróda konfiguráció ismert, mint például: az üvegapilláris mikroelektróda, az egy vagy több kontaktusú fémszál, illetve a szilícium alapú, úgynevezett szilikon probe.



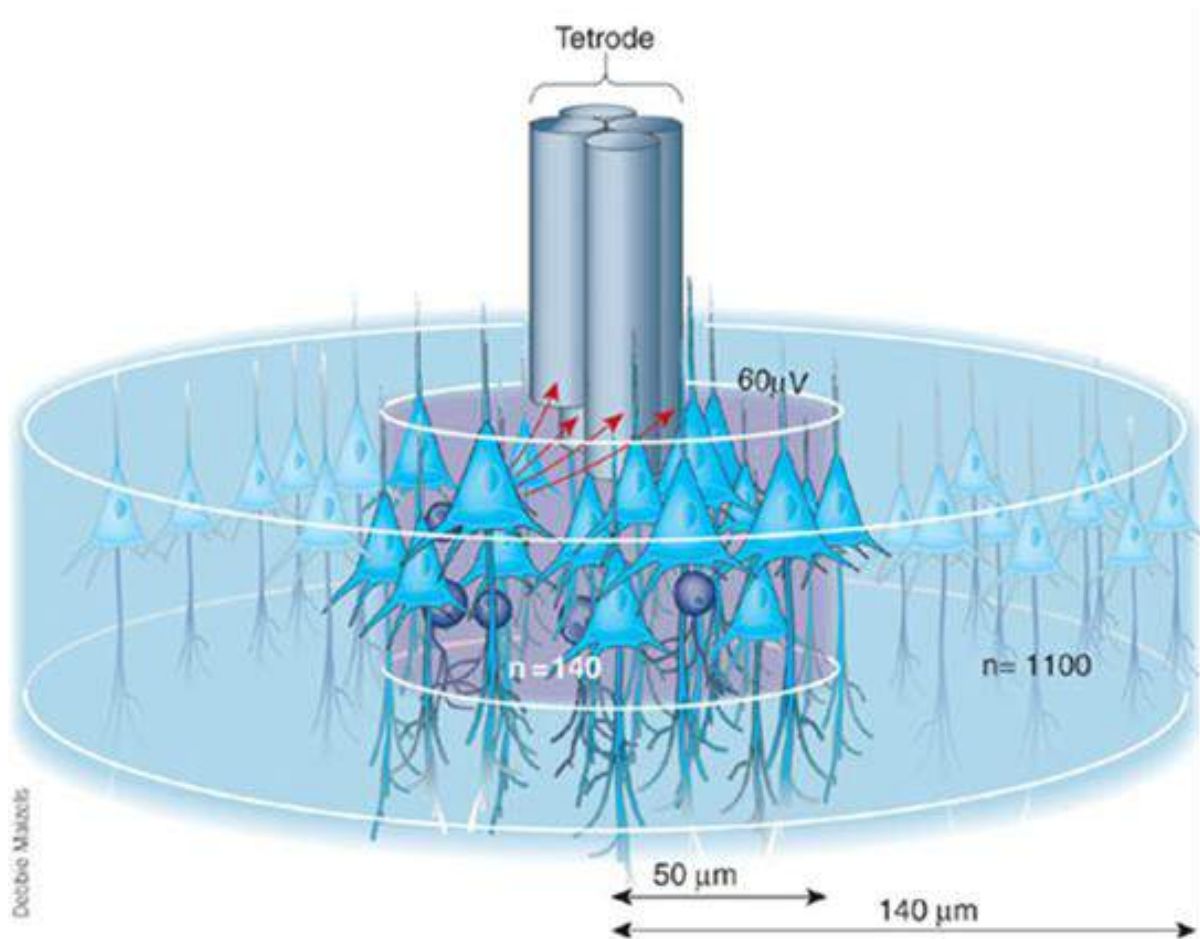
Kísérleteink során a több sejt jelének szimultán regisztrálására alkalmas tetród technikát alkalmaztuk (3-5. ábra). A tetród négy darab egykontaktusú elektródból áll.



3. ábra

*Tetród elvezetés patkány dorzális hippocampusból. A sematikus ábra a tetród hegyénél történő egy-sejt aktivitás elkülönítését mutatja be. A két szélső elektróda a hozzá közel elhelyezkedő “kék”, illetve “piros” neuront eltérő amplitúdóval látja, amely alapján jól szeparálhatóvá válik. (Stuart Layton nyomán)*

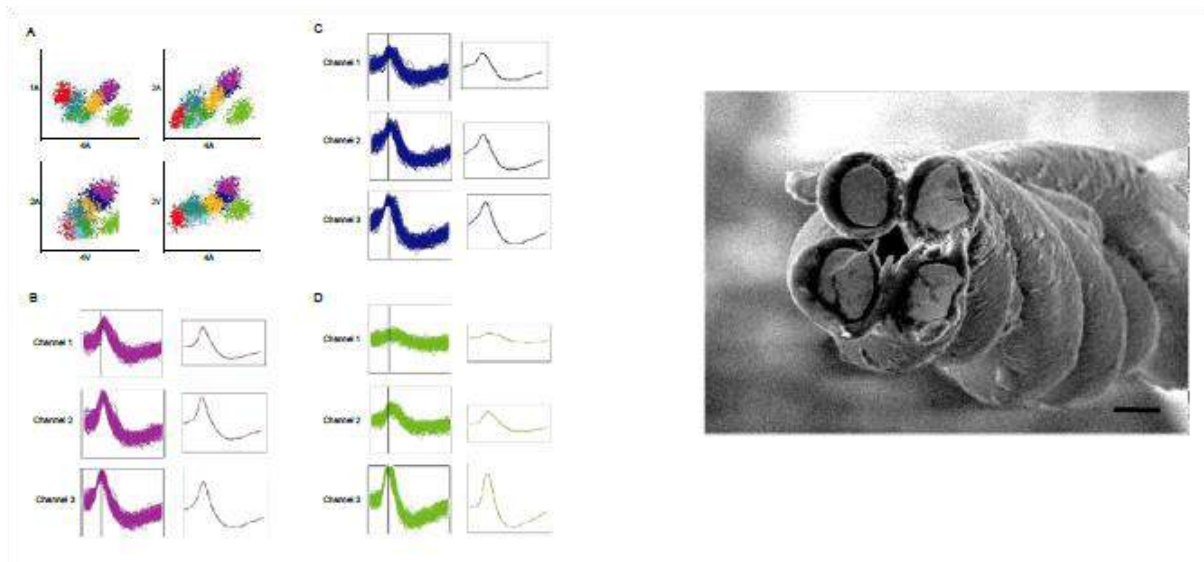
Ezzel a módszerrel 1 tetróddal egyszerre 4 közeli helyről lehet folyamatos unit és mező potenciál aktivitást regisztrálni. A tetródos elvezetés lényege, hogy egyszerre több sejtet lehet szimultán megfigyelni, mivel a különböző sejtek egymástól eltérő geometriai távolsággal rendelkeznek, ami az eltérő elektródokon eltérő nagyságú idegsejt válasz nagyságot produkál (4. ábra). Ez alapján elkülöníthetővé válnak az egyes neuronok egymástól.



4. ábra

*A tetród elektróda hegyének környezetében regisztrálható egy-sejt aktivitások téri elhelyezkedése. A maximális távolság, amíg a tetród elektródák „ellátnak” kb. 140 μm, amely térrészben a regisztrálható egy-sejt aktivitások 1100-ra tehetők. A gyakorlatban egy szűkebb terület, kb. 60 μm sugarú körben képes, 140 egymástól jól elkülöníthető egy-sejt aktivitást regisztrálni. (Buzsaki, 2004)*

Az elektróda elvezető felszínéhez közelebb lévő sejtek akciós potenciáljainak amplitúdói nagyobbak lesznek, illetve az unitok szélessége eltérő lesz a távolabbi elektródán lévőkéhez képest (4-5. ábra).



5. ábra

*A bazolateralis amygdala (BLA) neuronjairól történő egy-sejt aktivitási mintázat regisztrálása (balra). A-D: az egyes tetródot alkotó elvezető elektródákról szeparálható unit aktivitások Descartes-féle koordinátarendszerben történő megjelenítése. A spike-okat csúcsi amplitúdójuk és a hozzá tartozó feszültség alapján szeparálták el egymástól. Az azonos színű „felhők” ugyanazt a sejtet jelentik a BLA elvezetés során. B, C és D ábra: a clusterezett spike hullámformái. Az összesített és az átlagos hullámformákat csak 3 csatorna segítségével jelenítették meg. (jobbra) A 4 összetekert elektróda elektromikroszkópos képe. (A fekete sáv: 10 mikrométer) (F. Windels- nem publikált ábra)*

Azonban a tetródok alkalmazásával jelentős mértékben megnövekszik az elvezetések komplexitása (a sejt szeparáció bonyolultabbá válik, a nagyobb téri távolságok miatt eltérő rétegválaszokat eredményezhet). Emiatt rendkívül fontossá válik az elvezető kontaktusok geometriai elhelyezkedése, mert ez alapján állapítható meg a szeparált idegsejtek közötti kapcsolat. A neuron aktivitások

mintázata sejtre jellemző. Eltérő tulajdonságaik alapján (amplitúdó, unit szélesség) lehet az egyes neuronokat szeparálni.

### 3. Probléma felvetés

A jelen kutatáselsődleges célja az volt, hogy leírhatóvá és ezáltal vizsgálhatóvá tegyük a szenzoros kapuzás parametrikus tulajdonságait. Erre a célra egy speciálisan kialakított elvezető rendszer kifejlesztése vált szükségessé, amely a mediális prefrontális kéregbe (mPFC) ültetett krónikus elektródokkal alkalmas single-unit tevékenység elvezetésére, szabadon mozgó állatokon. A gyors fejmozgások regisztrálására alkalmas eszköz-együttest kifejlesztettünk, mert úgy véltük, hogy ezzel további hasznosítható adatokat szolgáltatathatunk a megrezzenési reakció és annak módosított változata, a prepulzív gátlás neurológiai hátterének megértéséhez.

Kísérleteink végrehajtása megköveteli, hogy mindkét neuronális folyamat (megrezzenés és PPI) során stabil elvezetésekkel alakítsunk ki, mivel a végső cél az volt, hogy tesztelni lehessen a szenzoros kapuzási folyamatot, a single-unitok szintjén. A hipotézisünk az volt, hogy a prepulzív gátlás hatására a megrezzenési ingerre kialakuló kapuzás mértékének csökkenése a mPFC-ben megfigyelhető neuronális válasz változást idéz elő. A single unit aktivitások regisztrálásával tehát az a reményünk, hogy az mPFC szenzoros kapuzó mechanizmus szabályozásában betöltött speciális működéséről kaphatunk képet.

#### 3.1 Célkitűzések

- Olyan mikrodrive kifejlesztését tűztem ki célul, aminek előnyei (mint pl. *kompakt szerkezet, alacsony tömeg, illetve kis méret, ami nem korlátozza* egy kifejlett patkány *fajra jellemző, szokásos viselkedését,*

továbbá *könnyen adaptálható* a különböző kísérleti helyzetekre, *rendkívül stabil elvezetést biztosít*, stb.) lehetővé teszik, hogy a megrezzenés során megfelelő egysejt-elvezetéseket hajthassak végre, szabadon mozgó, viselkedő állatokon.

- További célul tűztem ki, a *megrezzenési reakció* és módosított változata, a *prepulzív gátlás (PPI) multi-unit technikával* történő (*sokcsatornás, tetródos elvezetés*) vizsgálatát, laboratóriumi *patkány mediális prefrontális kérgéből (mPFC)*.
- Kísérleteink során felmerült a startle reakcióban a *megrezzenés mértékének eddigieknél adekvátabb mérését lehetővé tévő módszer* kifejlesztésének a szükségessége. Kutatócsoportunk erre a célra kifejlesztette a *3D fejgyorsulás mérő* technikai eljárást, amivel a korábbiakhoz képest a *megrezzenés kezdetét és nagyságát jóval pontosabban* képesek vagyunk *meghatározni*.

## 4.Módszerek

Ebben a fejezetben vázlatosan bemutatom az általunk alkalmazott, elvezető rendszert, és részletesebben ismertetem az általunk kifejlesztett, nyomtatott áramköri lapokból (PCB) előállított mikrodrive-ot. A további fejezetekben pedig, gyakorlati felhasználás során mutatom be a megrezzenési vizsgálatokhoz elengedhetetlenül szükséges, fejgyorsulásmérőn alapuló, a megrezzenés mértékét detektáló eszközt.

### *Elektrofiziológiai rendszer*

A megfelelő technikai háttér elengedhetetlen ahhoz, hogy adekvát magatartási vizsgálatokat végezhessünk, elektrofiziológiai módszerekkel. A megrezzenési vizsgálat során ezek a problémák még fokozottabbak nehézségeket jelentenek. A hirtelen, nagy amplitúdójú fejmozgások következtében, az elvezetések instabillá válnak, ami miatt a magatartási válaszok korreláltathatósága az egy-sejt tevékenységekkel lehetetlenné válnak.

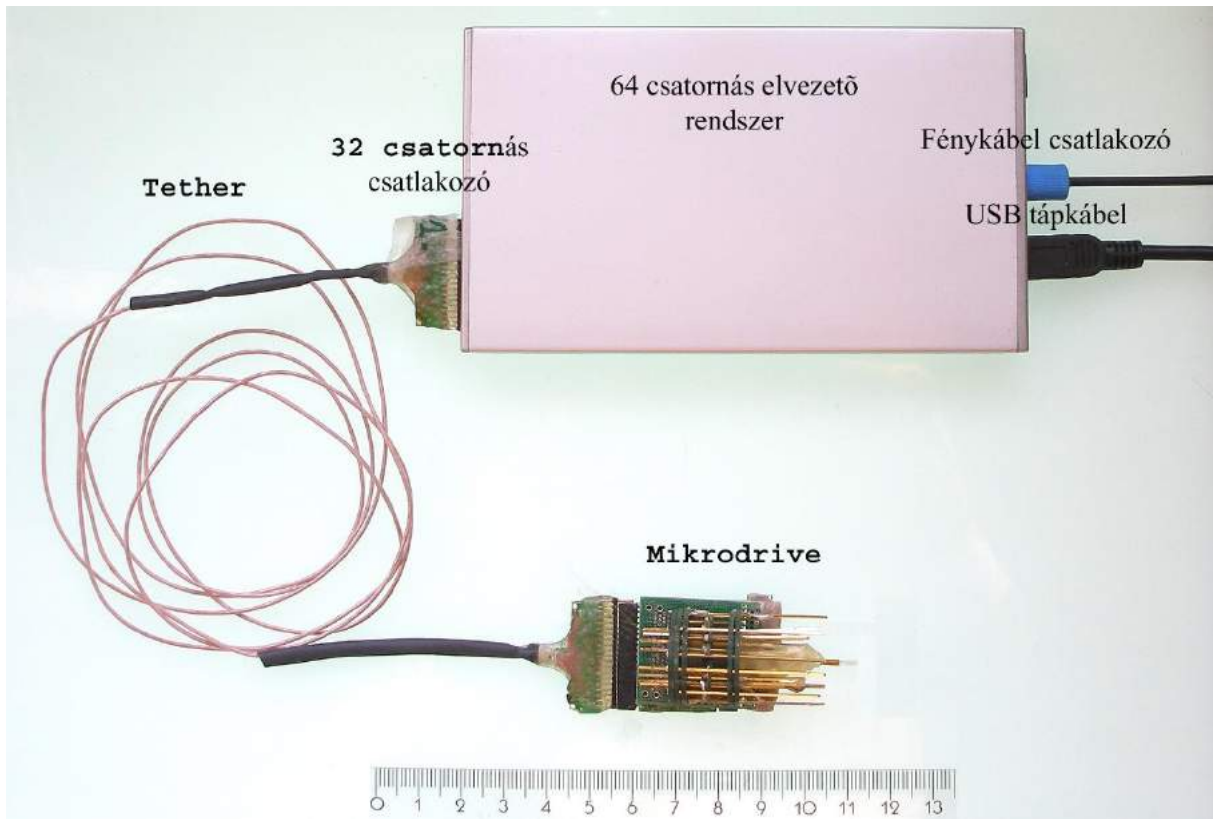
A multiunit elvezetésekhez hagyományosan szobányi elvezető rendszerek tartoztak (5. ábra).



6. ábra

*Matt Wilson 96-csatornás multi-unit laboratóriumának belső felvétele (1999). A szobányi elvezető rendszert igénylő regisztrálás és az azzal párhuzamosan történő megjelenítés.*

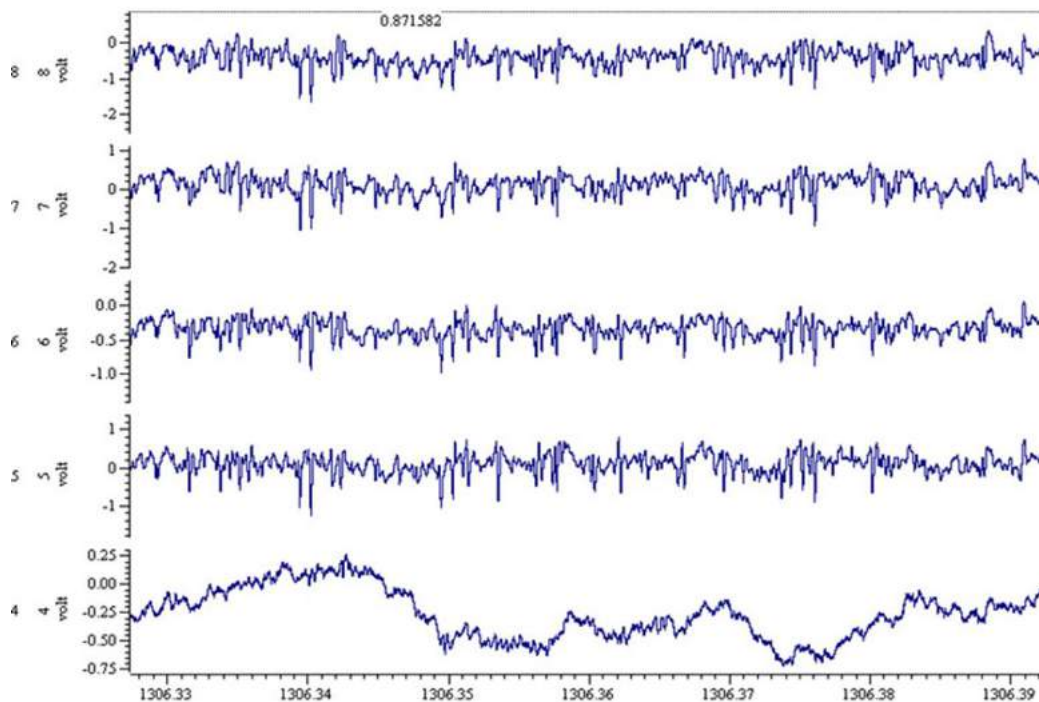
A csatorna szám emelésével a laborműszerek és ezzel együtt a laborok mérete is szignifikánsan növekedett (6. ábra). Ennek a problémának a kiküszöbölésére nyílt lehetőségem Szabó Imre Professor Úr kutatólaboratóriumában. Számos olyan technikai fejlesztésben volt szerencsém részt vennem, amelynek célja az elvezető rendszerek drasztikus miniaturizálását tűzte ki célul (7. ábra).



7. ábra

*64-csatornás elvezető rendszer. 32-csatornás, 8-tetróddal feltöltött mikrodrive, valamint a hozzákapcsolt 32-csatornás előerősítő, továbbá egy elvezető „litze-kábel-en” (Tether) keresztül kapcsolódik a 64-csatornás regisztráló rendszerhez. A főerősítő és az AD konverter összevonása egy panelre jelentős méretbeli csökkenést eredményezett. A számítógépbe az adatok szerializálva, optikus kábelen keresztül futnak be.*

Az általunk kifejlesztett technikai megoldások lehetőséget nyújtanak mély struktúrák, mint például az amygdala, többszörös, széles sávban történő, szimultán elvezetések kialakítására (7. és 8. ábra).



8. ábra

*Amygdalából történő 32-csatornás elvezetés. A széles sávban történő rögzítést követően a felső négy csatorna 1 (5-8 számozás) tetródból származó unit aktivitást reprezentálja. A 4-s csatorna a hozzá tartozó lassú hullám, mező potenciált jeleníti meg. A CED Spike2 program segítségével a csatornák szűrése (unit vagy lassú hullám) egyenként beállítható.*

A továbbiakban a disszertációm alapját adó PCB mikrodrive bemutatásával kívánok foglalkozni.



## **5. Módszertani eredmények (technikai fejlesztések)**

### **5.1 PCB mikrodrive**

Számos laboratórium szembesült azzal a ténnyel, hogy *könnyen előállítható, rendkívül stabil, a kísérletek szempontjából plasztikus, modulokból összeállítható, viszonylag kisméretű, ezáltal rágcsálókra, főként patkányokra alkalmazható mikrodrive nem létezik*. Ezért Kutatócsoportunk Szabó Imre Professzor Úr vezetésével egy újfajta megközelítést választott a fenti követelményeknek megfelelő kifejlesztésére. Ennek a fejlesztésnek a kezdeti lépéseit mutatom be röviden az értekezés következő részében.

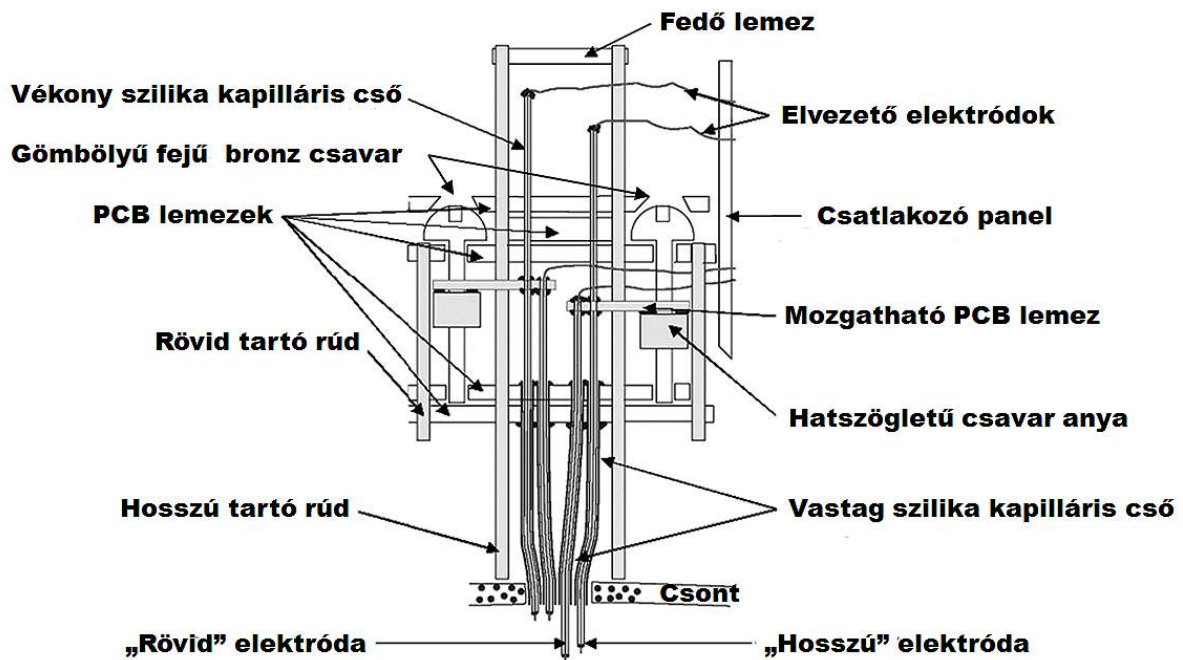
#### **5.1.1 PCB mikrodrive-al kapcsolatos előzmények**

Annak ellenére, hogy a sokcsatornás, multi-unit regisztrálási technikák az elmúlt évtizedekben szignifikáns növekedést mutattak, a neuronális aktivitás mérése szabadon mozgó állatokon, továbbra is igen komoly kihívásokat jelent az idegtudományban (Buzsáki, 2004); (Csicsvari et al., 2003); (Czurko et al., 1999); (Foster and Wilson, 2006); (Harris et al., 2002); (Hirase et al., 2001); (Lin et al., 2005); (O'Neill et al., 2006). Az egyik fő aspektusa ennek a problémának, hogy a sokcsatornás eszközök, ezen belül a mikrodrive-ok előállítását, tradicionálisan magas technikai tudással és felszereltséggel rendelkező, illetve erre a feladatra speciálisan kialakított laborok végezték. Ezáltal a mikrodrive-ok kereskedelmi forgalomban elérhetőkké váltak, mint pl: Neuralynx Inc., Tucson, AZ, USA; Alpha Omega Engineering, Nazareth Illite, Israel; Plexon Inc., Dallas, TX, USA; Axona Ltd., St. Albans, UK, azonban igen magas áron, és ami a legnagyobb gondot jelentette, hogy az adott kísérleti feladathoz nehezen vagy egyáltalán nem adaptálhatóak voltak.

