

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

Doktori (PhD) értekezés

Disszertáció

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

Rövidítések jegyzéke

ASR – Akusztikus Startle Reakció

EMG – elektromiogramm

EP – Evoked Potential/kiváltott potenciál

ERP – Evoked Response Potential/kiváltott válasz potenciál

ESK – elsődleges startle kör

fMRI – functional Magnetic Resonance Imaging/funkcionális mágneses rezonancia imaging

LFP – Local Field Potential/lokális mező potenciál

mPFC – mediális Prefrontális kéreg

NAC – Nucleus Accumbens

OCD – Obsessive Compulsive Disorder/kényszerbetegség

PCB – Printed Board Circuit/nyomtatott áramkör

PET – Pozitron Emission Tomography/pozitron emissziós tomográfia

PFC – Prefrontális kéreg

PPI – Prepulzív Inhibíció

SPL – Sound Pressure Level/hangnyomás

VCN – nucleus ventralis cochlearis

VLL – lemniscus ventrolateralis

VTA – Ventralis Tegmentalis Area

Bevezetés

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 taktilis-inger (air-puff) alkalmazása.) A leginkább kutatott, és legtöbb eredményt szolgáltató

megrezenési forma az akusztikus inger által kiváltott reakció. Az akusztikus megrezenési (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 hátterében 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 megrezenési reakció egy rendkívül gyors, reflexszerű reakció, mely arra utal, hogy csak néhány idegsejt közötti kapcsolat hozza létre a jellegzetes választ. 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. 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 megrezenési 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, megrezenési és annak módosított változata, a PPI alatt. Vizsgálataink végrehajtása során arra törekedtünk, hogy ennek a területnek a neuronális változásait regisztráljuk és analizáljuk.

A probléma felvetése

Az elsődleges célunk a jelenlegi kutatással kapcsolatban az volt, hogy leírhatóvá tegyük és ez által vizsgálhatóvá váljanak a szenzoros kapuzás parametrikus tulajdonságai. 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. Úgy véltük, hogy a gyors fejmozgások regisztrálása további hasznosítható adatokat szolgáltathat a megrezenési reakció és annak módosított változata, a prepulzív gátlás neurológiai hátterének megértéséhez.

Feltételeztük, hogy mindkét neuronális aktivitási szinten kimutathatóan stabil állapotot produkáltunk. 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 megrezenési

ingerre kialakuló kapuzás mértékének csökkenése a mPFC-ben megfigyelhető neuronális válasz változást idéz elő. A single unit aktivitások regisztrálásával az mPFC a szenzoros kapuzó mechanizmus szabályozásában betöltött speciális működéséről kaphatunk képet.

Célkitűzések

- Olyan mikrodrive kifejlesztését tűztem ki célul, aminek előnyei (mint: **kompakt szerkezet, alacsony össztömeg**, illetve **kis méret**, ami **nem korlátozza** egy kifejlett patkány **normális, szokásos viselkedését**, továbbá **könnyen adaptálható** a különböző kísérleti helyzetekre, **rendkívül stabil elvezetés biztosítása**, stb.) képessé tesznek arra, hogy a megrezzenés során megfelelő egysejt-elvezetéseket hajthassak végre, szabadon mozgó, viselkedő állatokon.
- További célul tűztem ki, a **megrezzenési reakció** és annak módosított változata, a **prepulzív gátlás (PPI) multi-unit technikával történő (sokcsatornás, tetródos elvezetés)** vizsgálatát **patkány mediális prefrontális kérgéből (mPFC)**.
- Bár nem szerepelt az eredeti célkitűzéseim között, de a kísérleteink során felmerült a startle reakcióban a **megrezzenés mértékének eddigiéknél adekvátabb mérését lehetővé tévő módszer** kifejlesztése. Kutatócsoportunk erre a célra kifejlesztette a **3D fejgyorsulásmérő** technikai eljárást, amivel a korábbiakhoz képest a **megrezzenés nagyságát jóval pontosabban** képesek vagyunk **meghatározni**.

