

A MAM-E17 skizofrénia patkánymodell

Doktori (PhD) értekezés tézisei

Kállai Veronika

PÉCSI TUDOMÁNYEGYETEM

ÁLTALÁNOS ORVOSTUDOMÁNYI KAR

Elméleti Orvostudományok Doktori Iskola

Doktori Iskola vezetője: Prof. Dr. Szekeres Júlia

Programvezető: Prof. Dr. Kállai János

Témavezető: Prof. Dr. Lénárd László, Prof. Dr. Szabó Imre

Pécs, 2019.

1. Bevezetés

A skizofrénia egy súlyos neuropszichiátriai betegség, amely a világ felnőtt népességének körülbelül 1 %-át érinti [1, 2]. A betegséghez kapcsolódó tünetcsoportok a pozitív, a negatív, és a kognitív szimptomák [1].

A skizofrénia kialakulásában genetikai és környezeti rizikófaktorok [3] is részt vesznek, amelyek együttesen a különböző neurotranszmitter rendszerek hibás működését [4], neurobiológiai [5] és szövettani változásokat [6, 7] idéznek elő. A skizofrénia kialakulására vonatkozó számos elképzelés közül az idegfejlődési teóriát támasztja alá a legtöbb bizonyíték [3, 8]. Ezen elmélet szerint a központi idegrendszer fejlődésének korai szakaszában bizonyos neurális köröket sérülés ér, amelynek következményei a korai felnőttkorban jelentkeznek.

A skizofrénia bizonytalan etiológiája, valamint komplex patofiziológiája miatt a betegek kezelése napjainkban is kihívást jelent. A National Institute of Mental Health (NIMH) fő kutatási irányvonalként a betegség patofiziológiájának megismerését hangsúlyozza, amelyben az állatmodellek kiterjedt vizsgálati lehetőségeket biztosítanak.

A skizofrénia szimptomáinak megjelenése diakronikus mintázatot követ. A kognitív tünetek már az élet korai szakaszán feltűnnek [9]; ezért prodromális jelei lehetnek a betegség későbbi kialakulásának. A korai felismerés lehetővé teszi a kezelés korábbi megkezdését, ami javítja a betegség kimenetelét [10]. Ezért a NIMH Early Psychosis Prediction and Prevention (EP3) kezdeményezésének célja magas rizikófaktorú személyeknél a pszichotikus betegségeket megelőző rizikóállapotok felismerése a pszichózis kialakulásának megelőzése érdekében, valamint a pszichózis kezeletlen időtartamának lecsökkentése.

A preventív kezeléseket előkészítő állatkísérleteknek feltétele a kísérleti modell és az általa reprezentált szimptomák diakronikus megjelenésének alapos ismerete. Jelen kísérleteinkhez az idegfejlődési modellek közé tartozó validált, a metilazoximetanol-acetát (MAM) sejtproliferációt gátló hatásán alapuló MAM-E17 patkánymodellt választottuk. Bár ez idáig számos vizsgálatot végeztek ezen a modellen, a tünetek életkorfüggő megjelenéséről továbbra is igen kevés adat áll a rendelkezésünkre.

1.1. A MAM-E17 modell létrehozása és jellemzői

A modell kialakításához metilazoximetanol észterét, a metilazoximetanol-acetátot (MAM) az anyaállatnak intraperitoneálisan injektálják a vemhesség 17. napján (MAM-E17 modell) [11, 12]. Az anyag a placentán keresztül bejut a magzatba, ahol metilálja a központi idegrendszer

gyorsan osztódó sejtjeinek DNS-ét [13, 14], továbbá a hiszton fehérjék metilációs mintázatát is befolyásolja [15].