Néhány évvel korábban, Professzor Szabó Imre vezetésével már sikerült bemutatni egy nyomtatott áramköri lap (PCB) technológiára épülő, kompakt, moduláris szerkezetű, sokcsatornás mikrodrive-ot (Szabo et al., 2001). Az akkori publikációban bemutatott mikrodrive-on, számos változtatást hajtottunk végre, ami újabb és újabb verziók születéséhez vezetett. Felhasználva az így megszerzett tudást, tökéletesítettük a PCB mikrodrive-unkat, főként a stabilitás és a felhasználhatóság szempontjaira fókuszálva. Optimálisabb alak és geometriai kialakítást értünk el, továbbá kifejlesztettünk egy olyan elektróda interface lapot, amelyhez közvetlenül kapcsolható az előerősítő. Ezekkel a változtatásainkkal, a mikrodrive feltöltése elektródákkal, jóval egyszerűbbé vált. Egy fontos előnye az általunk kifejlesztett, újfajta, PCB mikrodrive-nak, összehasonlítva a többi, otthon elkészíthető eszközökkel szemben, hogy nem követel meg speciális technikai tudást, illetve különleges eszköz igényt sem támaszt az összeszerelése során, mégis mindezek nélkül is képes kimagasló precíziós pontosságot biztosítani.

### **5.1.2 Anyagok és módszerek**

A mikrodrive, az eredeti PCB mikrodrive-okhoz hasonlóan, PCB moduláris elemekből, bronz csavarokból és anyákból, réz távtartókból és flexibilis szilikon csövekből áll. A mikrodrive keresztmetszeti képét a 9. ábra szemlélteti.



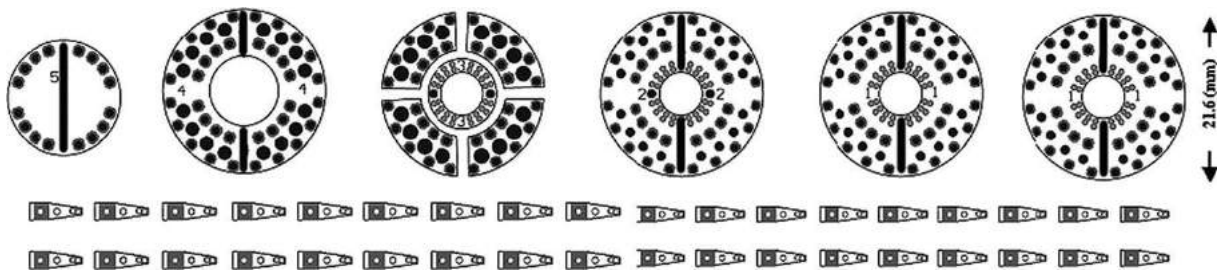
9. ábra

*PCB mikrodrive hosszanti metszeti képe. Az így bemutatott ábrán jól láthatóvá válnak mind az elektródák, mind az őket mozgató részek elhelyezkedése, valamint a mechanikai összeállítása a PCB mikrodrive-nak.*

Két darab, bronz, #00-90” gömbölyű fejű csavar (J.I. Morris Co., Southbridge, MA, USA) látható az ábrán, amelyeket vízszintesen körbevesz a PCB lapka (vízszintes fehér réteg). A hosszú és rövid réz távtartók (3M Board Mount Interconnect Products; DigiKey Corp., MN, USA or RS Export, RS Components Ltd., Corby, Northamptonshire, UK) vertikális elhelyezkedésűek és teljes mértékben keresztül érnek a PCB rétegeken. A távtartók és a csavarok hosszait a kísérleti igényeknek megfelelően lehet rövidíteni.

Ebben a PCB mikrodrive verzióban, az elektródákat kisméretű PCB lapkák mozgatják, amelyeket egy hexagonális csavarhoz rögzítettünk. Ahogy a csavarhúzóval állítunk a csavaron, az „anyá”-val fel-, vagy lemozognak a kis PCB lapok. Párhuzamosan a csavarral, a hosszú és rövid, réz távtartók, melyek mind

az 5 PCB rétegen keresztül mennek, stabilan tartják a mozgatható lapkákat. A hosszú távtartó rudak túl is nyúlhatnak a csavarokon, ami egy kisebb átmérőjű PCB lemez által be is fedhetővé válik. Az ábrán (9. ábra) látható elrendezésben, az opcionálisan lefedett mikrodrive, rövid és hosszú elektródákkal feltölthetővé válik. Ilyen esetben, a hosszú elektródák sérülékenyekké válhatnak, mivel a felső PCB lemezen túl nyúlnak, amit a fedő PCB lapka alkalmazásával, kiküszöbölhetünk. Az alacsony és magas elektródák az interface lapon található csatlakozó pontokhoz forraszthatók. Az alacsony és magas elektróda elrendezés sematikus képe a 9. ábrán látható.

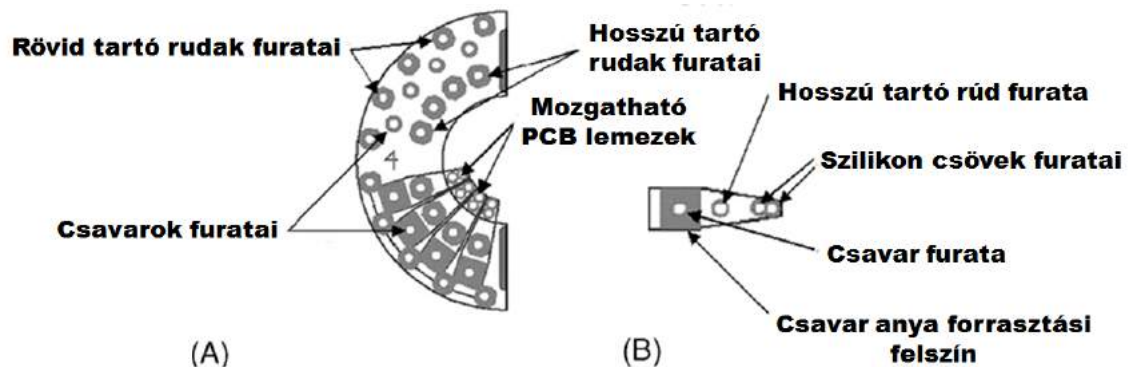


10.ábra

*A mikrodrive összeszereléséhez szükséges nyomtatott áramköri lapok sematikus képe. A PCB lapokon feltüntetett számok jelzik, hogy az összeszerés során hova kerülnek. Az ábrán feltüntetett PCB lapokból 2 db 32/64-csatornás mikrodrive készíthető.*

A 10. ábra felülről mutatja be a 6 db PCB lemezt, amelyet az összeszerelés alkalmával felhasználásra kerül. A legáltalánosabb, kerek fejű csavarokat alkalmaztuk. Egy mikrodrive maximálisan 16 csavart tartalmazhat. A kör alakú elrendezése a csavaroknak a korábbi PCB mikrodrive dizájnából származik (Szabo et al., 2001), ami a mikrodrive-oknál a legáltalánosabban alkalmazott elrendezés is egyben ((Neuralynx Inc., Tucson, AZ, USA). Az előnye ennek az elrendezésnek, hogy a mikroelektródák könnyebben összefoghatók egy vezető „grid”/rács segítségével, amelyek a drive közepén helyezkednek el. Általában, a

saját kísérleteink során, a „felezett” PCB mikrodrive formát választjuk. Ilyen mikrodrive esetén 8 csavar mozgatására van lehetőség. A 8 csavarhoz 8 db tetród tartozik, ami 32 csatornás elvezetést biztosít a felhasználó számára. Az elektródákat kényelmesen lehet az interface laphoz rögzíteni (9. és 11. ábra).



11. ábra

*Félköríves mikrodrive összeállítását segítő sematikus ábra. A: a félköríves PCB lap, valamint az azon elhelyezkedő, kisméretű lapkák, illetve az azokat mozgó csavarok és tartó rudak elhelyezkedésének sematikus ábrája. B: a kisméretű, mozgó lapka sematikus képe.*

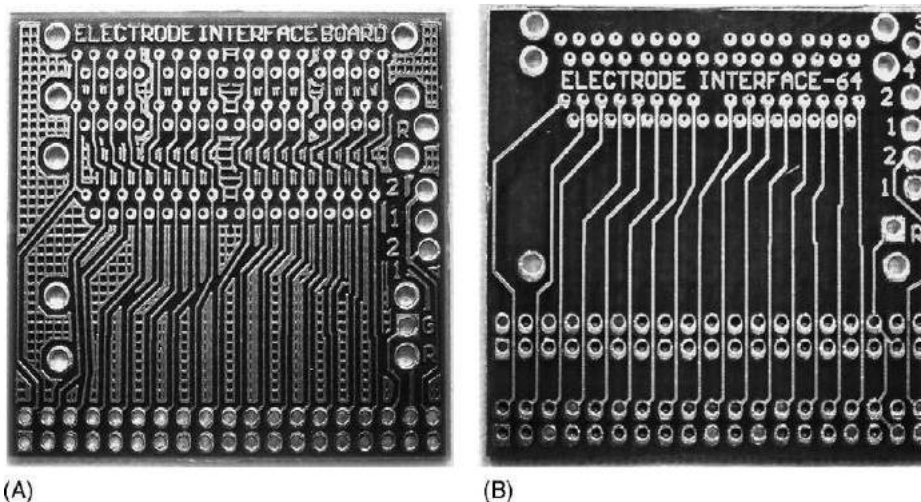
Ahogy azt már korábban említettük, ennél a PCB mikrodrive-nál apró nyomtatott áramköri lapok mozgatják az elektródákat. Ezek a kicsi PCB lapok csúsznak le, fel a nagyobb PCB lapok között (11.B ábra). Hogy megnöveljük a stabilitását az elektróda mozgó mechanizmusnak, a hosszú távtartó rudak a kicsi lapok közepén nyúlnak keresztül, továbbá a rövid távtartók a kis lapok mellett szorosan elhelyezve gátolják a lapkák oldalirányú elmozdulását (9. ábra). Ebben az elrendezésben, a mozgó lapkáknak még a kisebb oldal irányú rotációját is kizárják az általunk alkalmazott távtartók és így precízen megközelíthető a csavarok forgatásával a kívánt elektróda pozíció. A csúszó lapka finoman mozog le és fel a távtartók segítségével anélkül, hogy bármely irányba is elfordulna. Ez a technikai megoldás igen komoly stabilitást biztosít az elektródák mozgatásához, ami roppant fontos szabadon mozgó állatokon végzett krónikus unit regisztrálás során.

A kilencedik ábra illusztrálja (9. ábra), hogy a két flexibilis, vékony (TSP100200, 100 és 200  $\mu\text{m}$  belső és külső átmérő; Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA vagy Optronis GmbH, Kehl, Germany, EU) szilikon csövet, amelyet pillanatragasztóval rögzítünk a mozgó PCB lapkákhoz, a csavar elfordításának irányától függően, rendkívül precízen mozgatható (egy teljes fordulat a csavaron 300 nanométer). A vékony szilikon cső tartalmazza a mikroelektródáinkat, melyek segítségével rögzítjük az elektrofiziológiai jeleket. Tetród elektródaként a következő típusú drótokat alkalmaztuk: 25  $\mu\text{m}$  átmérőjű, H-ML szigetelésű Ni–Cr (Stablohm 675), illetve 12  $\mu\text{m}$ , H-Formvar szigetelésű (Butyral bond coated) wolfram elektróda (California Fine Wire, CA, USA). Az elektródáink hegyei, attól függően, hogy az ún. „hosszú” vagy „rövid” tetródokról volt-e szó, az interface lemezen egymástól jól elkülöníthető helyre csatlakoznak, ahogy korábban is szó volt róla (7. ábra).

Az ún. „vastag” szilikon kapilláris cső (TSP250350, 250 és 350  $\mu\text{m}$  belső és külső átmérőjű, szilikon kapilláris), ami az eddigiekkel szemben teljesen új ebben a mikrodrive elrendezésben. Ezeket a vastag kapilláris csöveket szintén ragasztóval rögzítettük oda az alsó PCB lapokhoz. Ezzel az „alagút” rendszerrel, mint egy vezető csővel, védelmet biztosítunk a vékony szilikon csöveknek, amelyek az elektródáinkat tartalmazzák. A vastag szilikon csöveket egymáshoz ragasztjuk, amivel az elektródák elhelyezkedését biztosítjuk, hasonlóan, mint a korábbi PCB mikrodrive-nál alkalmazott elektróda vezető rács esetében (Szabó et al., 2001). A vastag szilikon kapillárisok a megfelelő irányba vezetik a vékony szilikon csöveket az elektródokkal, kialakítva egy vagy több köteget, mellyel a célterület elérése a legalkalmasabb. Ezzel a megoldással a mikroelektródák stabil pozícióban lesznek tarthatók, ami a szabadon mozgó állatokból történő idegi aktivitás regisztráció során végig fenntartható. Természetesen, a szilikon cső felváltható megfelelő méretű fém csövekkel is, ha arra van szükség.

Azt követően, hogy a mikrodrive-ot összeállítottuk, feltöltjük a vékony szilikon csöveket regisztráló elektródákkal. Kísérleteink során, a tetród gyártáshoz, a 25  $\mu\text{m}$  H-ML szigetelt Ni-Cr elektródákat használtuk (Stablohm 675, California Fine Wire, CA, USA). Mikroszkóp segítségével befűzhető a vékony kapillárisokba a 4 elektródából sodort tetród. Miután a „rövid” és a „hosszú” kapillárisokat is feltöltöttük, a két különböző szint segít abban, hogy kényelmesen csatlakoztassuk az elektródáink végeit az interface lemezhez. Abban az esetben, ha a 8 csavaros változatot választanánk, akkor a kerek felépítésű PCB lapokat el kell felezni, két azonos félre. Azonban az interface lemez tökéletesen illeszkedik az így kialakított „fél” mikrodrive-hoz is (11. és 12. ábra). Ebben az elrendezésben, a hosszú távtartókra felhelyezett fedő PCB lemez, amely az interface lemezzel együttesen, elzárja az elektródáink végeit és ezáltal mentesíti a sérülésektől. Az elektromos zajok által gerjesztett artefaktok kiszűrését szolgálhatja, a hosszú távtartók egymáshoz csatolása, mely így, mint elektromos árnyékolás szolgál, ha a rudakat az interface lemezen található GND/föld ponttal összekötjük.

Amikor a mikrodrive-ot feltöltöttük a „rövid” és a „hosszú” regisztráló elektródákkal, az interface lemez alsó vagy felső csatlakozó sor pontjaihoz kell forrasztani (10. ábra). Főként azért fontos erre felhívni a figyelmet, mert a korábbihoz képest az elektróda interface lemezt átterveztük (13. ábra). Az újra értelmezett interface lemezeknél mind 32, mind 64 csatornás változat is rendelkezésre áll. Az új elrendezés különböző, 2 soros mikro-csatlakozót (0.050” Grid Double Row Interconnects from Mill-Max Manufacturing Corp., Oyster Bay, NY, USA or Preci-Dip brand connector, series 853, 100 pins, double row, Felco Electronics Ltd., UK, EU) felhasználási lehetőségét biztosítja, sőt, a PCB lap alján található, előre gyártott pin lyukak, nagy sűrűségű mikro-csatlakozó illeszthetőségét biztosítja.



12. ábra

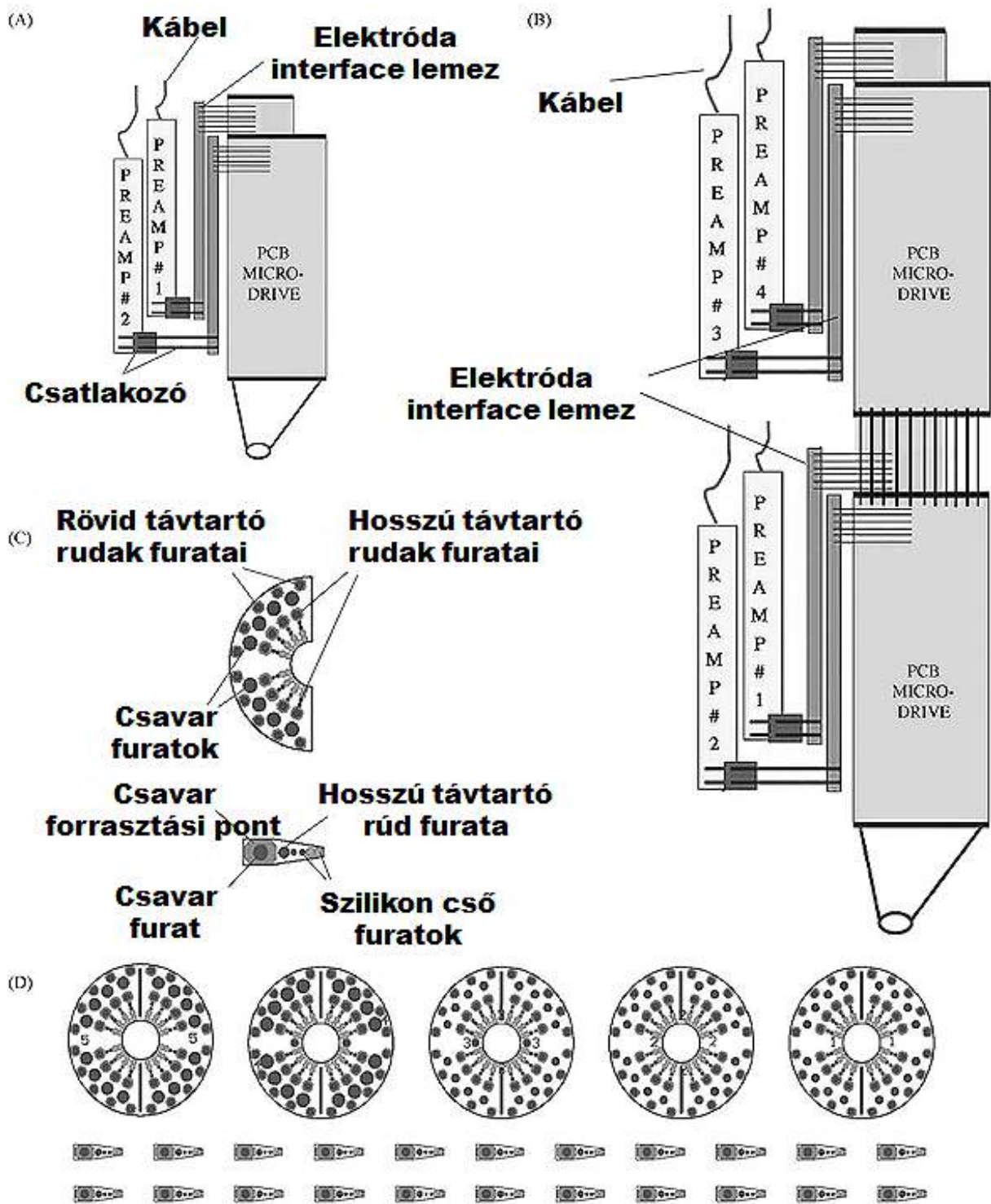
*Elektróda interface lemezek előnézeti képei. A: 32-csatornás interface lemez képe, B: 64-csatornás elektróda interface lemez képe látható.*

A 12A ábrán látható, 32 csatornás változat, 2 rétegű PCB (25mm×24 mm). Ezt a változatot, a 8 csavaros, egymástól függetlenül mozgatható, 8 tetródos változathoz ajánljuk. Az elrendezés előnye abban áll, hogy 3 sor forrasztási pont található rajta, minden egyes elektróda csatlakoztatására. Ezek a forrasztási ponttal ellátott, átmenő furatok, össze vannak kapcsolva a hozzátartozó, a lemez alján található, elektróda csatlakozó pontjával. Ez a megoldás, hogy minden egyes elektróda bármely, a 3 soros, forrasztható ponthoz csatlakoztatható, a felhasználó számára kényelmessé teszi a használatot (12. ábra).

Az elrendezés lehetőséget biztosít arra, hogy két, különböző szinten végződő tetród elektródákat forrasszunk be az interface lemezbe, azáltal, hogy a mozgatható lapkán a lehetséges tetródok számát megduplázzuk (9. ábra). Ebben az esetben, a 8 csavaros mikrodrive-ot, ha 16 sztereodróttal töltjük fel, akkor 32 csatornás, míg, ha tetródokat használunk, akkor 64 csatornássá alakíthatjuk a mikrodrive-unkat. 64 csatornás esetben vagy két darab 32 csatornás interface lemezt (12A. ábra) vagy egy darab 64 csatornás interface lemezre lesz szükség (12B. ábra).



A második esetben, a 64 csatornás interface lemezhez (12B. ábra) egy 4 rétegű PCB (25mm×23 mm) terveztünk. A PCB lap alján, előre gyártott furatok találhatóak, két soros, 32 pin-s, nagy sűrűségű Preci-Dip mikro-csatlakozók rögzítéséhez. Az interface lap felső részén csak egyetlen lehetőség van az elektródák csatlakoztatására. Ez az interface lemez, hozzá építhető 8 csavaros mikrodrive-hoz, ahol a kis, csúszó lapkák 2 tetródot mozgatnak darabonként, illetve, ha a teljes cylinderű, 16 csavaros mikrodrive-ot választja a felhasználó, akkor 16 egymástól független tetróddal látható el.



13. ábra

*További sokcsatornás elrendezés, szimpla és “emeletes” mikrodrive sematikus képei. A-B: a csatorna maximalizálás érdekében az (A) esetben 64-csatornáig, míg a (B) esetben, az emeletes elrendezésnek köszönhetően akár 128-csatornáig növelhető az elektróda szám. C-*

*D: ábrákon a PCB mikrodrive-ot felépítő elemek kerültek bemutatásra.*

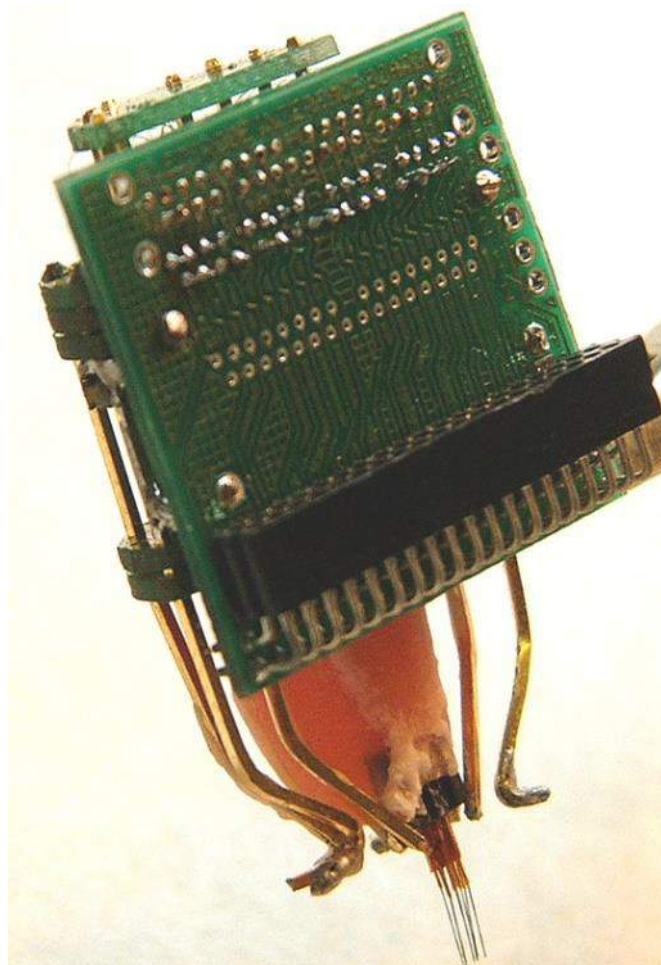
Azt követően, hogy a megfelelő interface lemezt csatlakoztattuk a mikrodrive-hoz, az elektródáink felső végén el kell távolítanunk a szigetelést és forrasztásra alkalmassá kell tenni (13A. B és 14. ábra). Az elektródák beforrasztását sztereomikroszkóp segítségével végeztük. Esetleges alternatívaként szolgálhat, ha az elektródákat speciális, apró nikkell vagy ezüst szemcséket tartalmazó ragasztó (GC electronics, Rockford, IL, USA) segítségével vagy kaktusz pine-kkel rögzítjük az interface lemez megfelelő furataihoz.