Módszertani eredmények (technikai fejlesztések)

PCB mikrodrive

Számos labor szembesült azzal a ténnyel, hogy *laborok által könnyen előállítható, rendkívül stabil, a kísérletek szempontjából plasztikus, modulokból összeállítható, viszonylag kisméretű, ezáltal rágcsálók, főként patkányokra alkalmazható mikrodrive nem létezett.*

A mikrodrive, az eredeti PCB mikrodrive-okhoz hasonlóan, PCB moduláris elemekből, bronz csavarokból és anyákból, réz távtartókból és flexibilis szilikon csövekből áll. Két darab, bronz, #00-90” gömbölyű fejű csavar (J.I. Morris Co., Southbridge, MA, USA), 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 opcionálisan lefedett mikrodrive, rövid és hosszú elektródákkal feltölthetővé válik. Ilyen esetben, a hosszú elektródák sérülékenyekké válhatnak, mivel a felső PCB lemezeken túl nyúlnak, amit a fedő PCB lapka alkalmazásával, kiküszöbölhetünk. Az alacsony és magas elektródák az interface lapon található csatlakozó pontokhoz forraszthatók. A legáltalánosabb, kerek fejű csavarokat alkalmaztuk. Egy mikrodrive maximálisan 16 csavart tartalmazhat. A csavarok kör alakú elrendezése 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). Ennek az elrendezésnek az előnye az, 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 választottuk. 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. 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. 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. 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 állapotokon végzett krónikus unit regisztrálás során. A két flexibilis, vékony (TSP100200, 100 és 200 μm belső és külső átmérő; Polymicro Technologies, Phoenix, AZ, USA vagy Optronis GmbH, Kehl, Germany, EU) szilikon csövet, amelyet pillanatragasztóval rögzítünk a mozgó PCB lapkákhöz, 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 μm átmérőjű, H-ML szigetelésű Ni–Cr (Stablohm 675), illetve 12 μm , 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.

Az ún. „vastag” szilikon kapilláris cső (TSP250350, 250 és 350 μm 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 állapotból 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 μm H-ML szigetelt Ni–Cr elektródákat használtuk (Stablohm 675, California Fine Wire, CA, USA). Mikroszkóp segítségével belefűzhető 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. 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. Főként azért fontos erre felhívni a figyelmet, mert a korábbihoz képest az elektróda interface lemezt átterveztük. Az újra értelmezett interface lemezekenél 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. 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. 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 vagy egy darab 64 csatornás interface lemezre lesz szükség.

A második esetben, a 64 csatornás interface lemezhez 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. 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. Az elektródák beforrasztását sztereo-mikroszkóp 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-ekkel 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 sok-csatornás 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.

Az elektróda interface lemeznek a mikrodrive oldalán történő elhelyezése, további elrendezési lehetőségeket biztosít. Az egyik ilyen lehetséges elrendezés, az egymás tetejére helyezett, két mikrodrive-os változat. Ezt emeletes PCB mikrodrive-nak neveztük el. 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 lapkákra 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 távtartókhöz 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 fűrt 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. **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 agyfelszínt 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 hozzáforsztva, újra felhasználhatóvá válik a mikrodrive. A vastag szilikon csövek kicserélését követően, a mikrodrive újra feltölthetővé válik vékony szilikon csövekkel, amelyekben az elektródjaink találhatóak.

Módszertani eredmény diszkussziója

A legfontosabb módosítás a modernizált PCB mikrodrive verzión, 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 mozgató mechanizmusában, egyértelmű előnyt kölcsönöz az eszközünknek a krónikus unit regisztráció során, szabadon mozgó állapotban.

További előnye ennek az új PCB mikrodrive dizájnnak, 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 dizájnnak, 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 μm 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 túlnyúlnak 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 lehetségessé 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 a következők: rendkívül kompakt szerkezet, újrahasonosítható, azonban a különböző vizsgálatok eltérő igényeinek megfelelően könnyen adaptálható. Méretei és tömege, egy kifejlett patkány számára nem korlátozó tényező.

3D fejgyorsulásmérő 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. 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. A hangszigetelt dobozban elhelyezett plexi lapra kerül a kísérleti állat.

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. Az eredetileg 32 csatornás előerősítővel egybeépített gyorsulásmérő eszköz az előzőekben említett 1000 Hz-s rezolúció mellett 24 bit-s analóg-digitál konverzióval működik. 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 fejgyorsulásokat 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.

Pasquet és munkatársai hasonló eredményre jutottak, mint a később általam is bemutatandó fejgyorsulási eredményeink ([Pasquet et al., 2016](#)). 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 mérésérét sokkal precízebben végzi el, mint a korábban alkalmazott módszerek.

Elektrofiziológiai eredmények

Kísérletben felhasznált állatok

3 db felnőtt, 4 hónapnál idősebb, hím, Wistar patkányt (súlyuk 400-450g) ([Varty and Higgins, 1994](#)) használtunk a kísérleteinkhez. Az állatokat külön ketrecekben tartottuk, 12 órás nappali és 12 órás éjszakai ciklusban (a nappali időszak reggel 6-tól indult). A hőmérsékletet (24±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.