A legfőbb előnye ennek az új típusú elektróda interface lemeznek, hogy a lemez a mikrodrive mellett helyezkedik el, valamint, hogy a mikro-csatlakozó sor, ami az előerősítőt rögzíti, a lemez alján található. Ezzel az elrendezéssel, a sokcsatornás előerősítő nem növeli meg a headstage vertikális mértékét, nem nyúlik túl a mikrodrive hosszán, és ezáltal nem fog mechanikus és elektromos artefaktokat begyűjteni a környezetéből. További tény, hogy a mikrodrive-hoz kialakított, 32 csatornás előerősítő (Noted Bt., Pécs, Magyarország, <http://www.users.atw.hu/braintelemeter/headstage-32.htm>), közvetlenül az interface lemez melletti elrendezése, a méretéből adódóan, tökéletes védelmet biztosít az elvezető elektronikának, amit a mikrodrive egésze is tovább növel.

Ez, a mikrodrive oldalán történő elhelyezése az elektróda interface lemeznek, további elrendezésekre ad lehetőséget. Az egyik ilyen lehetséges elrendezés, az egymás tetejére helyezett, két mikrodrive-os változat. Ezt emeletes PCB mikrodrive-nak neveztük el. A 13-s ábra mutatja, miként kellett kissé módosítani PCB dizájnon, hogy elegendő tér maradjon a keresztülfutó szilikon csöveknek (13C és D ábra). Az „emeletes” mikrodrive alsó része a 10B ábra alapján értelmezhető. Természetesen, ebben az elrendezésben szükség van olyan, forrasztási ponttal nem ellátott furatokra, amelyek mind a fő PCB elemeken, mind a kis, mozgatható lapkákon megtalálhatók. Az „emeletes” PCB mikrodrive nem

jelenti azt, hogy a kereskedelemben kapható mikrodrive-oknál magasabb, sokkal inkább a moduláris PCB mikrodrive dizájnban rejlő lehetőségeket mutatja be.

A PCB mikrodrive műtéti implantációja során a távtartóhoz további távtartó forrasztható hozzá, mely így megnöveli a teljes méretet. Ez a távtartó segítségével a mikrodrive kényelmesen rögzíthetővé válik a sztereotaxikus célzó eszközhöz, amellyel a pontos implantáció végrehajtható, majd a műtét befejeztével egyszerűen lecsíphető. A koponyacsontba fúrt csavarok fogászati akrilláttal történő fixálása lehorgonyozza a mikrodrive-t és ezzel erős mechanikai rögzítést alakítunk ki. A célterület felett további furatot képezünk, keresztül a csonton, valamint az agyhártyát is eltávolítva. Mindezeket természetesen, preparáló mikroszkóp segítségével hajtjuk végre.



14. ábra

*8 tetród elektródával feltöltött mikrodrive képe (további részleteket lásd alább a szövegben)*

A 14-s ábra egy 32 csatornás, PCB mikrodrive-ot mutat be, implantációt megelőzően. **Magasság: 4,5 cm; tömege: 7,5 g.** A vastag szilikon csövek felső részét és a hosszú távtartók alsó részén kialakított hajlított végeit, az akrilátban rögzítjük. Az elektróda köteget a vizsgálni kívánt agyi régióba süllyesztjük, majd a szabadon maradó agyfelszín az elektródákkal, továbbá a vékony és vastag szilikon csöveket együttesen, lefedjük paraffin: paraffin olaj 1:1 arányú keverékével, melyet előzőleg felmelegítettünk 56 °C-ra. A szobahőmérsékleten megkeményedő keverék megvédi az elektróda kötegünket a külső sérülésektől, miközben könnyed mozgást biztosít a kapillárisok számára. Később, több rétegben fogászati akrilátot viszünk fel a koponyatetőre, amelybe a hosszú távtartók alsó része is belekerül. A mikrodrive-ot és a csatlakozó sort micropore ragasztószalaggal fedjük le.

**A PCB mikrodrive újra felhasználható**, mivel csak a hosszú távtartók alsó részét és a vastag szilikon csöveket ágyasztuk be akrilátba. Az akrilát feloldható kloroformban, valamint a hosszú távtartók azon része, amely az akrilátban maradt, egyszerűen lecsípjuk és egy kisebb darab rudazatot hozzáferrasztva, újra felhasználhatóvá válik a mikrodrive. A vastag szilikon csövek kicserélését követően, a mikrodrive újra feltölthetővé válik vékony szilikon csövekkel, amelyekben az elektródjaink találhatóak.

### **5.1.3 Módszertani eredmény diszkussziója**

A legfontosabb módosítás a modernizált PCB mikrodrive verzió, az elektróda mozgására szolgáló, kis, csúszó PCB lapok alkalmazása, melyeket hatszögű csavaranyához kell forrasztani. Az eredeti PCB mikrodrive dizájnban, a csavaranyák elfordulhattak, annak megfelelően, hogy a csavart merre mozdították

meg. A felújított változatban, a kis PCB lapkák csak fel és le képesek mozdulni. A hexagonális formájú csavaranyák mozgatják ezeket a kis lapokat, mivel egymáshoz vannak forrasztva. Távtartó rudak futnak keresztül, a kis PCB lapokon elhelyezett apró furatokon. Ennek köszönhetően, a kisméretű PCB lapkák rotációja valamely irányba teljes mértékben lehetetlen, ami azt eredményezi, hogy a lapok a csavaranyákkal együtt rá vannak kényszerítve, hogy csak fel vagy le mozoghassanak. A tökéletesített stabilitás elérésével a mikrodrive elektróda mozgó mechanizmusában, egyértelmű előnyt kölcsönöz az eszközünknek a krónikus unit regisztráció során, szabadon mozgó állapotban.

További előnye ennek az új PCB mikrodrive dizájnnek, hogy nem csak egy, hanem kettő flexibilis szilikon kapillárist lehet rögzíteni egy mozgó PCB lapkához. Ez a felhasználási lehetőség számos kísérleti szituációban megoldást jelenthet, például, ha a célterület ugyan egy bizonyos rétegre terjed is ki, azonban a lokális mező potenciálok (lokális EEG) regisztrációját a célterület feletti vagy alatti zónából kellene rögzíteni. Ez az elrendezés (két tetród mozgat egy csavart) szükséges néhány „place” sejt regisztrálásakor, mint például O’Keefe eredeti drive dizájnja esetében is előfordult (Huxter et al., 2003). Olyan esetekben, amikor vertikális eltérés van két elektróda hegye között, jó alkalom nyílik arra, hogy a magasabban végződő elektródák éppen az adott célterületből gyűjtsék az adatokat, míg a mélyebben végződő elektródák már túl is jutottak ugyanazon a rétegen.

További újdonsága ennek a PCB mikrodrive elrendezésnek, hogy komoly mértékben alkalmaz szilikon kapilláris csöveket. Két eltérő átmérőjű szilikon kapilláris csövet használtunk fel a drive-unk felépítése során, ahol a vékonyabb szilikon csövet könnyen bele lehet vezetni a vastagabba, amelyben akadály nélkül képes mozogni. Ezért a vastag szilikon kapilláris védi a mozgó szilikon kapillárisokat, amelyek a tetród elektródáinkat tartalmazzák. Emiatt nincs szükség speciális elektróda vezető rostélyra. A vastag szilikon csövekből szabadon

kialakítható a célterület feletti szimpla köteg vagy akár több célterület szimultán elérésére is lehetőség nyílik ezzel a megoldással, akár szálanként is. A vékony szilikon csövek használatának is számos előnye van. A sok-csatornás elektróda elrendezés jelszint csökkenést eredményez, ha só oldat veszi körül a szigetelt elektródákat, nagy felületet lefedve, valamint akkor, ha az elektróda szigetelése kevesebb, mint 10-30  $\mu\text{m}$  vastagságú (Gross, 1979). Ennek elkerülésére megoldást jelent, ha a szilikon csövek végeit egy csepp ragasztóval lezárjuk. Ebben az esetben a só oldat nem tud bejutni az elektródák környezetébe és így ez a jelcsökkenést előidéző söntölő kapacitás elhanyagolhatóvá válik, és emiatt a megfelelő jelátvitel biztosított lesz.

A hosszú, vékony szilikon kapillárisok, melyek túl nyúlnak a mikrodrive-on, rendkívül sérülékenyek. Ennek kivédésére terveztük a lezáró PCB lapot, amivel ezeket a sérülékeny csöveket az elektródáinkkal, meg tudunk védeni. A másik lehetősége a szintben eltérő magasságban végződő elektródáknak, hogy két, eltérő szinten csatlakoztathatók az interface laphoz. Ez az újratervezett interface lapnak köszönhető. További nagy előnye még, hogy az interface lap a mikrodrive oldala mentén csatlakozik, továbbá, hogy számos, forrasztási ponttal ellátott furatot tartalmaz az elektródák számára. Ezek a csatlakozási pontok összeköttetésben állnak a lemez alján található, szintén forrasztásra előkészített furatokkal, melyekbe egy vagy kétsoros, 32 pin-s, nagy sűrűségű mikro-csatlakozó helyezhető.

A legfőbb előnye ennek az általunk újra tervezett interface lemeznek, hogy a mikrodrive oldalához csatlakoztatható a sok-csatornás előerősítő, ami ezáltal nem növeli meg vertikálisan a headstage méretét. Emiatt, az előerősítő nem gyűjt be mechanikai vagy elektromos artefaktokat, továbbá az interface lap és a mikrodrive maga is, komoly mechanikai védelmet biztosít az előerősítőnek.

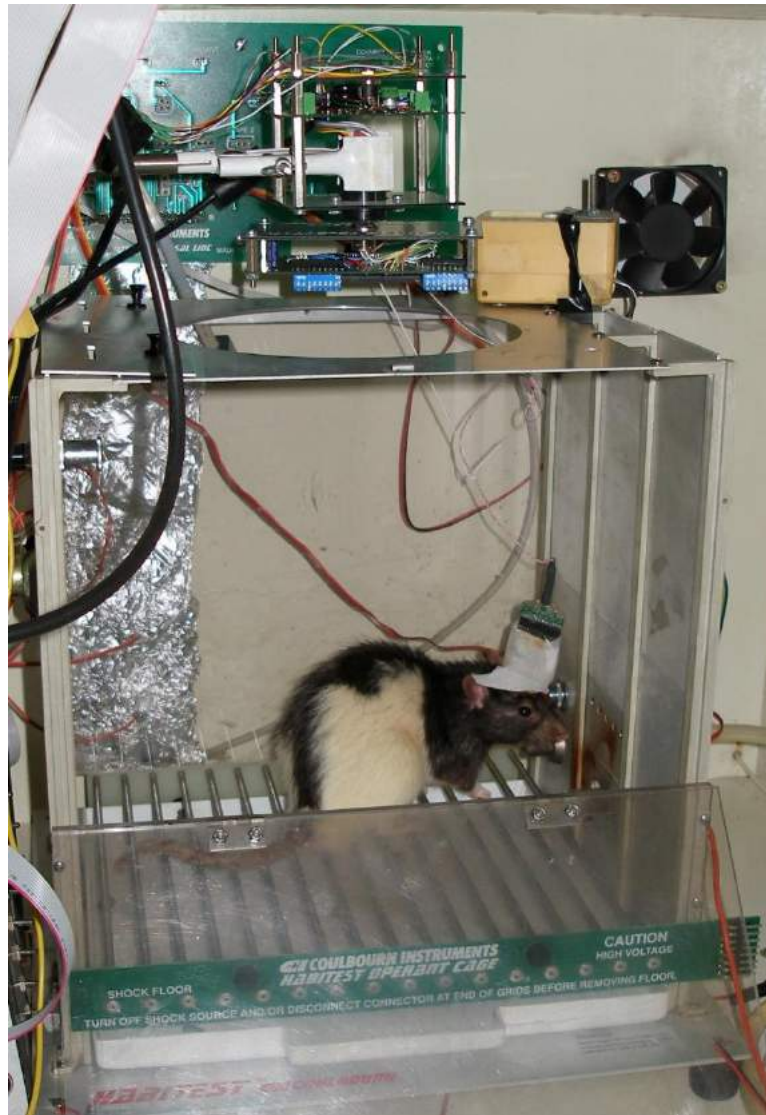
Még további előnye ennek az új interface lap elrendezésnek, hogy lehetőségessé vált az „emeletes”, egymás fölé épített mikrodrive kialakítás. Kisebb átalakítással

a PCB mikrodrive két szintessé tehető, ami egy nagyon elegáns igazolása a moduláris PCB mikrodrive dizájnban rejlő további lehetőségeknek.

Összefoglalva a PCB mikrodrive felépítésben rejlő lehetőségeket: olyan előre gyártott PCB kit kialakítása volt a cél, amelyből bárki képes egy roppant precízen működő sok-csatornás mikrodrive-ot összeállítani. A nagyfokú pontossága abban rejlik a PCB mikrodrive-oknak, hogy a PCB elkészítése során igen magas fokú gyártási precizitást követelnek meg. Másrészt, a PCB kit-ből történő mikrodrive összeszerelés, igen könnyű, amely nem igényel különleges képességeket vagy rendkívül speciális eszközöket sem.

*Az általunk kifejlesztett mikrodrive előnyei összefoglalva a következők: rendkívül kompakt szerkezet, újrahasznosítható, azonban a különféle vizsgálatok eltérő igényeinek megfelelően könnyen adaptálható kivitel. Méretei és tömege, egy kifejlett patkány számára nem korlátozó tényezők (15. ábra).*



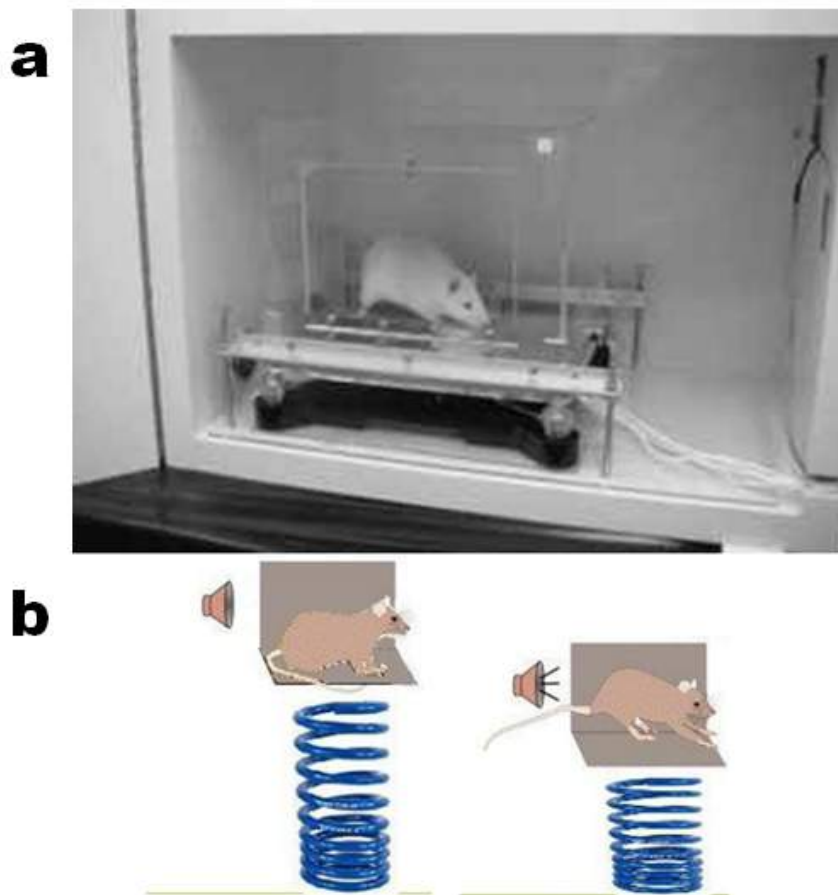


15.ábra

*32-csatornás mikrodrive a hozzá tartozó előerősítővel. Jelen kísérletben 2 krónikusan beültetett tetród/8 csatornás elvezető elektróda került behelyezésre a kísérleti állat amygdalájába, valamint az agykamrába történő transzmitter beadásra szolgáló mikrokanül. Az elvezető rendszer további része: 32-csatornás előerősítő, amihez egy 8 csatornás szelektor és a hozzá kapcsolódó 8 csatornás elvezető rendszer csatlakozik.*

## 6. 3D fejgyorsulás mérő eszköz

A motoros válaszok precíz, időbeli mérése rendkívül releváns számos idegtudományi kutatás során, főként ott, ahol elektrofiziológiai vizsgálat is folyik. A miniatűr gyorsulásmérő szenzorok használatával pontosan detektálhatóvá válik az állati viselkedés, továbbá az adott válasz mértéke is. Ennek eredményeként rendkívül jól hasznosítható eszközt biztosít a szabadon mozgó, laboratóriumi kisállatok magatartásának méréséhez.

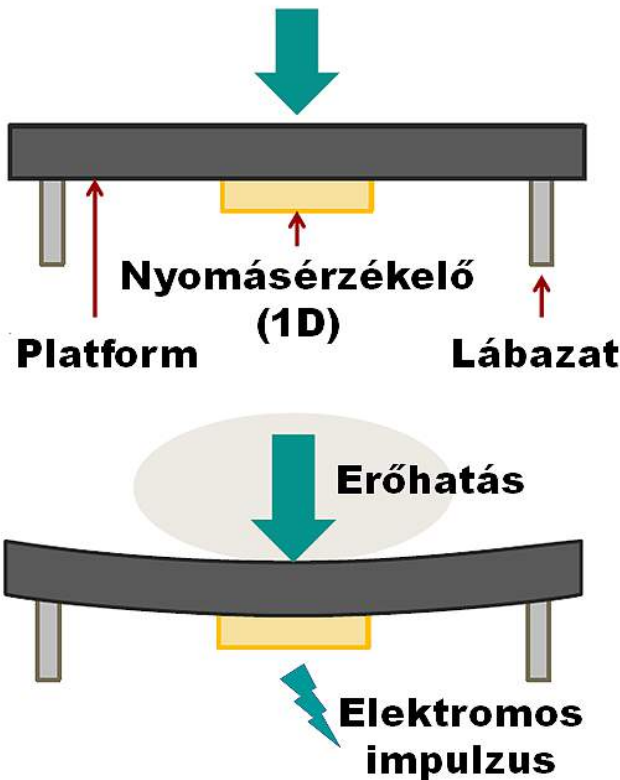


16. ábra

*Hagyományos, 1-csatornás startle mérőeszköz: a. Hagyományos startle chamber felépítése; b. a megrezzenés mérésének elvi vázlatja*

A hagyományos megrezzenési reakció mérésének elvét mutatja be a 16. ábra. A rendkívül gyors, reflexes válasz regisztrálásánál 1 ms felbontóképességű, erősített és digitalizált jelből állapítják meg a megrezzenés mértékét. A startle motoros

komponense követeli meg a magas frekvencia értéket (1000 Hz mintavételi frekvencia) és az analóg-digitál konverzió magas dinamika tartományát (12-bit). Az általánosan használt startle mérőeszközök alapjául egy erőmérő vagy gyorsulásmérő szenzort alkalmaznak.



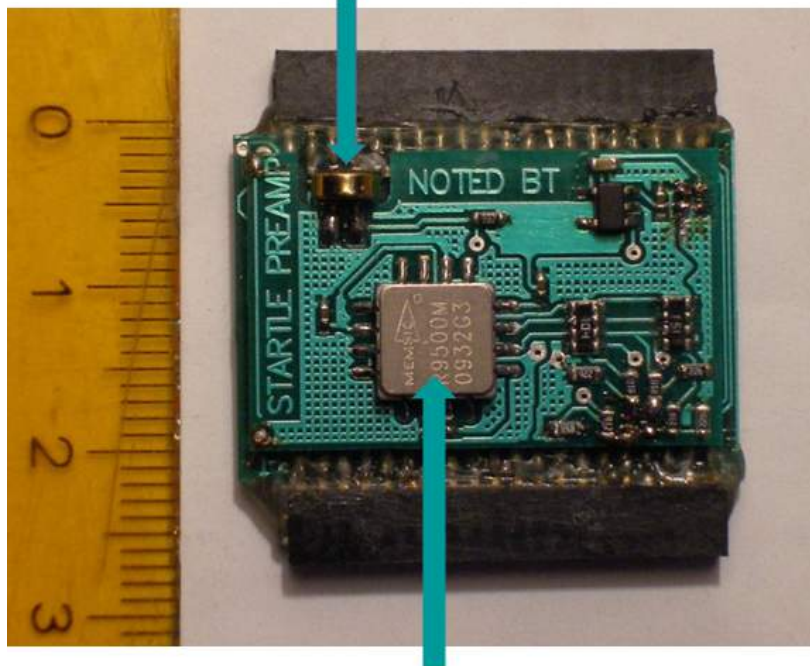
17. ábra

*Hagyományos, erőmérésen alapuló mérőrendszer sematikus felépítése*

A hangszigetelt dobozban elhelyezett plexi lapra kerül a kísérleti állat (16. és 17. ábra). Az állat normál viselkedését jelentős mértékben korlátozzák, mivel a szabad mozgás során jelentősen eltérő nagyságú megrezzenési válaszokat lehetne rögzíteni. A megrezzenés regisztrálásánál az ingerlést követő 100-200 msec-os időablak adatait tekintik mérvadónak a reakció szempontjából.

Ezeket a problémákat figyelembe véve Kutatócsoportunk kialakított egy a PCB mikrodrive-hoz illeszthető 3D gyorsulásmérésen alapuló, startle reakció mérésére alkalmas eszközt.

## Mikrofon



## 3D gyorsulásmérő szenzor

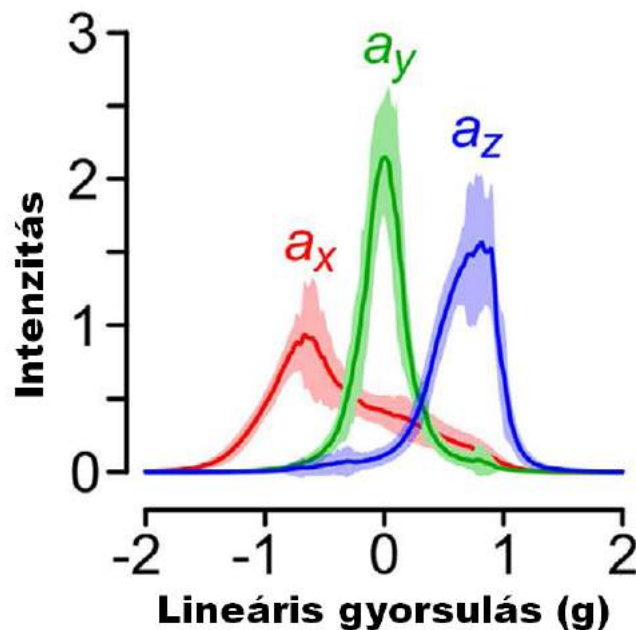
18. ábra

*28-csatornás miniatűr előerősítő, hozzácsatolt 3D gyorsulásmérő, valamint hozzá illesztett mikrofon (Noted Bt., Pécs).*

Az eredetileg 32 csatornás előerősítővel egybeépített gyorsulásmérő eszköz az előzőekben említett 1000 Hz-s rezolúció mellett 24 bit-s analóg-digitál konverzióval működik (18. ábra). A 32 jelátviteli csatornából 4 csatornát „feláldoztunk” a 3 csatornás gyorsulásmérő és a mikrofon számára. A mikrofon segítségével a hanginger kezdeti pillanata nagy pontossággal regisztrálhatóvá vált, amit triggerként fel is használtunk az eredményeink későbbi kiértékelése során.

A miniatűr gyorsulásmérő szenzorral felszerelt, 28-csatornás előerősítő egy olyan lehetőséget biztosít a számunkra, hogy a tér három irányába történő fejjgyorsulásokat rendkívül precízen képesekké váltunk mérni. A pontos, 3 irányú mérésen kívül, az ingerlés kezdetét jelző időpillanatot („timestamp” adat) is nagy precizitással tudjuk meghatározni, a mikrofonsáv segítségével. Az általunk

kifejlesztett eszközt különböző kísérleti szituációkban teszteltük, mint Pavlovi kondicionálás (Petyko et al., 2015), megrezzenési reakció (Toth et al., 2017) során.



19. ábra

*Fej lineáris gyorsulási értékének átlagolt eloszlása, szabadon mozgó, Pavlovi-félelmi kondicionálás során. A tér irányainak megfelelő átlag értékek ( $a_x$ ,  $a_y$  és  $a_z$ ) a gravitációval arányos kölcsönhatás mértékét fejezi ki. (Pasquet et al., 2016)*

Pasquet és munkatársai hasonló eredményre jutottak, mint a később általam is bemutatandó fejgyorsulási eredményeink (19. és 22. ábra). A 3 komponens, ami a tér 3 irányából származó gyorsulási tényező, illetve az általuk kifejlesztett kiértékelő szoftver segítségével, a kísérletük során alkalmazott fejmozgásokkal még pontosabb képet alkothattak a Pavlovi-félelmi kondicionálásra adott magatartás vizsgálata során. A szerzők kihangsúlyozzák a térbeli adatok fontosságát, amivel számos egyéb viselkedési paradigma során még érthetőbbé teheti azoknak az értelmezését.

Mindezek alapján kijelenthetjük, hogy az általunk kifejlesztett 3D gyorsulásmérővel ellátott előerősítő, amelyet a megrezzenések során kialakuló fej gyorsulások mérésére hoztunk létre, egy olyan objektív mérési módszer, ami a

krónikus, szabadonmozgó patkányok megrezzenési válaszána k mérésérét sokkal precízebben végzi el, mint a korábban alkalmazott módszerek.

## **7. Elektrofiziológiai eredmények**

### **Megrezenési reakció: A mPFC-ből történő unit aktivitás analízise**

Ebben a fejezetben azokat az eredményeket ismertetem, amelyek az előzőekben vázlatosan bemutatott elvezető rendszer, illetve a részletesen leírt mikrodrive előnyeire épülő egy-sejt aktivitás regisztrálása megrezenési reakció során, szabadon mozgó kísérleti állatokon történt.

#### **7.1 Anyagok és módszerek**

##### **7.1.1 Kísérletben felhasznált állatok**

3 db felnőtt, 4-8 hónapos, hím, Wistar patkányt (súlyuk 400-450g) használtunk a kísérleteinkhez. A szakirodalom alapján választottuk a kísérleteinkhez a Wistar törzsbe tartozó állatainkat (Varty and Higgins, 1994). Az állatokat külön ketrecekben tartottuk, 12 órás nappali és 12 órás éjszakai ciklusban (a nappali időszak reggel 6-tól indult). A hőmérsékletet ( $24 \pm 2$  C-fok) és a páratartalmat az állatoknak legideálisabb szinten tartottuk. Állataink táplálására standard laboratóriumi szilárd tápot adtunk (Charles River Laboratories, Budapest, Hungary), valamint az igényeiknek megfelelő mennyiségű csapvizet kaptak. A súlyukat naponta ellenőriztük. Az állatainkat az intézeti, nemzeti és nemzetközi sztenderdeknek megfelelően tartottuk a kísérlet teljes időtartama alatt (BA02/2000-8/2012, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvosi Kar; XXVIII törvény, 1998, Magyarország). Kísérleteink során törekedtünk arra, hogy az állatok számát, illetve a kutatások során esetleg fellépő fájdalmat redukáljuk.

### **7.1.2 Elektróda beültetés**

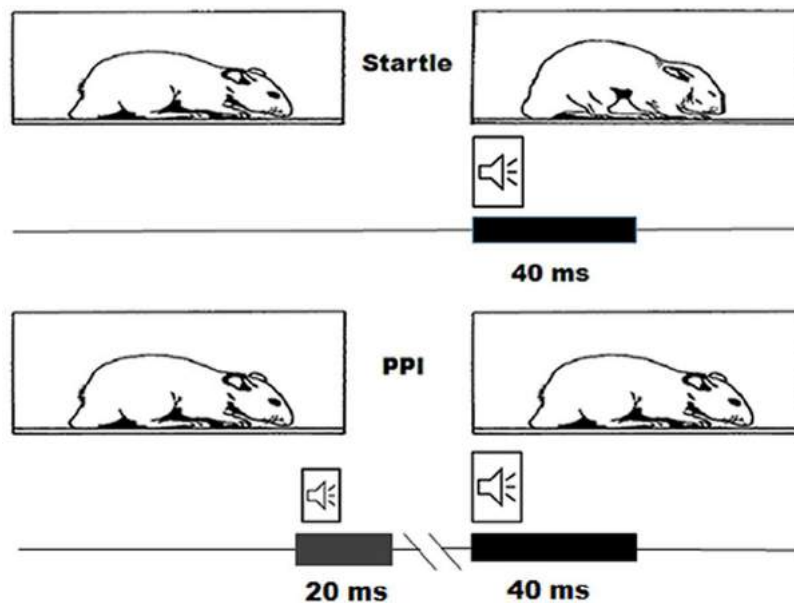
Mielőtt a viselkedési vizsgálatok elkezdődtek, nyomtatott áramköri lapokból (PCB) álló, általunk kifejlesztett, a megrezzenési reakció szélsőséges elvezetési körülményeire is tökéletesen alkalmazható mikrodrive-ot készítettünk, amelyet 8 db tetróddal töltöttünk fel. Az elektródákat sztereotaxikus úton juttattuk a PFC mediális részébe (Toth et al., 2007, Petyko et al., 2009). Az állataink altatásához nátrium-pentobarbitál oldatot (60 mg/kg Nembutal, Phylaxia-Sanofi, Magyarország) alkalmaztunk, melyet i.p. fecskendeztünk az állatainkba, atropin (2 mg/kg EGIS, Magyarország) hozzáadásával. A fejtetről eltávolítottuk a bőrt és a koponyacsontba csavarokat helyeztünk, hogy stabilizálja a drive-unkat. Az egyik csavart felhasználtuk, mint földet és egy másikat pedig referencia elektródként alkalmaztunk. A fogászati fúróval készített csontfuratba pozicionáltuk a PCB mikrodrive elektródjait, még pedig úgy, hogy a mikromanipulátoron az mPFC középső értékét vettük (AP: 2,7 mm a bregmától előre és ML: 0,8 mm oldalsó irányba, a Paxinos és Watson-féle patkány agy atlasznak megfelelően) (21. ábra). A vékony szilikon csövek, mint vezető csövek szolgálták a tetródjaink számára, melyek segítségével az elektródáink hegye az mPFC felszíne felett helyezkedtek el. Az összes tetródukat a prelimbikus régió feletti területig süllyesztettük le.

### **7.1.3 Magatartási vizsgálatok és felszerelések**

A magatartási folyamatok és az ezzel párhuzamosan végzett unit aktivitás regisztrálása a műtétet után, 2 hetes felépülési időszakot követően kezdődött el. A vizsgálatok egy hangszigetelt, 40x40x40 cm-s, operáns dobozban zajlottak, az állatok nappali ciklusa alatt. Az auditoros ingereket egy kettős, piezo kristályos hangszóró szolgáltatta (MPT-177), melyet a doboz felett helyeztünk el. A távolság a hangforrás és a patkány feje között 60 cm volt. Két különböző típusú



hangot alkalmaztunk a kísérleteink során. Az első a megrezzenést/startle-t kiváltó hang (startle impulzus) volt önmagában (120 dB-s zaj, melynek az időtartama 40 ms), a második a prepulzív és megrezzenést kiváltó zaj együttesen (prepulzív+startle impulzus; ahol a prepulzív inger 75 dB intenzitású, 20 ms időtartamú zaj volt, továbbá a két akusztikus inger közötti idő intervallum pedig 160 ms hosszú volt) (20. ábra).



20. ábra

*A kísérleti elrendezés sematikus ábrája a startle és PPI során. A megrezzenést kiváltó hanginger egy 40 ms időtartamú, 120 dB-s zaj, míg a prepulzív inger egy 20 ms hosszú, 75 dB-s zaj volt. A PPI során a két hanginger közötti időintervallum 160 ms.*

A hangnyomás mértékét validált hangerősség mérő (ExTech EN300) készülékkel mértük meg. Továbbá, a vizsgálatokat 5 perces akklimatizációs időszak indította, ami az általánosan elfogadott PPI paradigmáknak felel meg. A teljes vizsgálati időszak alatt 65 dB-s háttérzajt generáltunk, a külső, esetleges zajok maszkolása miatt. Az 5 perces időszakot legalább 48 db különböző ingert tartalmazó periódus (24-24 startle és prepulzív+ startle) követte. A vizsgálatokhoz az első 24 hangingert vettük figyelembe. Az ingerek közötti időintervallumok, random 30-

150 másodperc között változtak. A vizsgálat teljes időtartama 9 napra tevődött, azonban az egyes vizsgálatok között legalább 1 nap szünet szerepelt. A magatartási változók, valamint a különböző hangingerek végrehajtásának ellenőrzését és regisztrálását a LabCommander programmal (Noted Bt., Pécs, Magyarország) végeztük. A hangingereket számítógépes programmal generáltuk, majd egyszerű hang fájlként (.wav) játszottuk le az állatainknak, felhasználva a számítógép hangkártyáját erre a célra.

A neuronális aktivitások regisztrálására szolgáló elektrofiziológiai rendszer a következőkből épült fel: kisméretű 32 csatornás előerősítő (Noted Bt., Pécs, Magyarország), az általunk kifejlesztett PCB mikrodrive, amelyhez úgy nevezett „interface” – csatlakozó lemezen keresztül jut az előerősítőhöz az elektródákról a jel. Az előerősítő tartalmazott egy 3D gyorsulásmérő szenzort, mely a megrezzenés mértékének mérésére szolgál, a fej 3 irányba történő mozgásának mérése által. Továbbá egy mikrofont, mely segítségével rögzíteni tudtuk az általunk alkalmazott hangingereket, így segítve az adat analízist. Az elektródák helyzetét a mikrodrive csavarjainak pontosan feljegyzett adatai alapján a szövettani adatok birtokában voltunk képesek rekonstruálni. A 32 csatornán (8 tetród) keresztül az idegi aktivitásokat széles sávú jelként (0,1 Hz-10 kHz) folyamatosan regisztráltuk a magatartással kapcsolatos TTL jelekkel együtt, 32 bites formátumban. Az adatgyűjtő rendszer további tagja egy 24 bites 64 csatornás alacsony feszültségű ( $\pm 1,5$  mV) AD konverter (LVC-64, Noted Bt., Pécs, Hungary). Az elvezetett és rögzített jeleket offline módban, digitálisan szűrtük (0,8-5 kHz). Automatikus küszöb detektálást végeztünk, melynek eredményeként kigyűjtöttük az unit aktivitásokat („power” 5-ször nagyobb, mint az alapvonal standard deviációja). A még pontosabb analízis elérése végett Bankman és munkatársai (1993) által kifejlesztett kétszeres (37,5 kHz) mintavételi frekvenciával újra mintavételezve az adatainkat, úgynevezett csúcs szinkronizálást hajtottunk végre (Csicsvari et al., 1998). Az unitok általában a

tetród mind a négy elektródáján megjelennek, különböző amplitúdójú hullámként. A csatornánként kapott hullámok mindegyikénél meghatároztuk az adott hullám első három principális komponensét. Így minden unithoz tartozik egy 12 dimenziós (4 elektróda/tetród x 3 principális komponens), úgy nevezett „feature” vektor (Abeles and Gerstein, 1988, Csicsvari et al., 1998). Az így kapott vektorok alapján egy automatikus klaszter analízis program válogatta szét az általunk kapott unitokat (Klustakwik szoftver; (Harris et al., 2000)). A továbbiakban, egy grafikus klaszterező program segítségével ellenőriztük az így kapott eredményeket, amelyet az osztályozásnál fellépő két csoportosítási hibát figyelembe véve [1. adott klaszter több idegsejttől származó unit aktivitást tartalmaz, 2. az adott sejtből származó idegsejt válaszok több különböző klaszterbe kerülnek („túl klaszterezés”)], még pontosabbá tehattünk. Ezeket a hibákat a Klusters szoftver (Hazan et al., 2006) használatával oldottuk meg. Egy adott sejt aktivitásának csak azokat a válaszokat fogadtuk el, amelyek „autokorrelogrammja” rendelkezett egy minimum 3 ms-os vagy annál nagyobb abszolút refrakter periódussal (elsődleges klaszterezési hiba elkerülése). A másodlagos klaszterezési hibát oly módon tudtuk kiküszöbölni, hogy az auto- és kereszt-korrelogrammokat összevetve, valamint a jelalakok közötti hasonlóság alapján megállapíthatóvá vált, ha a két vagy több klaszter összetartozó.

Az adatgyűjtő rendszerhez tartozott még egy 32 csatornás jelgenerátor (Mathe et al., 2007), mellyel a rendszerben fellépő hibák tesztelését végeztük. Ennek az eszköznek a használatával képesek voltunk a „zajos” (alacsony jel/zaj viszony) csatornákat kiszűrni.

#### **7.1.4 Adatelemzés**

A vizsgálataink során alkalmazott ingerek (megrezzenés/startle önmagában és prepulzív + megrezzenést kiváltó inger) során, 250 ms-al az inger kezdetének pillanata előtti és azt követő időszakban, a fejmozgások adatait a 3D

gyorsulásmérő segítségével regisztráltuk. A kapott adatok átlagolása után a maximális amplitúdójú fejmozgásokat offline értékeltük ki, ahol az analízishez t-tesztet alkalmaztunk. A szignifikancia szintet  $p < 0,05$  értéknél határoztuk meg.

Adatainkat offline elemeztük. A legfontosabb információk, melyet egy neuron válaszával kapcsolatban megállapíthatunk, az idegsejt időbeli aktivitásával függ össze. Ennek a megjelenítésére a legmegfelelőbb az úgy nevezett „raster plot” és az esemény körüli időhisztogramok („peristimulus time hisztogramm, PSTH). Az adataink grafikus megjelenítését és statisztikai elemzését Matlab szoftver, valamint linux shell script file-ok segítségével végeztük. A hisztogramok kialakításához 24 egymást követő ingert vettünk alapul. A PSTH-k nulla időpillanatának a két féle akusztikus inger, a megrezzenést/startle önmagában, illetve a prepulzív + megrezzenést kiváltó inger, PPI során, a startle inger, valamint a prepulzív inger kezdete szerepelt. A különböző neuronok válaszait ezekhez a pillanatokhoz viszonyítottuk. Az így kapott idegsejt aktivitások megfeleltethetővé váltak a viselkedési válaszokkal. Az egyes idegsejtek alapaktivitásának meghatározásához egy -4 – -2 másodperces időintervallum során regisztrált, a megrezzenést kiváltó inger előtti válaszokat vettük figyelembe, mivel a neuron tüzelési mintázatában bekövetkező eltérések összefüggésben álltak a prepulzív inger jelenléte és az éppen folyó magatartási folyamatokkal. Teszt periódusként, mindkét inger típus esetében (megrezzenést/startle kiváltó inger önmagában; prepulzív + megrezzenést kiváltó inger, PPI), a startle inger kezdete előtti és utáni 2 másodperces (-2 – 2 s) időintervallumban detektáltuk, az alapaktivitáshoz képest szignifikáns idegsejt aktivitási eltéréseket. A PSTH megjelenítésénél használt „bin” szélesség 20-200 msec volt. Minden „bin”-hez meghatároztunk egy z-értéket feltételezve, hogy az elvárt tüzelési frekvencia (kontroll periódus alapján) Poisson eloszlást mutat. Amennyiben a teszt periódus alatt a z-érték legalább 3 egymást követő „bin”-ben  $\geq 2,36$  vagy  $\leq (-2,36)$ , akkor a neuront az adott eseményre válaszolónak tekintettük  $p < 0,01$  szinten (Totah et al.,

2009). Egyutas ANOVA-t végeztünk idő és „trial”-típus faktorokkal. Szignifikáns hatásnak azt fogadtuk el, ha  $p < 0,01$  érték volt. Amennyiben szükséges volt Tukey HSD tesztet alkalmaztunk post hoc tesztnek, ahol a  $p < 0,05$  szignifikancia szintet határoztuk meg az összehasonlított tényezők különbségeinek elkülönítésére.

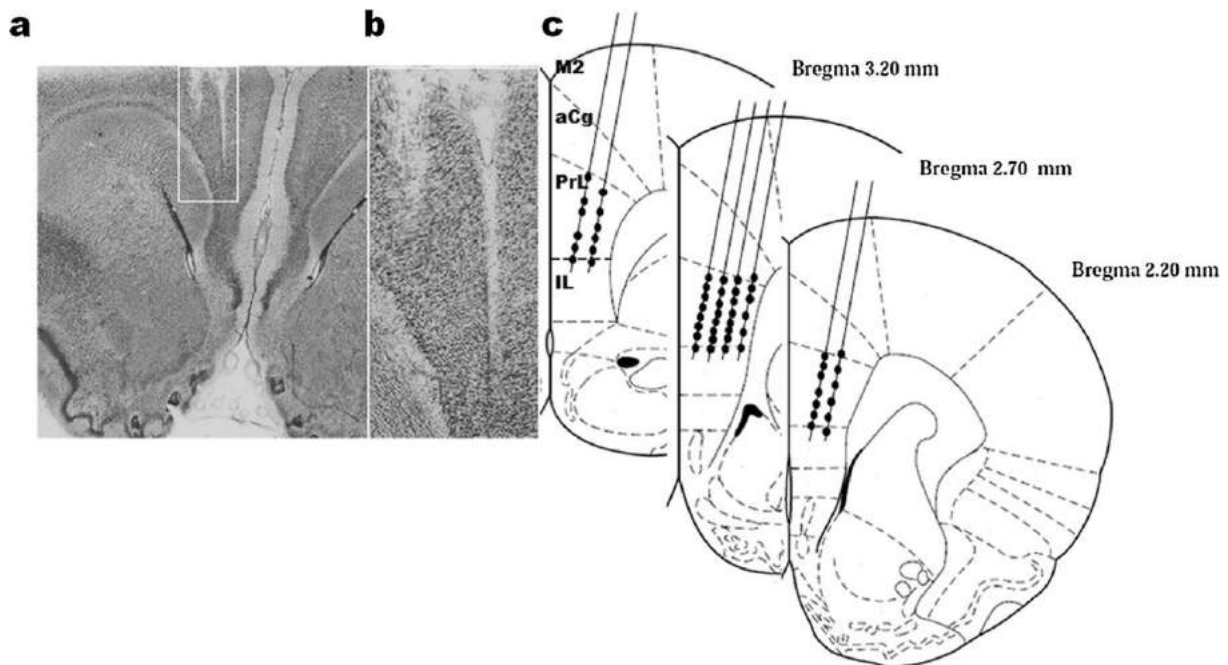
### **7.1.5 Szövetteni értékelés**

A kísérletek végén a patkányokat urethannal (3 g/kg) túlaltattuk, transcárdialisan 10%-os foszfát bufferelt formalinnal perfundáltuk. A perfúziót követően az agyakat a koponyából kivettük és a perfúziós oldatban hagytuk, legalább 1 hétre. Ötven  $\mu\text{m}$  vastagságú, koronális metszeteket készítettünk mikrotómmal. A releváns területeket tartalmazó szeleteket tárgylemezre rögzítettük. Ezt követően, toluidinkék festést alkalmaztunk az elektródák nyomának lokalizációja céljából. A festett metszeteket lefényképeztük, majd ezek alapján az elektródák pozícióját és az elvezetési helyeket rekonstruáltuk (Nikon Optiphot2).

## 7.2 Elektrofiziológiai mérési eredmények

### 7.2.1 Szövettan

A nyolc "tetród" elektróda a Bregma ponthoz viszonyított anterior-posterior 2,2-től 3,2mm-ig terjedő tartományban volt Paxinos és Watson atlasza szerint (Paxinos és Watson, 1996) (21. ábra). A rekonstruált elvezetési helyeket a 3. ábrán láthatjuk. Valamennyi elvezetési hely a prelimbic area (PL) III-IV rétegeiben volt vagy az anterior cingularis area (aCg) és a PL határán. (Bregma AP: 2,2-3,2; DV: 3,2-4,4; ML: 0,45-1,1).



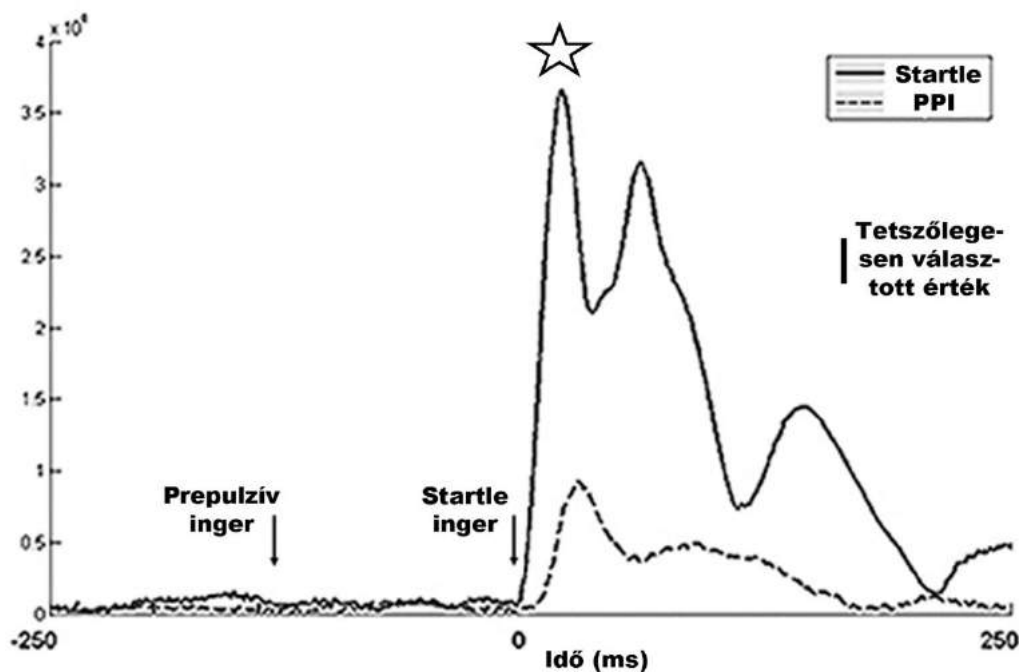
21. ábra

*Tetród elektródák szúrcsatornái és elvezetési helye. Az a. és b. ábra szövettani metszet, melyen az elektródák track-je látható; c. ábra összesíti a kísérlet során történt elvezetési pontokat. A három implantált patkány szúrcsatornáit frontális metszetekre vetítettük (Paxinos és Watson, 1996). A szúrcsatornák maximális anterior-posterior eltérése 0,5 mm volt. Az elvezetési helyeket jelölő pontokat mikroszkópos elemzés alapján rekonstruáltuk, figyelembe véve az elektródák mozgását. Valamennyi elvezetési hely a Bregma AP:*

2,2–3,2; ML: 0,45–0,11; DV: 3,2–4,4 tartományban volt (Paxinos és Watson, 1996) aCg, anterior cingularis cortex; IL, infralimbicus cortex; M2, másodlagos motoros cortex; PL, prelimbicus cortex.

## 7.2.2 Fejgyorsulás mérés startle és PPI alatt

A megrezzenési válasz kvantitatív mértékének meghatározására a legalkalmasabbnak a fejgyorsulás mérés tűnik. A maximális amplitúdójú fejmozgás a megrezzenést kiváltó inger kezdetét követő 100 ms-os időintervallumban volt megfigyelhető. A prepulzív inger 160 ms-al előzte meg a startle inger kezdetét. (22. ábra).



22. ábra

Fejgyorsulási adatok összehasonlítása startle és PPI alatt. A reprezentatív fejgyorsulási görbéken a folytonos vonallal a startle önmagában ingerre adott fejgyorsulási választ, míg a szaggatott a PPI-re adott választ reprezentálja. A prepulzív inger 75 dB intenzitású, 20 ms időtartamú zaj (kezdetét nyíl jelöli). A második,



*megrezzenést/startle-t kiváltó hang impulzus egy 120 dB-s 40 ms időtartamú zaj (t=0: a startle kezdete, illetve nyíl jelöli). A maximális fejgyorsulás a startle ingert követő 13-18 ms-os intervallumban volt megfigyelhető. Szignifikáns különbség figyelhető meg, a két kísérleti esemény során, melyet (Tukey-féle HSD teszt) bizonyítottunk ( $p < 0,05$ , csillag jelzi a szignifikáns eltérést).*

Az ábrán látható adatokból kitűnik, hogy az előre jelző, prepulzív inger nem váltott ki megrezzenési választ. A két különböző kísérletes esemény (startle és PPI) megrezzenési válaszához tartozó fejgyorsulási válaszok csúcsainak az összehasonlítása alapján szignifikáns eltérést ( $p < 0,05$ ) mutattunk ki. Az egyes kísérleti felálláshoz tartozó fejgyorsulási adatok átlagaiból látható, hogy a 13-18 ms-os időintervallumban a megrezzenést kiváltó inger önmagában nagyobb választ eredményezett, mint a PPI ingerlés során (22. ábra).