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 fejtetőről eltávolítottuk a bőrt és a koponyaacsontba csavarokat helyeztünk, hogy stabilizálja a drive-unkat. Az egyik csavart felhasználtuk, mint földet és egy másikat pedig referencia elektródaaként 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). A vékony szilikon csövek, mint vezető csövek szolgálták a tetródjaink számára, melyek segítségével az elektródáink hegye az mPFC felszíne felett helyezkedtek el. Az összes tetródunkat a prelimbikus régió feletti területig süllyesztettük le.

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). 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 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.

Adatelemzés

A vizsgálataink során alkalmazott ingerek (megrezenés/startle önmagában és prepulzív + megrezenést 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 megrezenést/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). Egyfaktoros 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 a különböző szituációk elkülönítésére.

Szövetteni érékelés

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

Eredmények

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). 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).

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. 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.

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 (megrezenést kiváltó/startle inger önmagában és prepulzív+startle inger) válaszolt, azonban azon sejtek, amelyek tüzelési mintázata a prepulzív+startle ingerre megváltozott, azok közül mindegyik a megrezenést kiváltó ingerre önmagában is reagált. Az általunk regisztrált unitokat 3 csoportba (rövid-, közepes- és hosszú-unit válaszú csoport) soroltuk be 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 válaszú csoportot további alcsoportra lehetett bontani, az alapján, hogy a két akusztikus ingerre adott válaszuk milyen volt. A szimmetrikus (a) alcsoportba azokat a sejtválaszokat 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 válaszú csoportba azokat a neuronokat soroltuk, melyeknek az ingerlésekre adott válaszuk röviddel a megrezenést kiváltó ingert követően megjelentek és az aktivitás időtartama meghaladta az 50 ms-ot, de nem volt hosszabb, mint 1 s. A harmadik, hosszú unit válaszú kategóriába azokat 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.

Rövid válasz időtartamú sejtek

Startle önmagában „trial” típus

Az általunk regisztrált 287 sejtől 49 (17,1%) neuron válaszolt a megrezenést kiváltó hangingerre a startle önmagában kísérleti felállás során. Prepulzív+ startle „trial” típus: A kísérleteink során rögzített 287 neuronból 29 (10,1%) idegsejt tüzelési mintázata változott meg a prepulzív+ startle ingerlés során. Ebből a 29 neuronból 10-t a rövid időtartamú, szimmetrikus alcsoportba soroltunk, míg a maradék 19 sejtet, a rövid időtartamú, aszimmetrikus alcsoportba. 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].

Populációs aktivitás

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. Megrezenés önmagában, a startle alatti válasz prepulzív+ startle ingerlési esemény, valamint a prepulzív ingerre adott válasz prepulzív+ startle ingerlés során. 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.

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

Populációs aktivitás

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 ($F(2,720) = 2,04, p < 0,01$), azonban szignifikáns interakciót nem találtunk közöttük.

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, míg 17 (5,92%) pedig csökkentette a tüzelési aktivitását a kísérleti kondíció során. 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.

Populációs aktivitás

A populációs aktivitás mintázat is jelzi, hogy ez a csoport eltér mind a két másik csoport választól. 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 idegsejtnak a populációs aktivitása, amelyek az ingerlés típusok (startle önmagában, prepulzív+startle startle ingerre és prepulzív+startle prepulzív) ingerekre inhibitoros választ adtak. 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.