### **7.2.3 Idegsejt válaszok**

Az általunk detektált 287 mPFC neuron válaszából 146 idegsejt válasza változott meg szignifikánsan legalább az egyik ingerlési kondíció során ( $|z| > 2,36$ ;  $p < 0,01$ ). A legtöbb neuron mindkét ingerlés típusra (megrezzenést kiváltó/startle inger önmagában és prepulzív+startle inger) válaszolt, azonban azon sejtek, amelyek tüzelési mintázata a prepulzív+startle ingerre megváltozott, azok közül mindegyik a megrezzenést kiváltó ingerre önmagában is reagált.

**Regisztrált egy-sejt aktivitások (startle önmagában; prepulzív+startle ingerlés alatt)**

	Rövid válasz időtartamú	Közepes válasz időtartamú	Hosszú válasz időtartamú
<b>Startle önmagában:</b>	<b>49</b>	<b>18</b>	<b>79</b>
<b>Excitátoros</b>	<b>49</b>	<b>18</b>	<b>62</b>
<b>Inhibítoros</b>			<b>17</b>
<b>Prepulzív+startle:</b>	<b>29</b>	<b>13</b>	<b>25</b>
<b>Excitátoros</b>	<b>29</b>	<b>13</b>	<b>7</b>
<b>Szimmetrikus</b>	<b>10</b>		
<b>Asszimmetrikus</b>	<b>19</b>		
<b>Inhibítoros</b>			<b>18</b>

1. Táblázat

*Összesített egy-sejt aktivitás a két ingerlés típus során*

Az általunk regisztrált unitokat 3 csoportba (rövid-, közepes- és hosszú-unit válaszó csoport) soroltuk be (1. Táblázat) az alapján, hogy milyen változás volt megfigyelhető a prepulzív és a startle ingerre adott egysejt aktivitás mintázat válaszaikban. Az első csoportba azokat a neuronokat soroltuk, melyeknek a tüzelési válasz változása nem tartott tovább, mint 50 ms. A prepulzív+ startle ingerléssel kapcsolatos, excitátoros, rövid válaszó csoportot további alcsoportra lehetett bontani, az alapján, hogy a két akusztikus ingerre adott válaszuk milyen volt. A szimmetrikus (a) alcsoportba azokat a sejtválaszókat soroltuk, melyek azonos mértékben válaszoltak mindkét hangingerre (prepulzív, startle). Az aszimmetrikus (b) alcsoportba azokat a neuron aktivitású sejteket csoportosítottuk, melyek nem mutattak azonos válasz aktivitást az általunk alkalmazott ingerekre. Ez utóbbi alcsoportról úgy tűnik adataink alapján, hogy tovább bontható aszimmetrikus prepulzív és aszimmetrikus startle válaszra, az alapján, hogy a neuron aktivitásuk melyik hangingerre volt nagyobb.

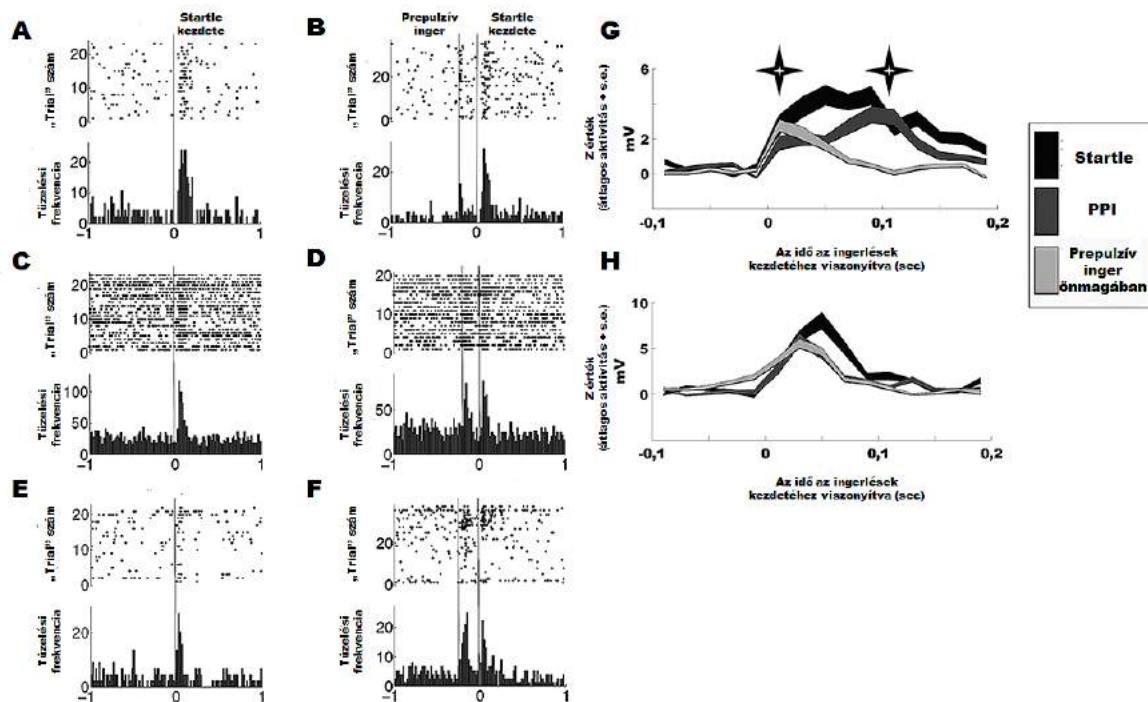
A közepes unit válaszó csoportba azokat a neuronokat soroltuk, melyeknek az ingerlésekre adott válaszuk röviddel a megrezzenést kiváltó ingert követően

megjelentek és az aktivitás időtartama meghaladta az 50 ms-ot, de nem volt hosszabb, mint 1 s.

A harmadik, hosszú unit válaszu kategóriába azok a neuronok kerültek, ahol az idegsejt aktivitásban bekövetkező változás a startle inger kezdetéhez képest hosszabb időintervallum után jelentek meg, de az ingerlésre adott válaszuk időtartama meghaladta az 1 s-ot.

### 7.2.3.1 Rövid válasz időtartamú sejtek

Startle önmagában „trial” típus: Az általunk regisztrált 287 sejtől 49 (17,1%) neuron válaszolt a megrezzenést kiváltó hangingerre a startle önmagában kísérleti felállás során (1. Táblázat; 23A, C és E ábra).



23. ábra

*Rövid válasz időtartamú egy-sejtválaszok összefoglaló ábrái (A-F) és populációs válaszok (G-H) patkány mPFC-ben. A és B ábrák a startle*

*önmagában, illetve ugyanazon sejt asszimmetrikus prepulzív+startle, a C és D a szimmetrikus, míg az E és F a fordított asszimmetrikus prepulzív+startle reakció során regisztrált, jellegzetes excitátoros egy-sejtválaszait mutatja be. A-F: a Raszterdiagramok és esemény körüli időhisztogramok (0,2 s "bin"-szélesség) három neuron jellegzetes serkentő (A-F) válaszait ábrázolják (t=0: a startle kezdete). A-F: a raszterdiagramok minden sora egy "trial"-nek felel meg, egy pont pedig egy akciós potenciálnak. Az esemény körüli időhisztogramok az átlagos tüzelési frekvenciát ábrázolják 200 ms-os "bin"-szélességgel. A megrezzenés alatt serkentő választ adó neuronok populációs aktivitása (G-H). Nagyobb serkentő populációs aktivitás figyelhető meg a megrezzenést kiváltó inger alkalmazása során, mint a prepulzív inger és startle inger együttes adása során (G-H). Szignifikáns különbség figyelhető meg a megrezzenést önmagában kiváltó inger populációs aktivitásához képest (G) mind a prepulzív ingerre adott, mind az ahhoz kapcsolódó startle ingerre nézve. A G és H ábrák esetében a szürke sávok alatti vonalak a válaszoló neuronok normalizált átlagát ábrázolják. A szürke sávok a s.e.-t adják meg.*

Prepulzív+ startle „trial” típus: A kísérleteink során rögzített 287 neuronból 29 (10,1%) idegsejt tüzelési mintázata változott meg a prepulzív+ startle ingerlés során (1. Táblázat; 23B, D, F ábra). Ebből a 29 neuronból 10-t a rövid időtartamú, szimmetrikus alcsoportba soroltunk (1. Táblázat; 23D), míg a maradék 19 sejtet, a rövid időtartamú, aszimmetrikus alcsoportba (Táblázat 1; 23B ábra). Ez utóbbi alcsoportban 2 olyan aszimmetrikus aktivitás mintázatú sejtet találtunk, ahol a prepulzív ingerre adott válasz nagyobb volt, mint a startle ingernél mért [aszimmetrikus prepulzív] (1. Táblázat; 23F ábra).

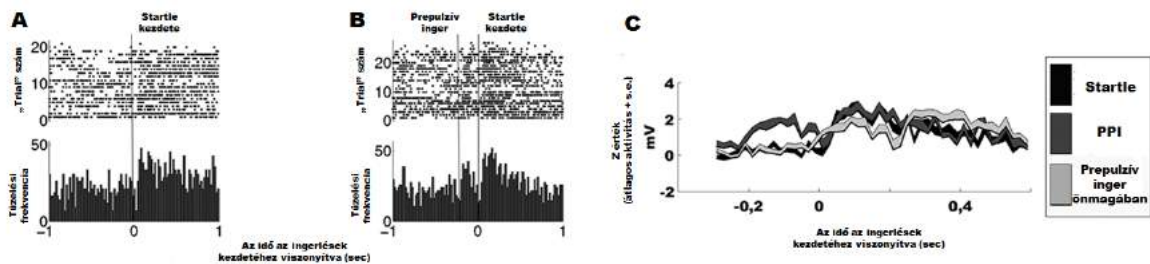
Populációs aktivitás: A 23G ábrán a 17 rövid időtartamú, excitátoros, aszimmetrikus választ adó idegsejt aktivitását tüntettük fel [aszimmetrikus startle, a startle ingerlésre adott válasz nagysága meghaladta a prepulzív ingerre adott válasz mértékét], megrezzenés önmagában, a prepulzív+ startle ingerlési esemény startle alatt válaszát, valamint a prepulzív+ startle ingerlés prepulzív ingerre adott válaszát. (A könnyebb összehasonlíthatóság kedvéért a három hullámformát azonos időpillanatba rögzítve.) Szignifikáns hatás volt megfigyelhető az idő ( $F(19,1020) = 10.57, p < 0,01$ ) és az ingerlési típusok között ( $F(2,1020) = 16,53, p < 0,01$ ). Továbbá, szignifikáns interakciót lehetett kimutatni az ingerlési típusok és az idő ( $F(2,1020) = 16,53, p < 0,01$ ) között.

A 10 excitátoros, szimmetrikus válaszmintázatot mutató neuronnak a populációs aktivitását mutatja be a 23H ábra. Megrezzenés önmagában, a startle alatti válasz prepulzív+ startle ingerlési esemény, valamint a prepulzív ingerre adott válasz prepulzív+ startle ingerlés során. Az ábra jól szemlélteti, hogy mindhárom esetben hasonló válaszokat kaptunk. Szignifikáns hatás volt megfigyelhető az idő ( $F(19,480) = 23,71, p < 0,01$ ) és az ingerlési típusok között ( $F(2,480) = 6,9, p < 0,01$ ), azonban szignifikáns interakciót nem találtunk közöttük.

Az aszimmetrikus csoportból azokat, ahol a prepulzív ingerre adott válasz nagysága meghaladta a startle adott válasz mértékét, az alacsony neuron szám (2) miatt, ezt a típust [aszimmetrikus prepulzív] populációs aktivitását nem tüntettük fel.

### **7.2.3.2 Közepes válasz időtartamú sejtek**

Startle önmagában „trial” típus: Az általunk regisztrált 287 sejtől 18 (6,27%) neuron egysejt aktivitása változott meg az önmagában álló startle kísérleti kondíció esetén (1. Táblázat, 24A ábra).



24. ábra

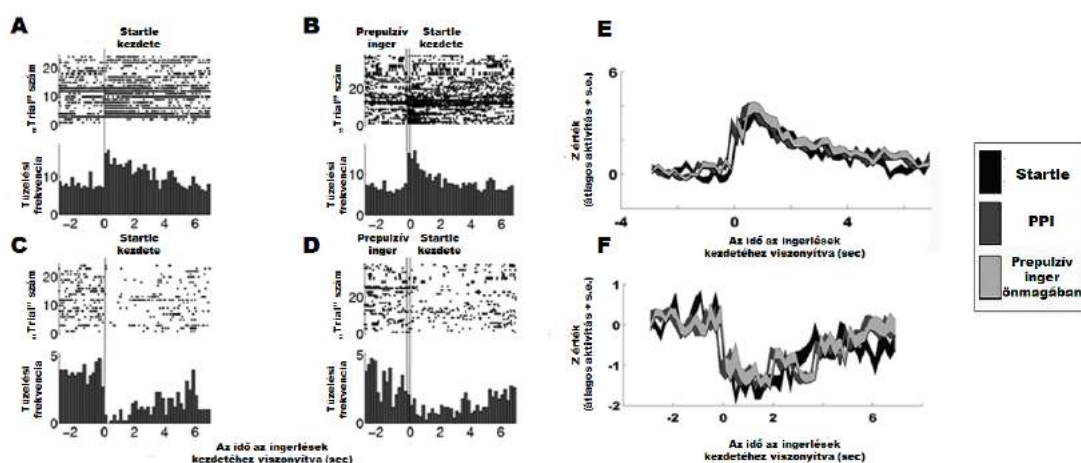
*Közepes válasz időtartamú egy-sejtválaszok összefoglaló ábrái (A-B) és populációs válaszok (C) patkány mPFC-ben. Az A ábra a startle önmagában, míg a B ábra ugyanazon sejt prepulzív+startle reakció során regisztrált, jellegzetes excitátoros egy-sejtválaszait mutatja be. A rasterdiagrammok és az esemény körüli hisztogrammok (0,2 s „bin”-szélesség) jellegzetes serkentő válaszait ábrázolják (t=0: a startle kezdete). a-b: a rasterdiagrammok minden sora egy „trial”-nek felel meg, egy pont pedig egy akciós potenciálnak. Az esemény körüli időhisztogrammok az átlagos tüzelési frekvenciát ábrázolják 200 ms-os „bin”-szélességgel. Nagyobb serkentő populációs aktivitás figyelhető meg a megrezzenést kiváltó inger alkalmazása során, mint a prepulzív inger és startle inger együttes adása során (C). Szignifikáns különbség figyelhető meg a megrezzenést önmagában kiváltó inger populációs aktivitásához képest (C) mind a prepulzív ingerre adott, mind az ahhoz kapcsolódó startle ingerre nézve. A C ábra esetében a szürke sávok alatti vonalak a válaszoló neuronok normalizált átlagát ábrázolják. A szürke sávok a s.e.-t adják meg.*

Prepulzív+startle „trial” típus: A 287 neuronból 13 (4,53%) idegsejt tüzelési mintázata mutatott egyértelmű kapcsolatot a prepulzív+ startle kísérleti esemény startle ingerére (1 Táblázat, 24B ábra).

Populációs aktivitás: Ennek a 13 idegsejtnek a populációs aktivitását mutatja be a 24C ábra. Az általunk regisztrált sejtek excitátoros aktivitást mutattak startle önmagában, a startle alatti válasz prepulzív+ startle ingerlési esemény, valamint a prepulzív ingerre adott válasz prepulzív+ startle ingerlés során. A populációs aktivitás mintázat is jelzi, hogy ez a csoport eltér mind a két másik csoport választól. Szignifikáns hatás volt megfigyelhető az idő ( $F(19,720) = 19,45, p < 0,01$ ) és az ingerlési típusok között ( $F(2720) = 2,04, p < 0,01$ ), azonban szignifikáns interakciót nem találtunk közöttük.

### 7.2.3.3 Hosszú válasz időtartamú sejtek

Startle önmagában „trial” típus: Az általunk regisztrált 287 neuronból 79 (27,5%) idegsejt tüzelési mintázatában találtunk változást a megrezzenést kiváltó ingerre ebben a kísérleti kondícióban. Az egysejt válaszban változást mutató sejtekből 62 (21,6% a 287 sejtnek) szignifikánsan növelte (1 Táblázat, 25A ábra), míg 17 (5,92%) pedig csökkentette a tüzelési aktivitását a kísérleti kondíció során (1 Táblázat, 25C ábra).



25. ábra

*Hosszú válasz időtartamú egy-sejtválaszok összefoglaló ábrái (A-D) és populációs válaszok (E-F) patkány mPFC-ben. Az A ábra a startle*

*önmagában, míg a B ábra ugyanazon sejt prepulzív+startle reakció során regisztrált, jellegzetes excitátoros egy-sejtválaszait mutatja be. A C ábra a startle önmagában, míg a D ábra ugyanazon sejt prepulzív+startle reakció során regisztrált, jellegzetes inhibitoros egy-sejtválaszait mutatja be. Raszterdiagramok és esemény körüli időhisztogramok (0,2 s "bin"-szélesség) jellegzetes serkentő (A-B) és gátló válaszokat (C-D) ábrázolnak (t=0: a startle kezdete). A-D: a raszterdiagramok minden sora egy "trial"-nek felel meg, egy pont pedig egy akciós potenciálnak. Az esemény körüli időhisztogramok az átlagos tüzelési frekvenciát ábrázolják 200 ms-os "bin"-szélességgel. A megrezzenés alatt serkentő választ adó neuronok populációs aktivitása (E) és gátló választ adó neuronok populációs aktivitása (F). Nagyobb a populációs aktivitás a serkentés során, ha a startle önmagában szerepelt, mint a PPI alatt volt regisztrálható. Szignifikáns eltérést nem volt megfigyelhető a két ingerlési mintázat között. Továbbá, a gátló populációs aktivitás estében (F) szintén nem találtunk szignifikáns különbség a két ingerlés alatt. Az E és F ábrák esetében a szürke sávok alatti vonalak a válaszoló neuronok normalizált átlagát ábrázolják. A szürke sávok a s.e.-t adják meg.*

Prepulzív+ startle „trial” típus: A regisztrált 287 neuronból 25 (8,71%) idegsejt aktivitása változott meg a megrezzenést kiváltó ingerre a prepulzív+ startle ingerlés során. Ebből 7 (2,44%-a 287-nek) szignifikánsan növelte tüzelési rátáját, míg 18 (6,27%) egysejt aktivitása szignifikánsan csökkent az alap aktivitásukhoz képest. A változás időtartama, ennél a „trial” típusnál, legalább 1 s-ig tartott (1. Táblázat, 25B, 25D ábra).

Populációs aktivitás: A kísérlet során, a regisztrált sejtek közül 7 adott excitátoros választ mind a startle önmagában, mind a prepulzív+startle trial megrezzenési



ingerére, továbbá a prepulzív+startle trial prepulzív ingerére (25E ábra). A populációs aktivitás mintázat is jelzi, hogy ez a csoport eltér mind a két másik csoport választától. Szignifikáns hatás volt megfigyelhető az idő ( $F(34,1155) = 15.78, p < 0,01$ ) és az ingerlés típusa között ( $F(2,1155) = 1.02, p < 0,01$ ), azonban szignifikáns interakciót nem találtunk közöttük.

További információt biztosított az ilyen típusú sejtek elkülönítésére, annak a 18 idegsejtnek a populációs aktivitása, amelyek az ingerlési típusokra (startle önmagában, prepulzív+startle startle ingerre és prepulzív+startle prepulzív) inhibitoros választ adtak (25F ábra). Szignifikáns hatás volt megfigyelhető az idő ( $F(34,1260) = 10,35, p < 0,01$ ) és az ingerlési típusok között ( $F(2,1260) = 0,22, p < 0,01$ ), azonban szignifikáns interakciót nem találtunk közöttük.

### **7.3 Elektrofiziológiai eredmények diszkussziója**

Jelen kísérletnek két célja volt. Az első, hogy a mPFC-ben, szabadon mozgó, viselkedő állatokon a megrezzenési válasszal és a PPI-vel kapcsolatban egy-sejt aktivitás regisztráció során még nem publikált eredményekhez juthassunk hozzá. . Az idegsejt válaszok az általunk alkalmazott ingerlési feltételekkel (startle önmagában, illetve prepulzív+startle inger közösen) szoros kapcsolatot mutattak. A második cél, hogy egy olyan metodikát fejlesszünk ki, amivel objektívvé tehető a megrezzenés mértékének mérése. Legjobb ismereteink alapján kijelenthető, hogy nem végeztek egy-sejt aktivitás vizsgálatokat korábban a startle és a PPI során. A második területtel kapcsolatban az általunk regisztrált adatok alapján arra a megállapításra jutottunk, hogy a 3D gyorsulásmérővel ellátott előerősítő sokkal pontosabb módja a megrezzenési reakció mérésének, mint az eddig alkalmazott eszközök.

A prefrontális kéreg a szenzoros-motoros, kérgi hierarchia csúcsán helyezkedik el. Ez alapján kijelenthető, hogy alapvető szerepet tölt be a szenzoros-motoros

kapuzási folyamatokban. Ez a limbikus, előagyi, kérgi régió kulcsszerepet tölt be a tervezés és a végrehajtás szabályozásában, mivel a kognitív funkciókban a legmagasabb szintű kapacitással rendelkeznek. A PFC közvetlenül közreműködik a munkamemória, a rövidtávú információ tárolásában. Továbbá, ez a régió egy átmeneti tárolóként is szolgál a külső, modulátoros aktivitásokkal kapcsolatban. Ezen kívül, szerepe van a figyelmi folyamatokban és a memória konszolidációban is. Ezek a különféle funkciók, mint a táplálék és vízfelvétellel kapcsolatos viselkedés kialakításában (Hernadi et al., 2000, Nagy et al., 2012) betöltött központi szerepe, továbbá a motivációban és a tanulási folyamatokban (Cardinal et al., 2002) megfigyelhető irányító feladata, arra utal, hogy számos agyi régióval áll kölcsönös kapcsolatban a mPFC. A mPFC a medio-dorsalis thalamus-ból (MD) kap bemenetet (Uylings and van Eden, 1990), valamint a ventrális tegmentális area-ból (Thierry et al., 1973), továbbá a bazális ganglionok különböző részeiből (Groenewegen et al., 1997), a laterális hypothalamikus area-ból (Kita, 1978), inputot kap még az amygdala-ból (Krettek and Price, 1977, Swanson, 1981, McDonald, 1987, 1991) és a hippocampus-ból (Swanson, 1981, Jay et al., 1989) is. Számos más kérgi területről is származik innerváció, mint például a paralimbikus kéregtől (enthorinális és a perirhinális kéreg), továbbá a szomatoszenzoros és a motoros kéregtől úgy szintén. A mPFC információt küld a mediodorsalis thalamusba, a hippocampusba, a bazolaterális amygdalába (BLA) és a bazális ganglionok számos magcsoportjába. Így alakul ki az úgynevezett cortico-striato-pallido-thalamo-corticális pálya rendszer (Krettek and Price, 1977, Groenewegen, 1988, Alexander et al., 1990, Groenewegen et al., 1990, Vertes, 2004). Közvetlen bemenetet képez a ventro-laterális periaqueductális szürke állomány (VIPAG)-ba, amely struktúra felelős a „freezing” jellegű válasz kialakításáért (Vianna et al., 2001). Továbbá, a fent nevezett változatos funkciókon kívül, a mPFC-ről közismert, hogy részt vesz más kérgi és kéreg alatti területek neurális aktivitásának koordinálásában. Ez a mPFC-nek arra a jellegzetes tulajdonságára utal, amely során a környezeti zaj káoszából képes

kiemelni a releváns információkat. Ennek következtében számos kapuzó mechanizmusban jelentős szerepet tölt be, melyek vizsgálatához megfelelően kialakított módszerekre van szükség.

A PPI az egyik legmegfelelőbb eszköz arra, hogy a szenzoros-motoros kapuzó mechanizmust kísérletesen vizsgálni lehessen. Úgy tűnik, hogy egy rendkívül hasznos módszer arra, hogy érthetővé váljék a szenzoros kapuzásban bekövetkező deficit neurális alapja, amely a legfőbb oka annak, hogy kialakulnak a különböző neuropszichiátriai betegségek során, mint a skizofrénia, a jellegzetes tünetek. A PPI-ről kimutatták, hogy igen erős prediktív értékkel bír az új típusú hatóanyagok támadáspontjainak kifejlesztésével kapcsolatban is (Braff et al., 2008). A PPI-ről úgy tartják, hogy prefrontocortico-limbikus-striato-pallidális hálózat szabályzása alatt áll. Rholeder és kollégái (Rohleder et al., 2016) kimutatták fMRI vizsgálataik során, hogy a prelimbikus kéreg (PrL) aktivitás pozitív korrelációt mutat a PPI hatékonyságával és ezért fontos szerepet is tulajdonítanak a PPI modulációjában. A kísérletes eredmények, amelyek a mPFC léziójával kapcsolatosak, egyértelműen jelzik, hogy a terület roncsolása PPI csökkenést eredményezett. Ezek az eredmények igazolják, hogy ez a kérgi terület rendkívül jelentős szerepet tölt be a PPI regulációjában. Eddig azonban, hogy a mPFC idegsejtjeinek milyen aktivitása áll a PPI modulációjának háttérében, gyakorlatilag ismeretlen volt.

Kutatásaink egyik kiemelt célja az volt, hogy egy-sejt kisülések karakterizálását végezzük a mPFC-ben. Olyan jól elkülöníthető sejt aktivitásokat regisztráltunk, amelyek a startle önmagában vagy a prepulzív+startle ingerlési kondíciók alatt jellegzetes tüzelési mintázattal válaszoltak. Különböző mPFC unit aktivitási válaszokat regisztráltunk, akusztikus (prepulzív+startle vagy startle önmagában) ingerlések során. A jelen kísérlet eredményeire alapozva, meghatároztuk az alkalmazott ingerléssel összefüggésben reagáló neuronok fő- és alcsoportjait. Mears (Mears et al., 2006) vizsgálatai során hasonló csoportokat állapított meg, az általunk használt PPI-től eltérő szenzoros kapuzó paradigma („két hang teszt”) során, a mPFC-ben. Kísérleteink jelentősége abban áll, hogy egyértelműen

igazolja olyan mPFC neuron csoportok jelenlétét, melyek igen szelektíven válaszolnak a prepulzív ingerlésekre, ezzel is igazolva a PPI neurális háttérben betöltött szerepét az adott agyterületnek. Mindezek után, a modell organizmusban, mint jelen esetben rágsálóknál, a PPI sokkal hatásosabb módszer a kapuzó mechanizmusok mérésére, mint a két hang teszt (Mears et al., 2006), mivel kvantitatívabb és jóval nagyobb predikciós értékkel bír a humán neurobiológiai betegségek, mint például a skizofrénia, neurális háttérének megértésében. Érdekes és rendkívül fontos különbségeket fedeztünk fel Mears eredményeihez képest. Kísérleteinkben, a prepulzív+startle ingerre adott rövid időtartamú, excitátoros válaszok elkülöníthetővé váltak: szimmetrikus és nem szimmetrikus alcsoportokra (23. ábra). A szimmetrikus alcsoport idegsejt válaszai hasonló aktivitást mutattak, mind a prepulzív, mind a startle-t kiváltó ingerlésre (23D. ábra). Továbbá, ez a hasonlóság a populációs tüzelési minta analízise során még kifejezettebb képet mutatott (23H. ábra). A válaszok amplitúdója és időtartama is azonosnak mondható volt mindkét ingerlési mintázat alkalmazása során (23D. ábra). Másrészt, egymástól jól elkülöníthető tulajdonságokkal rendelkező unit aktivitásokat figyeltünk meg prepulzív+startle és startle önmagában ingerlési kondíciók során az aszimmetrikus alcsoport esetében (23B és F. ábra). Az általunk regisztrált neuron aktivációk közül ez a csoport tovább bonthatóvá vált: a döntő többségében a neuronok főként a startle ingerre adtak nagyobb választ (23B. ábra), azonban egy jóval kisebb csoportja az aszimmetrikus neuronok csoportjából a prepulzív ingerre adtak nagyobb amplitúdójú választ (23F. ábra). A populációs tüzelési aktivitás analízisük során az ebben a csoportban szereplő sejtek mindegyike, a különböző ingerlési mintázatok (prepulzív+startle és startle önmagában) során, eltérő amplitúdóval válaszoltak, továbbá az ingerlések által kiváltott unit aktivitások hossza a prepulzív+startle vagy a startle önmagában ingerléshez képest, lerövidült (23G. ábra). Az aszimmetrikus alcsoportba tartozó, kis neuron számú, speciális csoport, melyben a prepulzív ingerre adott válasz amplitúdója meghaladta az azt követő

startle ingerre adott mértékét, megalapozza azt az elképzelésünket, hogy a prepulzív inhibíció részben, az mPFC neuronok szintjén történik. Ezért, okkal feltételezhető, hogy az ebbe a csoportba tartozó neuronok, jelentős szerepet töltenek be a prepulzív inhibícióban.

A szakirodalom alapján ismert, hogy a PPI két komponense: az „öröklött” vagy más néven, nem kondicionált összetevő, melynek során a prepulzív inger csökkenti a megrezzenés mértékét, anélkül, hogy bármilyen tanulási mechanizmus részt venne benne, illetve a „tanult” vagy kondicionált komponens. A PPI ez utóbbi összetevője, azt jelenti, hogy a megrezzenési reakció tovább csökkenthető a prepulzív+startle párosított inger alkalmazásával. Ennek a megfigyelésnek a magyarázatát arra a feltevésre alapozzuk, hogy a különböző egy-sejt aktivitási mintázatok (szimmetrikus vagy aszimmetrikus) kialakulását eltérő agyi régiókból származó bemenő jelek idézik elő. Ezzel a feltételezéssel együtt is kézenfekvő, hogy a PPI kialakításáért felelős folyamatok mellett, egyéb tanulási mechanizmusok is közrejátszanak. Valószínűleg, a habituációs tanulási komponens közreműködik a megrezzenési ingerre adott válasz csökkenésében, de ez az összetevő független a prepulzív inger által kiváltott választól (Geyer and Braff, 1987, McIntosh and Gonzalez-Lima, 1991). Fontos különbség a két tanulási folyamat között, hogy a habituáció legáltalánosabban a túltrenírozás eredménye, míg a PPI kondicionálás sokkal korábbi összetevőjeként jelenik meg a sorozatos ingerlésnek (Koch and Schnitzler, 1997, Koch, 1999). A jelen esetben nem volt célunk, hogy specifikusan megvizsgáljuk a PPI tanulás/kondicionálás folyamatának komponenseit, ezzel szemben, sokkal inkább arra koncentráltunk, hogy megtaláljuk az ennek a folyamatnak a háttérében működő neuronális korrelációkat, amik azonban nem kapcsolhatóak a kondicionálási folyamat habituációs összetevőjéhez. Ezek az információk alapján úgy tűnik, hogy okkal feltételezhető, hogy az általunk talált eredmények alapján, a különböző mintázatok (úgy, mint a szimmetrikus, aszimmetrikus) unit aktivitások a rövid időtartamú PPI csoportban, a PPI kondicionálás folyamatának különböző

szintjeire adott válaszokra utalhat. Mégpedig, az aszimmetrikusan aktiválódó neuronok, amelyeknél a megrezzenést kiváltó ingerre adott válaszaik amplitúdója volt nagyobb a prepulzív inger esetén regisztrálnál, amely a legnagyobb számban fordult elő, a PPI regulációjának az első fázisát adják. Ezek közül is, a prepulzív ingerre adott alacsony amplitúdójú válaszok lehetnek a legkorábbiak. A következő fázisát a kondicionálásnak azokkal a neuronokkal lehet jellemezni, melyek szimmetrikus választ adtak mind a prepulzív, mind a megrezzenést kiváltó ingerre PPI során. A harmadik fázis során, amely egy nagyon kisszámú csoport volt csak, a prepulzív ingerre relatíve nagy amplitúdójú választ szolgáltatottak, szemben a megrezzenést kiváltó ingerrel, ahol a válaszok mértéke erősen redukált volt. Azonban, a fentiekben részletezett elméletünket nem tudjuk igazolni, mivel, sajnálatos módon, a jelen esetben alkalmazott protokoll erre nem volt alkalmas. A kísérlet kezdetekor azt tűztük ki célul, hogy feltérképezzük a mediális prefrontális kéregben a megrezzenési és a PPI során alkalmazott ingerekre (startle önmagában és prepulzív+startle inger) adott neuronális válaszokat. Ennek elérése végett, folyamatosan változtattuk az elektródák helyzetét vizsgálatról-vizsgálatra. Az adatok alapján kialakított elméletünk igazolására konstans elektróda pozíció lett volna a legmegfelelőbb, végig az egész vizsgálat sorozat során. A jövőben tervezzük konstans elektróda pozíció mellett a vizsgálatainkat megismételni és ezáltal igazolni a fenti elméletünket.

Annak ellenére, hogy a szimmetrikus és aszimmetrikus neuron csoportok nem voltak identifikálhatóak a közepes és a hosszú időtartamú populációkban, úgy véljük, hogy a hosszú időtartamú csoportba tartozó neuron válaszok, mind a startle önmagában, mind a prepulzív+startle ingerlési kondíciók során, a motoros válasz kialakításával állnak kapcsolatban. Erre a legegyszerűbb példaként a „freezing” vagy mozdulatlaná dermedés kialakulása szerepel. Ezzel szemben, a rövid időtartamú csoport unit aktivitása a szenzoros bemenettel állhat kapcsolatban.

A gyorsulásmérésen alapuló mérések, az emberi mozgások analízisére igen jól alkalmazható eszköz (Lyons et al., 2005, Godfrey et al., 2008, Kavanagh and Menz, 2008). Számos humán kórfolyamat vagy betegség velejárója a mozgási diszfunkció (pl.: Parkinson-betegség, agyvérzés, sclerosis multiplex, osteoarthritis, stb.), ahol az egyik legszembetűnőbb tünet a fokozott vagy nagyon nagymértékben redukált mobilitás. Az állatkísérletekben, mely döntően patkány kísérleteket jelent, csak miniatürizált gyorsulásmérőket használnak a lokomotoros aktivitás kvantitatív meghatározására, szabadon mozgó, viselkedő állatok esetében. A fejre szerelt gyorsulásmérő alapú mozgásérzékelő rendszerrel a folyamatos fejmozgásokat lehet vizsgálni (Ledberg and Robbe, 2011, Gilja et al., 2012, Petyko et al., 2015). A miniatür, 32 csatornás, head stage erősítőhöz (Noted Bt., Pécs, Magyarország) egy 3D-s gyorsulásmérővel láttuk el. A laboratóriumunkban kialakított eszközzel, mely kisebb és számos más előnye is van a piacon kapható versenytársaihoz képest, mint például, a neuron aktivitás folyamatának precíz regisztrálása mellett, még a viselkedési folyamatok, mint a megrezzenés, fellépő mozgások is jól detektálhatóvá válnak. A fej pozíciójának meghatározása, ami vertikális és horizontális összetevőkből áll, mérhetővé válik, az adott tengely irányába történő mozgás nagyságának regisztrálásával. Továbbá, az egy tengely irányába történő gyorsulásmérés során nehezen értelmezhető, ha az állat áll, ágaskodik vagy egyéb fizikai aktivitást végez. Az állás és ágaskodás eldöntésére a többszörös gyorsulásméréssel képessé válunk, mivel a fej tengelyének változásai jól értelmezhetőek ezzel a módszerrel. Ezen kívül, a kísérleti feladat szempontjából roppant rugalmas és pontos mérési környezetet biztosít, mely a kis méretéből és a folyamatos mintavételezési képességéből fakad. Az általunk is alkalmazott gyorsulásmérő szenzorok, igen nagy felbontással képesek egy átlagos mintavételi frekvencia mellett a fejmozgásokat detektálni, szabadon mozgó állatok esetében. Az akusztikus megrezzenési reakció korai komponense igen rövid latenciával jelenik meg a fejmozgás regisztrációja során. Patkánynál, a rövid késleltetési idő a fej és a nyak izmaiban megjelenő

aktivációt jelenti, ami a megrezzenési reakció esetében 5,0-7,5 ms (Pellet, 1990). Az akusztikus megrezzenési reakciónak korai komponensét elektromiográfiával mérték korábban. Kísérleteink során, mi számolhatunk be elsőként arról, hogy olyan módszertani fejlesztést hajtottunk végre, amellyel a korai komponenssel kombinált mozgás is detektálható (22. ábra). Az ábrán megfigyelhető, hogy a megrezzenést kiváltó ingert követő 13-18 ms-os intervallumban a gyors fejmozgás több rész összetevőből áll. A 3D fejgyorsulásmérő által adott adatok tovább finomíthatják a megrezzenési vizsgálatok értelmezhetőségét. Mindezen túl, a mikroelektrofiziológiai regisztrációval szimultán történik a mozgási adatok rögzítése. Az általunk regisztrált fej gyorsulásméréséből származó adatokból arra következtetünk, hogy a több csúcsú görbe első hulláma felel meg a konvencionális megrezzenési mérőeszközök által regisztráltakkal. A miniatűr 3D gyorsulásmérő alkalmazásával lehetőség nyílik a megrezzenési reakció során regisztrálható fejmozgások kvantitatív mérése által, valamint az ezeket a mozgásokat kiváltó viselkedés analízisének segítségével, a szabadon mozgó, kísérleti állatokból származó elektrofiziológiai adatok még pontosabb értelmezésére. Az eddigi nemzetközi irodalmat áttekintve, nem találtunk olyan kísérleti megoldást, amelyben gyorsulásmérőt alkalmaztak volna szabadon mozgó kísérleti állatokon megrezzenési reakció mérésére.



## VI. Konklúzió

Korunk egyik legnagyobb problémájának azt tartják a pszichológiában, hogy a ránk zúduló információk özönében képtelenné válunk a nyugodt, csendes szemlélődésre. A szenzoros bemeneteinket folyamatosan bombázó adatáradat megszűrésére különböző kapuzó mechanizmusok alakultak ki az emberi idegrendszerben, aminek egyik típusa a megrezzenési vagy startle reakció és annak módosított változata, a prepulzív gátlás (PPI).

A megrezzenési válasz jelentőségét az adja, hogy a fonalférgektől egészen az emberi csecsemőkig (Moro-reflex) kiváltható ez a reflexes válaszmintázat. Evolúciósan roppant fontos szempont volt az élőlény számára az erős környezeti zajra való minél adekvátabb válasz kialakítása. Az emlősöknél megfigyelhető törzsizmok összehúzódása és ezáltal a testhossz megrövidítése a „ragadozóval” szembeni védekezés első lépéseként értelmezhető. Csecsemők esetében a bizonytalan testhelyzetből származó inger, illetve az erős akusztikus hatás váltja ki az izmok hirtelen megfeszülését. Az ingerlés hatására megfigyelhető válaszszekvencia általánossága utal a megrezzenési válasz jelentőségére. Azonban a rendszertanilag magasabb osztályba tartozó állatoknál szükséges volt egy olyan mechanizmus kialakítása, mely a habituáció viszonylag lassú folyamatát jelentősen felgyorsítja, és ez lett a prepulzív gátlás. A környezet változásaihoz gyorsan adaptálódni tudó szervezetnek jóval nagyobb esélye van a túlélésre, mint a kevésbé plasztikus idegrendszerrel rendelkező társaknak. A központi idegrendszer magasabb régióiban létrejövő kapuzó mechanizmusok képessé tették az egyedet arra, hogy figyelmen kívül hagyjon egy ismétlődő, egyébként potenciális veszélyt jelentő ingert. Ezáltal nem kell újabb és újabb esetekben megszakítania az éppen folyó cselekvés sort.

A prefrontális kéreg (PFC) a megrezzenési reakció módosított változatának szabályozó folyamatában igen fontos szerepet tölt be. Számos neuropszichológiai

betegség, mint a skizofrénia, Huntington-kór, Tourette-szindróma, stb., során kimutattak kóros elváltozást a páciensek prefrontális kérgében. Ez alapján megállapítható, hogy a PFC-ben bekövetkező sérülés a szenzoros információk hibás feldolgozását eredményezheti, mely jelentősen befolyásolja ezáltal az érzékszervekből kapott inputokra adott motoros, emocionális és/vagy kognitív válaszokat.

Azonban ahhoz, hogy a prefrontális kéreg szerepét egyértelműen bizonyítani lehessen szükség volt az egy-sejt aktivitás szintjén történő vizsgálatokra. Ehhez viszont ki kellett fejlesztenünk egy olyan elvezető rendszert, ami képes a megrezzenés során kialakuló rendkívül gyors fejmozgások ellenére is, stabil unit válasz regisztrációra. Az állatkísérletes vizsgálataink megkezdése előtt létrehoztuk egy olyan, általunk kifejlesztett, nyomtatott áramkörü lapkából (PCB) álló mikrodrive-ot, ami képessé tett minket ezen feladatok ellátására. Továbbá, a megrezzenéssel kapcsolatos nemzetközi irodalmat áttekintve, szükséges volt a szabadon mozgó állatokra adaptálható, a headsate-hez kapcsolt 3D-gyorsulásmérő létrehozása. A viselkedő állatok testtartása (ágaskodás, szimatolás, mosakodás, stb.), helyváltatása során, az általánosan használt, a platform alatt elhelyezett egy nyomásérzékelő szenzor nem tűnt elegendőnek.

Elektrofiziológiai eredményeink objektíven bizonyították a mPFC szerepét a megrezzenési reakció módosított változatának a prepulzív gátlásnak a szabályozásában.

# Publikációs jegyzék

## A disszertáció témájához kapcsolódó publikációk

Toth A, Petyko Z, Galosi R, Szabo I, Karadi K, Feldmann A, Peczely L, Kallai V, Karadi Z, Lenard L (2017) Neuronal coding of auditory sensorimotor gating in medial prefrontal cortex. Behav Brain Res 326:pp. 200-208. IF: 3,028

Toth A, Mathe K, Petyko Z, Szabo I, Czurko A (2008) Implementation of a galvanically isolated low-noise power supply board for multi-channel headstage preamplifiers. J Neurosci Methods 171:13-18. IF: 2,092

Toth A, Petyko Z, Mathe K, Szabo I, Czurko A (2007) Improved version of the printed circuit board (PCB) modular multi-channel microdrive for extracellular electrophysiological recordings. J Neurosci Methods 159:51-56. IF: 1,884

Petyko Z, Galosi R, Toth A, Mathe K, Szabo I, Karadi Z, Lenard L (2015) Responses of rat medial prefrontal cortical neurons to Pavlovian conditioned stimuli and to delivery of appetitive reward. Behav Brain Res 287:109-119. IF: 3,028

Petyko Z, Toth A, Szabo I, Galosi R, Lenard L (2009) Neuronal activity in rat medial prefrontal cortex during sucrose solution intake. Neuroreport 20:1235-1239. IF: 1,805

Mathe K, Toth A, Petyko Z, Szabo I, Czurko A (2007) Implementation of a miniature sized, battery powered electrophysiological signal-generator for testing multi-channel recording equipments. J Neurosci Methods 165:1-8. IF: 1,884

## Egyéb publikációk

Kállai Veronika, Tóth Attila, Gálosi Rita, Péczely László, Ollmann Tamás, Petykó Zoltán, László Kristóf, Kállai János, Szabó Imre, Karádi Zoltán, Lénárd László (2017) The MAM-E17 schizophrenia rat model: Comprehensive behavioral analysis of pre-pubertal, pubertal and adult rats Behav Brain Res 326:pp. 200-208. IF: 3,028

Lenard L, Ollmann T, Laszlo K, Kovacs A, Galosi R, Kallai V, Toth A, Kertes E, Zagoracz O, Karadi Z, Peczely L Role of D2 dopamine receptors of the ventral pallidum in inhibitory avoidance learning. (2017) Behav Brain Res 326:pp. 200-208. IF: 3,028

Kallai V, Toth A, Galosi R, Szabo I, Petyko Z, Karadi Z, Kallai J, Lenard L (2015) [MAME17 schizophrenia rat model]. Psychiatr Hung 30:4-17.

Szabo I, Mathe K, Toth A, Czurko A (2001) The application of cross-point switch arrays as input selector switch devices for multi-channel electrophysiological experiments. J. Neurosci Methods 111: 75-81. IF: 2,27

## Konferenciakiadványokban megjelent absztraktok

Kállai V , Gálosi R , Tóth A , Ollmann T , Péczely L , Petykó Z , Kovács A , Szabó Á , Kállai J , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L  
General behavior of the MAM-E17 treated rats throughout different age-periods.  
In: FENS Regional Meeting 2017 . Konferencia helye, ideje: Pécs , Magyarország , 2017.09.20 -2017.09.23. Paper P1-028.

Tóth A , Amiri Z , Vízvári Z , Mintál K , Lénárd L , Karádi Z , Cserjési R  
Prebiotic-mediated changes in the attention in healthy human population.  
In: [ s n ] (szerk.)  
Abstracts of the 26th Annual Meeting of the International Behavioral Neuroscience Society: Annual Meeting Program and Abstracts . Konferencia helye, ideje: Hiroshima , Japán , 2017.06.26 -2017.06.30. pp. 150-151.

Tóth A , Amiri Z , Vízvári Z , Karádi K , Mintál K , Lénárd L , Karádi Z , Cserjési R  
Prebiotikum mediálta figyelmi válasz változás, egészséges humán populációban.  
In: A Magyar Élettani Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság közös Vándorgyűlése . Konferencia helye, ideje: Debrecen , Magyarország , 2017.06.13 -2017.06.16. Paper P 2.1.8.

Tóth A , Petykó Z , Gálosi R , Szabó I , Karádi K , Feldmann Á , Péczely L , Kállai V , Karádi Z , Lénárd L  
A mediális prefrontális kérgi sejtek szabályozó szerepe az auditoros szenzoros kapuzó mechanizmusban.  
In: FAMÉ 2016: Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája . Konferencia helye, ideje: Pécs , Magyarország , 2016.06.01 -2016.06.04. Paper P 3.167.

Kállai V , Gálosi R , Tóth A , Petykó Z , Ollmann T , Péczely L , Kovács A , Karádi Z , Kállai J , Szabó I , Lénárd L  
Magatartási vizsgálatok MAM-E17 skizofrén állatmodellen  
In: Schaub Anita , Szabó István (szerk.)  
III. Interdiszciplináris doktorandusz konferencia 2014 = 3rd Interdisciplinary Doctoral Conference 2014 . 1070 p.  
Konferencia helye, ideje: Pécs , Magyarország , 2014.04.15 -2014.04.17. Pécs: Pécsi Tudományegyetem Doktorandusz Önkormányzat, 2015. p. 249.  
(ISBN:978-963-642-741-2)

Tóth A, Petykó Z , Feldmann Á , Kállai V , Gálosi R , Karádi K , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L

Single unit analysis during auditory sensory gating in medial prefrontal cortex in freely moving rats.

In: 15TH ANNUAL CONFERENCE OF THE HUNGARIAN NEUROSCIENCE SOCIETY: Abstracts . 87 p.

Konferencia helye, ideje: Budapest , Magyarország , 2015.01.22 -2015.01.23. p. 112.

Kállai V , Gálosi R , Tóth A, Petykó Z , Ollmann T , Péczely L , Kovács A , Kállai J , Szabó I , Lénárd L

The MAM-E17 rat model of schizophrenia: Behavioral examinations.

In: IBRO Workshop 2014: International Brain Research Organization Workshop . 241 p.

Konferencia helye, ideje: Debrecen , Magyarország , 2014.01.16 -2014.01.17. Paper P77.

Petyko Z , Toth A, Galosi R , Szabo I , Mate K , Szabo I , Karadi Z , Lenard L

Petykó Z , Tóth A, Gálosi R , Karádi K , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L  
Neurons in the rat medial prefrontal cortex (mPFC) respond to reward predicting acoustic stimuli

**IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE** 65:(1. klsz.) pp. 53-54. (2012)

IBRO International Workshop 2012. Szeged, Magyarország: 2012.01.19 -2012.01.21.

Petykó Z , Tóth A, Gálosi R , Karádi K , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L  
Reward predicting neurons in the rat medial prefrontal cortex

In: 8th FENS Forum of European Neuroscience . Konferencia helye, ideje: Barcelona , Spanyolország , 2012.07.14 -2012.07.18. Barcelona: p. 437.

Tóth A, Petykó Z , Kállai V , Gálosi R , Karádi K , Feldmann Á , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L

Auditory sensory gating local field potential analysis in the medial prefrontal cortex in freely moving rats

**IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE** 65:(1. klsz.) pp. 69-70. (2012)

IBRO International Workshop 2012. Szeged, Magyarország: 2012.01.19 -2012.01.21.

Tóth A, Petykó Z , Kállai V , Gálosi R , Karádi K , Feldmann Á , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L

Szenzoros kapuzó mechanizmus auditoros kiváltott potenciál analízise szabadon mozgó patkány mediális prefrontális kérgében.

In: Csernoch László (szerk.)

A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság

Kongresszusa . Konferencia helye, ideje: Debrecen , Magyarország , 2012.06.10 - 2012.06.13. (Magyar Élettani Társaság)  
Magyar Élettani Társaság, p. 196.