Elektrofiziológiai eredmények diszkussziója

Jelen kísérletnek két célja volt: az első, hogy olyan, korábban még nem publikált eredményekhez juthassunk hozzá a megrezzenési válasszal és a PPI-vel kapcsolatban, mely során egy-sejt aktivitást regisztrációt hajtunk végre a mPFC-ben, szabadon mozgó, viselkedő állatokon. 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 objektíven mérhetővé 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 legtetűjén 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 rendelkezik. A PFC közvetlenül közreműködik a munkamemória (a rövidtávú információ tárolásban) és ennek a régiónak az aktivitása egy átmeneti tárolóként is szolgál a külső, modulátoros aktivitásokkal kapcsolatban. Szintén szerepe van a figyelmi folyamatokban és a memória konszolidációban úgy szintén. Ezek a különféle funkciók és a központi szabályozó szerepe a motivációban és a tanulási folyamatokban ([Cardinal et al., 2002](#)), továbbá a táplálék és vízfelvétellel kapcsolatos viselkedés kialakításában ([Hernadi et al., 2000](#), [Nagy et al., 2012](#)), arra utal, hogy számos agyi régióval áll kölcsönös kapcsolatban a mPFC. A mPFC a medio-dorsalis thalamus-tól (MD) kap bemenetet ([Uylings and van Eden, 1990](#)), valamint a ventrális tegmentális area-tól ([Thierry et al., 1973](#)), továbbá a bazális ganglionok különböző részeiből ([Groenewegen et al., 1997](#)), a laterális hypothalamikus area-tól ([Kita, 1978](#)), inputot kap még az amygdala-tól ([Krettek and Price, 1977](#), [Swanson, 1981](#), [McDonald, 1987, 1991](#)) és a hippocampus-tól ([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 mediodorzális thalamusba, a hippocampusba, a bazolaterális amygdalába (BLA) és a bazális ganglionok számos csoportjába. 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 gray (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 szabályozása alatt áll. Rholeder és kollégái ([Rohleder et al., 2016](#)) kimutatták fMRI vizsgálataik során, hogy a prefrontális kéreg (PrL) 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 eliminációja 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 hátterében, 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 hátterében betöltött szerepét az adott agyterületen. Mindezek után, a saját véleményem, hogy a modell organizmusban, mint jelen esetben rágszálóknál, 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 hátterének 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. Az idegsejt válaszai a szimmetrikus alcsoportnak hasonló aktivitást mutattak, mind a prepulzív, mind a startle-t kiváltó ingerlésre. Továbbá, ez a hasonlóság a populációs tüzelési minta analízise során még kifejezettebb képet mutatott. A válaszok amplitúdója és időtartama is azonosnak mondható volt mindkét ingerlési mintázat alkalmazása során. Másrészt, egymástól jól elkülöníthető tulajdonságokkal rendelkező unit aktivitásokat figyeltünk meg prepulzív+startle és startle önmagában ingerlési kondíciók során az aszimmetrikus alcsoport esetében. Ez a neuron populáció tovább bontható: a döntő többségében a neuronok főként a startle ingerre adtak nagyobb választ, azonban egy jóval kisebb csoportja az aszimmetrikus neuronok csoportjából a prepulzív ingerre adtak nagyobb amplitúdójú választ. 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. 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 megvezetés mértékét,

anélkül, hogy bármilyen tanulási mechanizmus részt venne benne, illetve a „tanult” vagy kondicionált komponens. Ez utóbbi összetevője a PPI-nek, 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 háttérben 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 mozdulatlan dermedés kialakulása szerepel. Ezzel szemben, a rövid időtartamú csoport unit aktivitása a szenzoros bemenettel állhat kapcsolatban. A gyorsulásméréseken 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. A non-humán, 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 miniatűr, 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. 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 csúcú görbe első hulláma felel meg a konvencionális megrezzenési mérőeszközök által regisztráltakal. ***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.

Irodalom

Abeles M, Gerstein GL (1988) Detecting spatiotemporal firing patterns among simultaneously recorded single neurons. J Neurophysiol 60:909-924

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.

- Blumenthal TD, Schicatano 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 (2001) Impact of prepulse characteristics on the detection of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. *Schizophr Res* 49:171-178.
- Braff DL, Greenwood TA, Swerdlow NR, Light GA, Schork NJ (2008) Advances in endophenotyping schizophrenia. *World Psychiatry* 7:11-18.
- 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.
- 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.
- Fendt M, Li L, Yeomans JS (2001) Brain stem circuits mediating prepulse inhibition of the startle reflex. *Psychopharmacology (Berl)* 156:216-224.
- 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.
- 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.
- 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, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kavanagh JJ, Menz HB (2008) Accelerometry: a technique for quantifying movement patterns during walking. *Gait Posture* 28:1-15.
- 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.
- 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, 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.
- 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.
- Ledberg A, Robbe D (2011) Locomotion-related oscillatory body movements at 6-12 Hz modulate the hippocampal theta rhythm. *PLoS One* 6:e27575.
- 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.

- 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.
- 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.
- Pasquet MO, Tihy M, Gourgeon A, Pompili MN, Godsil BP, Lena C, Dugue GP (2016) Wireless inertial measurement of head kinematics in freely-moving rats. *Sci Rep* 6:35689.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 (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, 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.

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.

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.

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.

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.

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, 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. 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