Tóth A , Petykó Z , Kállai V , Gálosi R , Karádi K , Feldmann Á , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L

Local field potential analysis of auditory sensory gating in medial prefrontal cortex in freely moving rats

In: 8th FENS Forum of European Neuroscience . Konferencia helye, ideje: Barcelona , Spanyolország , 2012.07.14 -2012.07.18. Barcelona: p. 587.

( FENS Abstract ; 6. )

Neuronal responses of the rat medial prefrontal cortex during appetitive classical conditioning

*ACTA PHYSIOLOGICA* 211:(697) p. 160. (2014)

Joint meeting of the Federation of European Physiological Societies (FEPS) and the Hungarian Physiological Society. Budapest, Magyarország: 2014.08.27 -2014.08.30.

Tóth A , Petykó Z , Feldmann Á , Kállai V , Gálosi R , Karádi K , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L

Single unit analysis of auditory sensory gating in the medial prefrontal cortex (mPFC) in freely moving rats.

In: IBRO Workshop 2014: International Brain Research Organization Workshop . 241 p.

Konferencia helye, ideje: Debrecen , Magyarország , 2014.01.16 -2014.01.17. Paper P95.

Gálosi R , Pusztai P , Hajnal N , Tóth A , Petykó Z , Lénárd L

Effects of catecholaminergic lesions of the prelimbic prefrontal cortex on sustained attention demanding task performance in rats.

In: 13th Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT) . Konferencia helye, ideje: Budapest , Magyarország , 2011.01.20 -2011.01.22. Budapest: Edition Frontiers, Paper P.1-29.

Gálosi R , Tóth A , Petykó Z , Lénárd L

Operant cued discrimination task: effects of noradrenaline lesion of prelimbic cortex  
*ACTA PHYSIOLOGICA* 202:(Suppl. 684) p. 35. (2011)

Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs, Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája. Pécs, Magyarország: 2011.06.08 -2011.06.11.

Gálosi R , Tóth A , Petykó Z , Lénárd L

Effects of catecholaminergic lesion of prelimbic prefrontal cortex on cued discrimination task performance in rats.

In: 8th IBRO World Congress of Neuroscience . Konferencia helye, ideje: Firenze , Olaszország , 2011.07.14 -2011.07.18. Paper D297.

Petykó Z , Tóth A , Gálosi R , Karádi K , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L  
Reward related single-unit activity changes in the rat medial prefrontal cortex  
*ACTA PHYSIOLOGICA* 202:(Suppl. 684) p. 96. (2011)  
Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs, Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája. Pécs, Magyarország: 2011.06.08 -2011.06.11.

Petykó Z , Tóth A , Gálosi R , Karádi K , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L  
Reward related single unit activity changes in the rat medial prefrontal cortex.  
In: 8th IBRO World Congress of Neuroscience . Konferencia helye, ideje: Firenze , Olaszország , 2011.07.14 -2011.07.18. Paper D347.

Tóth A , Petykó Z , Gálosi R , Karádi K , Máthé K , Szabó I , Karádi Z , Lénárd L  
Auditory sensory gating multi unit and local field potential analysis in medial prefrontal cortex in freely moving rats  
*ACTA PHYSIOLOGICA* 202:(Suppl. 684) pp. 119-120. (2011)  
Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs, Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája. Pécs, Magyarország: 2011.06.08 -2011.06.11.

Gálosi R , Tóth A , Petykó Z , Lénárd L  
Effects of local noradrenaline depletion in the medial prefrontal cortex and body weight regulation.: Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010.  
In: IBRO International Workshop 2010 . Konferencia helye, ideje: Pécs , Magyarország , 2010.01.21 -2010.01.23. p. P5-11.  
( Frontiers in Neuroscience ) Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010

Tóth A , Petykó Z , Máthé K , Wlasitsch M , Gálosi R , Lénárd L , Szabó I  
Methodological requirements of electrophysiological investigations of acoustic startle response.: Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010.  
In: IBRO International Workshop 2010 . Konferencia helye, ideje: Pécs , Magyarország , 2010.01.21 -2010.01.23. p. P7-25.  
( Frontiers in Neuroscience ) Conference Abstract: IBRO International Workshop 2010

Tóth A , Petykó Z , Máthé K , Gálosi R , Lénárd L , Szabó I  
Auditory sensory gating investigations in medial prefrontal cortex  
*ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA* 97:(4) p. 482. (2010)  
Second Joint Meeting of the LXXIV Annual Meeting of the Hungarian Physiological Society and the Hungarian Society for Experimental and Clinical Pharmacology.  
Szeged, Magyarország: 2010.06.16 -2010.06.18.

Gálosi R , Tóth A , Petykó Z , Lénárd L  
Local noradrenaline depletion elicits enhanced dopamine activity in the medial prefrontal cortex.: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society (HNS)  
In: Frontiers in Systems Neuroscience: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society: Conference Abstract . Konferencia helye, ideje: Budapest , Magyarország , 2009.01.22 -2009.01.24. Paper P221.

Gálosi R , Petykó Z , Tóth A , László K , Karádi Z , Lénárd L  
A mediális prefrontális kéreg noradrenerg és dopaminerg beidegzésének szerepe az éhség motiválta magatartásban.  
In: Tótsaki Árpád (szerk.)  
A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság és a Magyar Élettani Társaság LXXII. Vándorgyűlése . Konferencia helye, ideje: Debrecen , Magyarország , 2008.06.04 -2008.06.06. p. 60.

Máthé K , Petykó Z , Tóth A , Gálosi R , Szabó I , Lénárd L  
64-channel recording of medial prefrontal cortex neurons during glucose solution intake in freely moving rats.  
In: 6th Forum of European Neuroscience: Abstract Book . Konferencia helye, ideje: Geneva , Svájc , 2008.07.12 -2008.07.16. p. 633.

Petykó Z , Tóth A , Szabó I , Gálosi R , Lénárd L  
Multichannel recording of medial prefrontal cortex neurons during glucose solution intake in freely moving rats  
**IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE** 61:(1. klsz.) p. 51. (2008)  
IBRO Workshop 2008. Debrecen, Magyarország: 2008.01.24 -2008.01.26.

Gálosi R , Hartmann G , Petykó Z , Tóth A , Lénárd L  
A mediális prefrontális kéreg katekolaminerg beidegzését érintő neurokémiai léziók hatása a testsúlyszabályozásra.  
In: A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. vándorgyűlése: Pécs, 2007. június 6-8. : program, előadás és poszter, összefoglalók . Konferencia helye, ideje: Pécs , Magyarország , 2007.06.06 -2007.06.08. Pécs: Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), p. 160.

Gálosi R , Hartmann G , Petykó Z , Tóth A , Lénárd L  
Effects of lesions of catecholamine terminals in the medial prefrontal cortex on dopamine and noradrenaline levels and on the regulation of body weight.  
In: 39th Annual European Brain and Behaviour Society Abstracts . 136 p.  
Konferencia helye, ideje: Trieste , Olaszország , 2007.09.15 -2007.09.19. p. 114.



Petykó Z , Tóth A , Szabó I , Gálosi R , Lénárd L  
Mediális prefrontális kérgi neuronok aktivitásmintázata cukoroldat ivása közben.  
In: A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. vándorgyűlése: Pécs, 2007. június 6-8.  
: program, előadás és poszter, összefoglalók . Konferencia helye, ideje: Pécs ,  
Magyarország , 2007.06.06 -2007.06.08. Pécs: Pécsi Tudományegyetem Általános  
Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), p. 196.

Petykó Z , Tóth A , Szabó I , Gálosi R , Lénárd L  
Recording of multiple unit activity in medial prefrontal cortex during glucose solution  
intake in freely moving rats  
**ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA** 94:(4) p. 385. (2007)  
LXXIst Annual Meeting of the Hungarian Physiological Society. Pécs,  
Magyarország: 2007.06.06 -2007.06.08.

Petykó Z , Tóth A , Szabó I , Gálosi R , Lénárd L  
Firing rate patterns in medial prefrontal cortex neurons during glucose solution intake  
in freely moving rats.  
In: 39th Annual European Brain and Behaviour Society Abstracts . 136 p.  
Konferencia helye, ideje: Trieste , Olaszország , 2007.09.15 -2007.09.19. p. 85.

Tóth A , Petykó Z , Szabó I , Máthé K , Katona M , Czurkó A , Gálosi R , Lénárd L  
Egyszerű megoldások multiunit aktivitás regisztrálásához patkányban.  
In: A Magyar Élettani Társaság (MÉT) LXXI. vándorgyűlése: Pécs, 2007. június 6-8.  
: program, előadás és poszter, összefoglalók . Konferencia helye, ideje: Pécs ,  
Magyarország , 2007.06.06 -2007.06.08. Pécs: Pécsi Tudományegyetem Általános  
Orvostudományi Kar (PTE ÁOK), p. 213.

Tóth A , Petykó Z , Szabó I , Máthé K , Katona M , Czurkó A , Gálosi R , Lénárd L  
Simple devices for multiple unit activity recording in rats  
**ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA** 94:(4) pp. 397-398. (2007)  
LXXIst Annual Meeting of the Hungarian Physiological Society. Pécs,  
Magyarország: 2007.06.06 -2007.06.08.

Tóth A , Petykó Z , Szabó I , Máthé K , Katona M , Czurkó A , Gálosi R , Lénárd L  
Simple devices for multiple unit activity recordings in freely moving in rats.  
In: 39th Annual European Brain and Behaviour Society Abstracts . 136 p.  
Konferencia helye, ideje: Trieste , Olaszország , 2007.09.15 -2007.09.19. p. 85.

Tóth Attila , Petykó Zoltán , Szabó Imre , Máthé Kálmán , Katona M. , Czurkó  
András  
Electronic devices making multiple recordings easier.  
**IDEGGYOGYASZATI SZEMLE / CLINICAL NEUROSCIENCE** 60:(Suppl. 1) p.  
65. (2007)

## Bibliográfia

- Abeles M, Gerstein GL (1988) Detecting spatiotemporal firing patterns among simultaneously recorded single neurons. *J Neurophysiol* 60:909-924.
- Adler LE, Olincy A, Cawthra E, Hoffer M, Nagamoto HT, Amass L, Freedman R (2001) Reversal of diminished inhibitory sensory gating in cocaine addicts by a nicotinic cholinergic mechanism. *Neuropsychopharmacology* 24:671-679.
- al-Amin HA, Schwarzkopf SB (1996) Effects of the PCP analog dizocilpine on sensory gating: potential relevance to clinical subtypes of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 40:744-754.
- Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR (1990) Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, "prefrontal" and "limbic" functions. *Prog Brain Res* 85:119-146.
- Bailey KR, Mair RG (2004) Dissociable effects of frontal cortical lesions on measures of visuospatial attention and spatial working memory in the rat. *Cereb Cortex* 14:974-985.
- Bakshi VP, Geyer MA (1997) Phencyclidine-induced deficits in prepulse inhibition of startle are blocked by prazosin, an alpha-1 noradrenergic antagonist. *J Pharmacol Exp Ther* 283:666-674.
- Bakshi VP, Geyer MA (1998) Multiple limbic regions mediate the disruption of prepulse inhibition produced in rats by the noncompetitive NMDA antagonist dizocilpine. *J Neurosci* 18:8394-8401.
- Bakshi VP, Swerdlow NR, Braff DL, Geyer MA (1998) Reversal of isolation rearing-induced deficits in prepulse inhibition by Seroquel and olanzapine. *Biol Psychiatry* 43:436-445.
- Bakshi VP, Swerdlow NR, Geyer MA (1994) Clozapine antagonizes phencyclidine-induced deficits in sensorimotor gating of the startle response. *J Pharmacol Exp Ther* 271:787-794.
- Blaha CD, Yang CR, Floresco SB, Barr AM, Phillips AG (1997) Stimulation of the ventral subiculum of the hippocampus evokes glutamate receptor-mediated changes in dopamine efflux in the rat nucleus accumbens. *Eur J Neurosci* 9:902-911.
- Blumenthal TD, Elden A, Flaten MA (2004) A comparison of several methods used to quantify prepulse inhibition of eyeblink responding. *Psychophysiology* 41:326-332.
- Blumenthal TD, Schicatanano EJ, Chapman JG, Norris CM, Ergenzinger ER, Jr. (1996) Prepulse effects on magnitude estimation of startle-eliciting stimuli and startle responses. *Percept Psychophys* 58:73-80.
- Braff DL, Geyer MA (1990) Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies. *Arch Gen Psychiatry* 47:181-188.
- Braff DL, Geyer MA, Light GA, Sprock J, Perry W, Cadenhead KS, Swerdlow NR (2001a) Impact of prepulse characteristics on the detection of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. *Schizophr Res* 49:171-178.
- Braff DL, Geyer MA, Swerdlow NR (2001b) Human studies of prepulse inhibition of startle: normal subjects, patient groups, and pharmacological studies. *Psychopharmacology (Berl)* 156:234-258.
- Braff DL, Greenwood TA, Swerdlow NR, Light GA, Schork NJ (2008) Advances in endophenotyping schizophrenia. *World Psychiatry* 7:11-18.
- Brudzynski SM, Gibson CJ (1997) Release of dopamine in the nucleus accumbens caused by stimulation of the subiculum in freely moving rats. *Brain Res Bull* 42:303-308.
- Bubser M, Koch M (1994) Prepulse inhibition of the acoustic startle response of rats is reduced by 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 113:487-492.
- Buzsaki G (2004) Large-scale recording of neuronal ensembles. *Nat Neurosci* 7:446-451.
- Caine SB, Geyer MA, Swerdlow NR (1991) Carbachol infusion into the dentate gyrus disrupts sensorimotor gating of startle in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 105:347-354.

- Caine SB, Geyer MA, Swerdlow NR (1992) Hippocampal modulation of acoustic startle and prepulse inhibition in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 43:1201-1208.
- Campeau S, Davis M (1995) Prepulse inhibition of the acoustic startle reflex using visual and auditory prepulses: disruption by apomorphine. *Psychopharmacology (Berl)* 117:267-274.
- Cannon TD, Hennah W, van Erp TG, Thompson PM, Lonnqvist J, Huttunen M, Gasperoni T, Tuulio-Henriksson A, Pirkola T, Toga AW, Kaprio J, Mazziotta J, Peltonen L (2005) Association of DISC1/TRAX haplotypes with schizophrenia, reduced prefrontal gray matter, and impaired short- and long-term memory. *Arch Gen Psychiatry* 62:1205-1213.
- Carasso BS, Bakshi VP, Geyer MA (1998) Disruption in prepulse inhibition after alpha-1 adrenoceptor stimulation in rats. *Neuropharmacology* 37:401-404.
- Cardinal RN, Parkinson JA, Hall J, Everitt BJ (2002) Emotion and motivation: the role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neurosci Biobehav Rev* 26:321-352.
- Carli M, Baviera M, Invernizzi RW, Balducci C (2006) Dissociable contribution of 5-HT1A and 5-HT2A receptors in the medial prefrontal cortex to different aspects of executive control such as impulsivity and compulsive perseveration in rats. *Neuropsychopharmacology* 31:757-767.
- Cassella JV, Davis M (1986) Habituation, prepulse inhibition, fear conditioning, and drug modulation of the acoustically elicited pinna reflex in rats. *Behav Neurosci* 100:39-44.
- Christakou A, Robbins TW, Everitt BJ (2001) Functional disconnection of a prefrontal cortical-dorsal striatal system disrupts choice reaction time performance: implications for attentional function. *Behav Neurosci* 115:812-825.
- Chudasama Y, Nathwani F, Robbins TW (2005) D-Amphetamine remediates attentional performance in rats with dorsal prefrontal lesions. *Behav Brain Res* 158:97-107.
- Crawley JN, Belknap JK, Collins A, Crabbe JC, Frankel W, Henderson N, Hitzemann RJ, Maxson SC, Miner LL, Silva AJ, Wehner JM, Wynshaw-Boris A, Paylor R (1997) Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology (Berl)* 132:107-124.
- Csicsvari J, Hirase H, Czurko A, Buzsaki G (1998) Reliability and state dependence of pyramidal cell-interneuron synapses in the hippocampus: an ensemble approach in the behaving rat. *Neuron* 21:179-189.
- Csicsvari J, Jamieson B, Wise KD, Buzsaki G (2003) Mechanisms of gamma oscillations in the hippocampus of the behaving rat. *Neuron* 37:311-322.
- Czurko A, Hirase H, Csicsvari J, Buzsaki G (1999) Sustained activation of hippocampal pyramidal cells by 'space clamping' in a running wheel. *Eur J Neurosci* 11:344-352.
- Davis M (1970) Effects of interstimulus interval length and variability on startle-response habituation in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 72:177-192.
- Davis M, Gendelman DS, Tischler MD, Gendelman PM (1982) A primary acoustic startle circuit: lesion and stimulation studies. *J Neurosci* 2:791-805.
- Davis M, Mansbach RS, Swerdlow NR, Campeau S, Braff DL, Geyer MA (1990) Apomorphine disrupts the inhibition of acoustic startle induced by weak prepulses in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 102:1-4.
- Davis RI, Ferraro JA (1984) Comparison between AER and behavioral thresholds in normally and abnormally hearing chinchillas. *Ear Hear* 5:153-159.
- Dawson ME, Schell AM, Hazlett EA, Nuechterlein KH, Filion DL (2000) On the clinical and cognitive meaning of impaired sensorimotor gating in schizophrenia. *Psychiatry Res* 96:187-197.
- Decker MW, Curzon P, Brioni JD (1995) Influence of separate and combined septal and amygdala lesions on memory, acoustic startle, anxiety, and locomotor activity in rats. *Neurobiol Learn Mem* 64:156-168.
- Depoortere R, Perrault G, Sanger DJ (1997) Some, but not all, antipsychotic drugs potentiate a low level of prepulse inhibition shown by rats of the Wistar strain. *Behav Pharmacol* 8:364-372.
- Ebert U, Koch M (1992) Glutamate receptors mediate acoustic input to the reticular brain stem. *Neuroreport* 3:429-432.

- Ebert U, Ostwald J (1991) The mesencephalic locomotor region is activated during the auditory startle response of the unrestrained rat. *Brain Res* 565:209-217.
- Egner T, Hirsch J (2005) Cognitive control mechanisms resolve conflict through cortical amplification of task-relevant information. *Nat Neurosci* 8:1784-1790.
- Ellenbroek BA, Geyer MA, Cools AR (1995) The behavior of APO-SUS rats in animal models with construct validity for schizophrenia. *J Neurosci* 15:7604-7611.
- Ellenbroek BA, van den Kroonenberg PT, Cools AR (1998) The effects of an early stressful life event on sensorimotor gating in adult rats. *Schizophr Res* 30:251-260.
- Elliott R, Sahakian BJ (1995) The neuropsychology of schizophrenia: relations with clinical and neurobiological dimensions. *Psychol Med* 25:581-594.
- Feifel D, Reza TL, Robeck SL (1997) Pro-dopamine effects of neurotensin on sensorimotor gating deficits. *Peptides* 18:1457-1460.
- Feifel D, Swerdlow NR (1997) The modulation of sensorimotor gating deficits by mesolimbic cholecystokinin. *Neurosci Lett* 229:5-8.
- Fendt M, Li L, Yeomans JS (2001) Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex. *Psychopharmacology (Berl)* 156:216-224.
- Filion DL, Dawson ME, Schell AM (1993) Modification of the acoustic startle-reflex eyeblink: a tool for investigating early and late attentional processes. *Biol Psychol* 35:185-200.
- Foster DJ, Wilson MA (2006) Reverse replay of behavioural sequences in hippocampal place cells during the awake state. *Nature* 440:680-683.
- Furuya Y, Ogura H (1997) Competitive NMDA and strychnine-insensitive glycine-site antagonists disrupt prepulse inhibition. *Pharmacol Biochem Behav* 57:909-913.
- Geyer MA, Braff DL (1987) Startle habituation and sensorimotor gating in schizophrenia and related animal models. *Schizophr Bull* 13:643-668.
- Geyer MA, Swerdlow NR, Mansbach RS, Braff DL (1990) Startle response models of sensorimotor gating and habituation deficits in schizophrenia. *Brain Res Bull* 25:485-498.
- Geyer MA, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW (1993) Isolation rearing of rats produces a deficit in prepulse inhibition of acoustic startle similar to that in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 34:361-372.
- Ghisolfi ES, Margis R, Becker J, Zanardo AP, Strimitzer IM, Lara DR (2004) Impaired P50 sensory gating in post-traumatic stress disorder secondary to urban violence. *Int J Psychophysiol* 51:209-214.
- Gilja V, Nuyujukian P, Chestek CA, Cunningham JP, Yu BM, Fan JM, Ryu SI, Shenoy KV (2012) A brain machine interface control algorithm designed from a feedback control perspective. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2012:1318-1322.
- Godfrey A, Conway R, Meagher D, G OL (2008) Direct measurement of human movement by accelerometry. *Med Eng Phys* 30:1364-1386.
- Graham FK (1975) Presidential Address, 1974. The more or less startling effects of weak prestimulation. *Psychophysiology* 12:238-248.
- Graham FK, Putnam LE, Leavitt LA (1975) Lead-stimulation effects of human cardiac orienting and blink reflexes. *J Exp Psychol Hum Percept Perform* 104:175-182.
- Grillon C, Ameli R, Charney DS, Krystal J, Braff D (1992) Startle gating deficits occur across prepulse intensities in schizophrenic patients. *Biol Psychiatry* 32:939-943.
- Groenewegen HJ (1988) Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience* 24:379-431.
- Groenewegen HJ, Berendse HW, Wolters JG, Lohman AH (1990) The anatomical relationship of the prefrontal cortex with the striatopallidal system, the thalamus and the amygdala: evidence for a parallel organization. *Prog Brain Res* 85:95-116; discussion 116-118.
- Groenewegen HJ, Vermeulen-Van der Zee E, te Kortschot A, Witter MP (1987) Organization of the projections from the subiculum to the ventral striatum in the rat. A study using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Neuroscience* 23:103-120.

- Groenewegen HJ, Wright CI, Uylings HB (1997) The anatomical relationships of the prefrontal cortex with limbic structures and the basal ganglia. *J Psychopharmacol* 11:99-106.
- Gross GW (1979) Simultaneous single unit recording in vitro with a photoetched laser deinsulated gold multimicroelectrode surface. *IEEE Trans Biomed Eng* 26:273-279.
- Harris KD, Henze DA, Csicsvari J, Hirase H, Buzsaki G (2000) Accuracy of tetrode spike separation as determined by simultaneous intracellular and extracellular measurements. *J Neurophysiol* 84:401-414.
- Harris KD, Henze DA, Hirase H, Leinekugel X, Dragoi G, Czurko A, Buzsaki G (2002) Spike train dynamics predicts theta-related phase precession in hippocampal pyramidal cells. *Nature* 417:738-741.
- Hart S, Zreik M, Carper R, Swerdlow NR (1998) Localizing haloperidol effects on sensorimotor gating in a predictive model of antipsychotic potency. *Pharmacol Biochem Behav* 61:113-119.
- Hauber W, Koch M (1997) Adenosine A2a receptors in the nucleus accumbens modulate prepulse inhibition of the startle response. *Neuroreport* 8:1515-1518.
- Hazan L, Zugaro M, Buzsaki G (2006) Klusters, NeuroScope, NDManager: a free software suite for neurophysiological data processing and visualization. *J Neurosci Methods* 155:207-216.
- Hazlett EA, Buchsbaum MS, Haznedar MM, Singer MB, Germans MK, Schnur DB, Jimenez EA, Buchsbaum BR, Troyer BT (1998) Prefrontal cortex glucose metabolism and startle eyeblink modification abnormalities in unmedicated schizophrenia patients. *Psychophysiology* 35:186-198.
- Hernadi I, Karadi Z, Vigh J, Petyko Z, Egyed R, Berta B, Lenard L (2000) Alterations of conditioned taste aversion after microiontophoretically applied neurotoxins in the medial prefrontal cortex of the rat. *Brain Res Bull* 53:751-758.
- Hirase H, Leinekugel X, Czurko A, Csicsvari J, Buzsaki G (2001) Firing rates of hippocampal neurons are preserved during subsequent sleep episodes and modified by novel awake experience. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:9386-9390.
- Hoffman DC, Donovan H (1994) D1 and D2 dopamine receptor antagonists reverse prepulse inhibition deficits in an animal model of schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* 115:447-453.
- Hoffman HS, Ison JR (1980) Reflex modification in the domain of startle: I. Some empirical findings and their implications for how the nervous system processes sensory input. *Psychol Rev* 87:175-189.
- Hoffman HS, Wible BL (1969) Temporal parameters in startle facilitation by steady background signals. *J Acoust Soc Am* 45:7-12.
- Hoffman HS, Wible BL (1970) Role of weak signals in acoustic startle. *J Acoust Soc Am* 47:489-497.
- Huxter J, Burgess N, O'Keefe J (2003) Independent rate and temporal coding in hippocampal pyramidal cells. *Nature* 425:828-832.
- Japha K, Koch M (1999) Picrotoxin in the medial prefrontal cortex impairs sensorimotor gating in rats: reversal by haloperidol. *Psychopharmacology (Berl)* 144:347-354.
- Jay TM, Glowinski J, Thierry AM (1989) Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. *Brain Res* 505:337-340.
- Jennings PD, Schell AM, Filion DL, Dawson ME (1996) Tracking early and late stages of information processing: contributions of startle eyeblink reflex modification. *Psychophysiology* 33:148-155.
- Johansson C, Jackson DM, Svensson L (1994) The atypical antipsychotic, remoxipride, blocks phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 116:437-442.
- Johansson C, Jackson DM, Svensson L (1997) Nitric oxide synthase inhibition blocks phencyclidine-induced behavioural effects on prepulse inhibition and locomotor activity in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 131:167-173.
- Karreman M, Moghaddam B (1996) The prefrontal cortex regulates the basal release of dopamine in the limbic striatum: an effect mediated by ventral tegmental area. *J Neurochem* 66:589-598.

- Kavanagh JJ, Menz HB (2008) Accelerometry: a technique for quantifying movement patterns during walking. *Gait Posture* 28:1-15.
- Keith VA, Mansbach RS, Geyer MA (1991) Failure of haloperidol to block the effects of phencyclidine and dizocilpine on prepulse inhibition of startle. *Biol Psychiatry* 30:557-566.
- Kellogg C, Ison JR, Miller RK (1983) Prenatal diazepam exposure: effects on auditory temporal resolution in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 79:332-337.
- Kita H (1978) [Inhibition and possible transmitter substance from the frontal cortex to the lateral hypothalamic area in the rat (author's transl)]. *Fukuoka Igaku Zasshi* 69:223-234.
- Klarner A, Koch M, Schnitzler HU (1998) Induction of Fos-protein in the forebrain and disruption of sensorimotor gating following N-methyl-D-aspartate infusion into the ventral hippocampus of the rat. *Neuroscience* 84:443-452.
- Knight RT, Grabowecky MF, Scabini D (1995) Role of human prefrontal cortex in attention control. *Adv Neurol* 66:21-34; discussion 34-26.
- Knight RT, Scabini D, Woods DL (1989) Prefrontal cortex gating of auditory transmission in humans. *Brain Res* 504:338-342.
- Knight RT, Staines WR, Swick D, Chao LL (1999) Prefrontal cortex regulates inhibition and excitation in distributed neural networks. *Acta Psychol (Amst)* 101:159-178.
- Koch M (1998) Sensorimotor gating changes across the estrous cycle in female rats. *Physiol Behav* 64:625-628.
- Koch M (1999) The neurobiology of startle. *Prog Neurobiol* 59:107-128.
- Koch M, Bubser M (1994) Deficient sensorimotor gating after 6-hydroxydopamine lesion of the rat medial prefrontal cortex is reversed by haloperidol. *Eur J Neurosci* 6:1837-1845.
- Koch M, Ebert U (1998) Deficient sensorimotor gating following seizures in amygdala-kindled rats. *Biol Psychiatry* 44:290-297.
- Koch M, Hauber W (1998) Regulation of sensorimotor gating by interactions of dopamine and adenosine in the rat. *Behav Pharmacol* 9:23-29.
- Koch M, Schnitzler HU (1997) The acoustic startle response in rats--circuits mediating evocation, inhibition and potentiation. *Behav Brain Res* 89:35-49.
- Kodsi MH, Swerdlow NR (1994) Quinolinic acid lesions of the ventral striatum reduce sensorimotor gating of acoustic startle in rats. *Brain Res* 643:59-65.
- Kodsi MH, Swerdlow NR (1995) Ventral pallidal GABA-A receptors regulate prepulse inhibition of acoustic startle. *Brain Res* 684:26-35.
- Kodsi MH, Swerdlow NR (1997) Regulation of prepulse inhibition by ventral pallidal projections. *Brain Res Bull* 43:219-228.
- Krase W, Koch M, Schnitzler HU (1993) Glutamate antagonists in the reticular formation reduce the acoustic startle response. *Neuroreport* 4:13-16.
- Kretschmer BD, Koch M (1997) Role of the strychnine-insensitive glycine binding site in the nucleus accumbens and anterodorsal striatum in sensorimotor gating: a behavioral and microdialysis study. *Psychopharmacology (Berl)* 130:131-138.
- Kretschmer BD, Koch M (1998) The ventral pallidum mediates disruption of prepulse inhibition of the acoustic startle response induced by dopamine agonists, but not by NMDA antagonists. *Brain Res* 798:204-210.
- Krettek JE, Price JL (1977) The cortical projections of the mediodorsal nucleus and adjacent thalamic nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 171:157-191.
- Landis C, Hunt WA (1937) Magnification of Time as a Research Technique in the Study of Behavior. *Science* 85:384-385.
- Ledberg A, Robbe D (2011) Locomotion-related oscillatory body movements at 6-12 Hz modulate the hippocampal theta rhythm. *PLoS One* 6:e27575.
- Leitner DS, Powers AS, Hoffman HS (1980) The neural substrate of the startle response. *Physiol Behav* 25:291-297.
- Li L, Korngut LM, Frost BJ, Beninger RJ (1998a) Prepulse inhibition following lesions of the inferior colliculus: prepulse intensity functions. *Physiol Behav* 65:133-139.

- Li L, Priebe RP, Yeomans JS (1998b) Prepulse inhibition of acoustic or trigeminal startle of rats by unilateral electrical stimulation of the inferior colliculus. *Behav Neurosci* 112:1187-1198.
- Lin L, Osan R, Shoham S, Jin W, Zuo W, Tsien JZ (2005) Identification of network-level coding units for real-time representation of episodic experiences in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:6125-6130.
- Lyons GM, Culhane KM, Hilton D, Grace PA, Lyons D (2005) A description of an accelerometer-based mobility monitoring technique. *Med Eng Phys* 27:497-504.
- Mansbach RS, Geyer MA (1991) Parametric determinants in pre-stimulus modification of acoustic startle: interaction with ketamine. *Psychopharmacology (Berl)* 105:162-168.
- Maren S, Quirk GJ (2004) Neuronal signalling of fear memory. *Nat Rev Neurosci* 5:844-852.
- Mathe K, Toth A, Petyko Z, Szabo I, Czurko A (2007) Implementation of a miniature sized, battery powered electrophysiological signal-generator for testing multi-channel recording equipments. *J Neurosci Methods* 165:1-8.
- McDonald AJ (1987) Somatostatinergic projections from the amygdala to the bed nucleus of the stria terminalis and medial preoptic-hypothalamic region. *Neurosci Lett* 75:271-277.
- McDonald AJ (1991) Organization of amygdaloid projections to the prefrontal cortex and associated striatum in the rat. *Neuroscience* 44:1-14.
- McGhie A, Chapman J (1961) Disorders of attention and perception in early schizophrenia. *Br J Med Psychol* 34:103-116.
- McIntosh AR, Gonzalez-Lima F (1991) Structural modeling of functional neural pathways mapped with 2-deoxyglucose: effects of acoustic startle habituation on the auditory system. *Brain Res* 547:295-302.
- Mears RP, Klein AC, Cromwell HC (2006) Auditory inhibitory gating in medial prefrontal cortex: Single unit and local field potential analysis. *Neuroscience* 141:47-65.
- Nagy B, Szabo I, Papp S, Takacs G, Szalay C, Karadi Z (2012) Glucose-monitoring neurons in the mediodorsal prefrontal cortex. *Brain Res* 1444:38-44.
- O'Neill J, Senior T, Csicsvari J (2006) Place-selective firing of CA1 pyramidal cells during sharp wave/ripple network patterns in exploratory behavior. *Neuron* 49:143-155.
- Pantelis C, Barber FZ, Barnes TR, Nelson HE, Owen AM, Robbins TW (1999) Comparison of set-shifting ability in patients with chronic schizophrenia and frontal lobe damage. *Schizophr Res* 37:251-270.
- Pantelis C, Barnes TR, Nelson HE, Tanner S, Weatherley L, Owen AM, Robbins TW (1997) Frontal-striatal cognitive deficits in patients with chronic schizophrenia. *Brain* 120 ( Pt 10):1823-1843.
- Pasquet MO, Tihy M, Gurgeon A, Pompili MN, Godsil BP, Lena C, Dugue GP (2016) Wireless inertial measurement of head kinematics in freely-moving rats. *Sci Rep* 6:35689.
- Paylor R, Crawley JN (1997) Inbred strain differences in prepulse inhibition of the mouse startle response. *Psychopharmacology (Berl)* 132:169-180.
- Pellet J (1990) Neural organization in the brainstem circuit mediating the primary acoustic head startle: an electrophysiological study in the rat. *Physiol Behav* 48:727-739.
- Petyko Z, Galosi R, Toth A, Mate K, Szabo I, Karadi Z, Lenard L (2015) Responses of rat medial prefrontal cortical neurons to Pavlovian conditioned stimuli and to delivery of appetitive reward. *Behav Brain Res* 287:109-119.
- Petyko Z, Toth A, Szabo I, Galosi R, Lenard L (2009) Neuronal activity in rat medial prefrontal cortex during sucrose solution intake. *Neuroreport* 20:1235-1239.
- Phan KL, Magalhaes A, Ziemlewicz TJ, Fitzgerald DA, Green C, Smith W (2005) Neural correlates of telling lies: a functional magnetic resonance imaging study at 4 Tesla. *Acad Radiol* 12:164-172.
- Pilz PK, Caeser M, Ostwald J (1988) Comparative threshold studies of the acoustic pinna, jaw and startle reflex in the rat. *Physiol Behav* 43:411-415.
- Pilz PK, Schnitzler HU, Menne D (1987) Acoustic startle threshold of the albino rat (*Rattus norvegicus*). *J Comp Psychol* 101:67-72.

- Plappert CF, Pilz PK, Schnitzler HU (1993) Acoustic startle response and habituation in freezing and nonfreezing rats. *Behav Neurosci* 107:981-987.
- Reijmers LG, Peeters BW (1994a) Acoustic prepulses can facilitate the startle reflex in rats: discrepancy between rat and human data resolved. *Brain Res Bull* 35:337-338.
- Reijmers LG, Peeters BW (1994b) Effects of acoustic prepulses on the startle reflex in rats: a parametric analysis. *Brain Res* 667:144-150.
- Reijmers LG, Vanderheyden PM, Peeters BW (1995) Changes in prepulse inhibition after local administration of NMDA receptor ligands in the core region of the rat nucleus accumbens. *Eur J Pharmacol* 272:131-138.
- Richert KA, Carrion VG, Karchemskiy A, Reiss AL (2006) Regional differences of the prefrontal cortex in pediatric PTSD: an MRI study. *Depress Anxiety* 23:17-25.
- Rigdon GC (1990) Differential effects of apomorphine on prepulse inhibition of acoustic startle reflex in two rat strains. *Psychopharmacology (Berl)* 102:419-421.
- Rohleder C, Wiedermann D, Neumaier B, Drzezga A, Timmermann L, Graf R, Leweke FM, Endepols H (2016) The Functional Networks of Prepulse Inhibition: Neuronal Connectivity Analysis Based on FDG-PET in Awake and Unrestrained Rats. *Front Behav Neurosci* 10:148.
- Rosen JB, Davis M (1988) Enhancement of acoustic startle by electrical stimulation of the amygdala. *Behav Neurosci* 102:195-202, 324.
- Rosenkranz JA, Grace AA (2001) Dopamine attenuates prefrontal cortical suppression of sensory inputs to the basolateral amygdala of rats. *J Neurosci* 21:4090-4103.
- Rossi S, Bartalini S, Ulivelli M, Mantovani A, Di Muro A, Goracci A, Castrogiovanni P, Battistini N, Passero S (2005) Hypofunctioning of sensory gating mechanisms in patients with obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry* 57:16-20.
- Rule RR, Shimamura AP, Knight RT (2002) Orbitofrontal cortex and dynamic filtering of emotional stimuli. *Cogn Affect Behav Neurosci* 2:264-270.
- Runyan JD, Moore AN, Dash PK (2004) A role for prefrontal cortex in memory storage for trace fear conditioning. *J Neurosci* 24:1288-1295.
- Saitoh K, Shaw S, Tilson HA (1986) Noradrenergic influence on the prepulse inhibition of acoustic startle. *Toxicol Lett* 34:209-216.
- Sallinen J, Haapalinna A, Viitamaa T, Kobilka BK, Scheinin M (1998) Adrenergic alpha<sub>2C</sub>-receptors modulate the acoustic startle reflex, prepulse inhibition, and aggression in mice. *J Neurosci* 18:3035-3042.
- Schmajuk NA, Larrauri JA (2005) Neural network model of prepulse inhibition. *Behav Neurosci* 119:1546-1562.
- Schwabe K, Enkel T, Klein S, Schutte M, Koch M (2004) Effects of neonatal lesions of the medial prefrontal cortex on adult rat behaviour. *Behav Brain Res* 153:21-34.
- Schwabe K, Koch M (2004) Role of the medial prefrontal cortex in N-methyl-D-aspartate receptor antagonist induced sensorimotor gating deficit in rats. *Neurosci Lett* 355:5-8.
- Schwarzkopf SB, Bruno JP, Mitra T (1993) Effects of haloperidol and SCH 23390 on acoustic startle and prepulse inhibition under basal and stimulated conditions. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 17:1023-1036.
- Selemon LD (2001) Regionally diverse cortical pathology in schizophrenia: clues to the etiology of the disease. *Schizophr Bull* 27:349-377.
- Self DW (1998) Neural substrates of drug craving and relapse in drug addiction. *Ann Med* 30:379-389.
- Sesack SR, Pickel VM (1990) In the rat medial nucleus accumbens, hippocampal and catecholaminergic terminals converge on spiny neurons and are in apposition to each other. *Brain Res* 527:266-279.
- Shoemaker JM, Saint Marie RL, Bongiovanni MJ, Neary AC, Tochen LS, Swerdlow NR (2005) Prefrontal D1 and ventral hippocampal N-methyl-D-aspartate regulation of startle gating in rats. *Neuroscience* 135:385-394.
- Sipes TA, Geyer MA (1994) Multiple serotonin receptor subtypes modulate prepulse inhibition of the startle response in rats. *Neuropharmacology* 33:441-448.



- Sipes TE, Geyer MA (1997) DOI disrupts prepulse inhibition of startle in rats via 5-HT<sub>2A</sub> receptors in the ventral pallidum. *Brain Res* 761:97-104.
- Swanson LW (1981) A direct projection from Ammon's horn to prefrontal cortex in the rat. *Brain Res* 217:150-154.
- Swerdlow NR, Braff DL, Geyer MA (1990a) GABAergic projection from nucleus accumbens to ventral pallidum mediates dopamine-induced sensorimotor gating deficits of acoustic startle in rats. *Brain Res* 532:146-150.
- Swerdlow NR, Braff DL, Geyer MA (2000) Animal models of deficient sensorimotor gating: what we know, what we think we know, and what we hope to know soon. *Behav Pharmacol* 11:185-204.
- Swerdlow NR, Braff DL, Masten VL, Geyer MA (1990b) Schizophrenic-like sensorimotor gating abnormalities in rats following dopamine infusion into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology (Berl)* 101:414-420.
- Swerdlow NR, Braff DL, Taaid N, Geyer MA (1994) Assessing the validity of an animal model of deficient sensorimotor gating in schizophrenic patients. *Arch Gen Psychiatry* 51:139-154.
- Swerdlow NR, Caine SB, Braff DL, Geyer MA (1992a) The neural substrates of sensorimotor gating of the startle reflex: a review of recent findings and their implications. *J Psychopharmacol* 6:176-190.
- Swerdlow NR, Caine SB, Geyer MA (1992b) Regionally selective effects of intracerebral dopamine infusion on sensorimotor gating of the startle reflex in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 108:189-195.
- Swerdlow NR, Geyer MA (1993) Clozapine and haloperidol in an animal model of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. *Pharmacol Biochem Behav* 44:741-744.
- Swerdlow NR, Geyer MA (1998) Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. *Schizophr Bull* 24:285-301.
- Swerdlow NR, Keith VA, Braff DL, Geyer MA (1991) Effects of spiperone, raclopride, SCH 23390 and clozapine on apomorphine inhibition of sensorimotor gating of the startle response in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 256:530-536.
- Swerdlow NR, Shoemaker JM, Bongiovanni MJ, Neary AC, Tochen LS, Saint Marie RL (2005) Reduced startle gating after D<sub>1</sub> blockade: effects of concurrent D<sub>2</sub> blockade. *Pharmacol Biochem Behav* 82:293-299.
- Szabo I, Czurko A, Csicsvari J, Hirase H, Leinekugel X, Buzsaki G (2001) The application of printed circuit board technology for fabrication of multi-channel micro-drives. *J Neurosci Methods* 105:105-110.
- Taber MT, Fibiger HC (1995) Electrical stimulation of the prefrontal cortex increases dopamine release in the nucleus accumbens of the rat: modulation by metabotropic glutamate receptors. *J Neurosci* 15:3896-3904.
- Thierry AM, Blanc G, Sobel A, Stinus L, Glowinski J (1973) Dopaminergic terminals in the rat cortex. *Science* 182:499-501.
- Totah NK, Kim YB, Homayoun H, Moghaddam B (2009) Anterior cingulate neurons represent errors and preparatory attention within the same behavioral sequence. *J Neurosci* 29:6418-6426.
- Toth A, Petyko Z, Galosi R, Szabo I, Karadi K, Feldmann A, Peczely L, Kallai V, Karadi Z, Lenard L (2017) Neuronal coding of auditory sensorimotor gating in medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 326:200-208.
- Toth A, Petyko Z, Mathe K, Szabo I, Czurko A (2007) Improved version of the printed circuit board (PCB) modular multi-channel microdrive for extracellular electrophysiological recordings. *J Neurosci Methods* 159:51-56.
- Totterdell S, Smith AD (1989) Convergence of hippocampal and dopaminergic input onto identified neurons in the nucleus accumbens of the rat. *J Chem Neuroanat* 2:285-298.
- Uylings HB, van Eden CG (1990) Qualitative and quantitative comparison of the prefrontal cortex in rat and in primates, including humans. *Prog Brain Res* 85:31-62.

- Varty GB, Higgins GA (1994) Differences between three rat strains in sensitivity to prepulse inhibition of an acoustic startle response: influence of apomorphine and phencyclidine pretreatment. *J Psychopharmacol* 8:148-156.
- Varty GB, Higgins GA (1995) Examination of drug-induced and isolation-induced disruptions of prepulse inhibition as models to screen antipsychotic drugs. *Psychopharmacology (Berl)* 122:15-26.
- Venables PH (1964) Input Dysfunction in Schizophrenia. *Prog Exp Pers Res* 72:1-47.
- Venables PH (1969) Sensory aspects of psychopathology. *Proc Annu Meet Am Psychopathol Assoc* 58:132-143.
- Vertes RP (2004) Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse* 51:32-58.
- Vianna DM, Graeff FG, Brandao ML, Landeira-Fernandez J (2001) Defensive freezing evoked by electrical stimulation of the periaqueductal gray: comparison between dorsolateral and ventrolateral regions. *Neuroreport* 12:4109-4112.
- Wan FJ, Geyer MA, Swerdlow NR (1994) Accumbens D2 modulation of sensorimotor gating in rats: assessing anatomical localization. *Pharmacol Biochem Behav* 49:155-163.
- Wan FJ, Geyer MA, Swerdlow NR (1995) Presynaptic dopamine-glutamate interactions in the nucleus accumbens regulate sensorimotor gating. *Psychopharmacology (Berl)* 120:433-441.
- Wan FJ, Swerdlow NR (1993) Intra-accumbens infusion of quinpirole impairs sensorimotor gating of acoustic startle in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 113:103-109.
- Wan FJ, Swerdlow NR (1996) Sensorimotor gating in rats is regulated by different dopamine-glutamate interactions in the nucleus accumbens core and shell subregions. *Brain Res* 722:168-176.
- Wan FJ, Swerdlow NR (1997) The basolateral amygdala regulates sensorimotor gating of acoustic startle in the rat. *Neuroscience* 76:715-724.
- Wecker JR, Ison JR (1986) Visual function measured by reflex modification in rats with inherited retinal dystrophy. *Behav Neurosci* 100:679-684.
- Weinberger DR, Egan MF, Bertolino A, Callicott JH, Mattay VS, Lipska BK, Berman KF, Goldberg TE (2001) Prefrontal neurons and the genetics of schizophrenia. *Biol Psychiatry* 50:825-844.
- Woods DL, Knight RT (1986) Electrophysiologic evidence of increased distractibility after dorsolateral prefrontal lesions. *Neurology* 36:212-216.
- Wu MF, Suzuki SS, Siegel JM (1988) Anatomical distribution and response patterns of reticular neurons active in relation to acoustic startle. *Brain Res* 457:399-406.
- Yamaguchi S, Knight RT (1990) Gating of somatosensory input by human prefrontal cortex. *Brain Res* 521:281-288.
- Yamaguchi S, Knight RT (1991) Anterior and posterior association cortex contributions to the somatosensory P300. *J Neurosci* 11:2039-2054.
- Yeomans JS, Rosen JB, Barbeau J, Davis M (1989) Double-pulse stimulation of startle-like responses in rats: refractory periods and temporal summation. *Brain Res* 486:147-158.
- Yunger LM, Harvey JA (1973) Effect of lesions in the medial forebrain bundle on three measures of pain sensitivity and noise-elicited startle. *J Comp Physiol Psychol* 83:173-183.

## **Köszönetnyilvánítás**

A doktori disszertációm több éves kutatómunka eredményeként jött létre. Munkám során számos nehézséggel kerültem szembe a kutatási téma kiválasztása, kijelölése, a szükséges nemzetközi és hazai szakirodalom feltérképezése, szintetizálása, a hipotézisek megfogalmazása, valamint az alkalmazott módszertan tekintetében. A doktori kutatómunkáról azt tartják, hogy alapvetően önálló munka. Azonban saját tapasztalataim alapján kijelenthetem, hogy témavezetőim, tanszéki és egyetemi kollégáim tanácsai, útmutatásai nélkül ez a disszertáció nem születhetett volna meg.

Legnagyobb köszönettel és hálával témavezetőimnek tartozom.

Legelőször is dr. Szabó Imre Professor Úrnak tartozom köszönettel, aki mellett betekintést nyerhettem az elektronika és azon belül a sokcsatornás elvezetés világába, közreműködhettem az Ő általa kifejlesztett elvezető rendszer létrehozásának több lépésében, valamint javaslatára fordultam a megrezzenési reakció kutatása felé, aminek kimagasló kutatója volt korábban.

Ezen kívül, rendkívül hálás vagyok másik témavezetőmnek, dr. Lénárd László Professor Úrnak, aki tanácsaival, iránymutatásaival mind a doktori disszertáció, mind az egyetemi oktatás során nagyon hasznosnak és követendőnek bizonyultak.

Nagyon-nagyon köszönöm Dr. Karádi Zoltán Professor Úr támogatását, segítségét, amiért nem tudok elég hálás lenni.

Hálásan köszönöm Petykó Zoltán kollégám segítségét, akinek döntő volt a szerepe és hozzájárulása a kísérletek, illetve a kapott adatok kiértékelése során. Továbbá köszönöm dr. Czurkó András és dr. Péczely László Urak igen hasznos támogatását. Tanácsaik igen nagyban hozzájárultak a kutatás folytatásához és erőt adtak a kísérleteim sikeres befejezéséhez.

Szeretném megköszönni súlyos betegségben elhunyt dr. Roska Tamás Professzor Úr segítségét a doktori kutatómunkám során. Örökké fog élni emlékezetemben.

Köszönettel tartozom továbbá minden kollégámnak, akik időt nem sajnálva közreműködtek doktori disszertációm megírásában.

És természetesen, nem tudom eléggé megköszönni Pázmányné Sulmics Borbála „labor mamának” a gondoskodását és rendkívüli szeretetét.

Végül hálásan köszönöm Szüleim és Családom minden tagjának határtalan türelmét és támogatását. Édesanyám óvó keze és Édesapám féltő gondoskodása nélkül sosem lettem volna képes a disszertációm megírására.

Külön köszönöm Feleségem szerető gondoskodását, aki a folytonos „noszogató” nélkül is átérezte, hogy mivel tud a legtöbb segítséget biztosítani számomra.

Pécs, 2018. április 20.

Tóth Attila