A MAM-kezelés hatása szelektíven a központi idegrendszerre irányul [16], elsősorban az agykéreg és még inkább a hippocampus területén zajló idegfejlődési folyamatokat befolyásolja [17, 18]. A strukturális változások metabolikus aktivitásbeli és neurotranszmisszióbeli változásokat [4] idéznek elő azokban a neuronális körökben, amelyek az érintett régiókat (elsősorban a prefrontális- (PFC) és a temporális kérget) magukba foglalják [17, 19]. A skizofrénia patofiziológiáját szintén a limbikus és a frontális kérgi neuronális körök fejlődési rendellenessége és az ezekhez köthető neurotranszmitterrendszerek zavara okozhatja [20].

1.2.1. Szövettani jellemzők

A MAM-E17 állatoknál a teljes agy tömege csökken [15, 21-23], skizofréniához hasonlóan [7, 24], továbbá a MAM-kezelt állatok egy részénél a skizofréneknél gyakori kamrai megnagyobbodás is megfigyelhető [6, 7, 23, 25]. Szövettani vizsgálatok szerint a MAM-E17 kezelés a PFC, perirhinális (PRH), occipitális (OCC) és entorhinális kéreg valamint a hippocampus területén okoz térfogatcsökkenést [21, 23, 26, 27], a humán leletekhez hasonlóan [6, 7]. A PFC [17] és a hippocampus [21, 22, 28-30] piramissejtjeinek szerveződésében és morfológiájában eltérések figyelhetők meg. Mindkét agyterületen lecsökken a (PV+) GABA-erg interneuronok száma [30-33], ennek megfelelően az érintett területek gamma ritmusa is zavart szenved [32]. Mindez skizofréneknél is megfigyelhető [34-40].

1.2.2. Neurofiziológiai jellemzők

Elektrofiziológiai vizsgálatok (egysejtelvezés, lassúhullám analízis) kimutatták a betegség patofiziológiájáért leginkább felelős strukturák (PFC, a hippocampus, a n.Acc és a ventrális tegmentális area (VTA)) zavart működését [17, 31, 41, 42], amely végső soron a kognitív képességek romlásához és hibás magatartásszabályozáshoz vezet [43].

1.2.3. Magatartás

A MAM-E17 modellállatokban fellelhető magatartási zavarok a frontális kéreg és a limbikus rendszer DA-ergiás bemeneteinek zavarához köthetők [21], és a DA-erg és a glutamáterg rendszer közti egyensúly felborulását tükrözik [25]. A szociális interakciós deficitet kivéve szinte az összes magatartási tünet a pubertáskor, illetve a fiatal felnőttkor időszakában jelenik meg [21,

25], erős párhuzamot mutatva a skizofréniában megfigyelhető tünetek megjelenésével. A MAM-E17 modellen megfigyelhető magatartásváltozásokat az 1-es táblázat foglalja össze.

	Skizofrénia	MAM-E17 modell
Pozitív	kényszermozgások, hallucinációk, téveszmék, bizarr viselkedés, sztereotip magatartás, pszichomotoros agitáció, amfetamin, NMDA receptor antagonisták indukálta pszichózis	lokomotoros hiperaktivitás, hiperreaktivitás (stressz, amfetamin, NMDA receptor antagonisták, indukálta hiperaktivitás), sztereotip magatartás spontán orofacialis diszkinézia
Negatív	érzelmi elsivárosodás, szociális visszahúzódás	szociális interakciós zavar
Kognitív	figyelemzavar, munkamemóriazavar, magatartási flexibilitászavar	figyelemzavar, rövidtávú memóriazavar, munkamemóriazavar, magatartási flexibilitászavar
	szenzoros-motoros kapuzási deficit (prepulse inhibíció (PPI) zavar) látens inhibíció (LI) zavar	

1. táblázat. A skizofrénia tüneteinek megfelelő magatartásváltozások MAM-E17 modellben

2. Célkitűzés

A skizofrénia kezelésében a terápiás hatékonyság fokozása érdekében elengedhetetlen a betegség állatmodelleken történő vizsgálata. A MAM-E17 modell egy validált idegfejlődési modell. A preventív kezeléseket előkészítő állatkísérletekhez szükség lenne egy, a skizofrénszerű szimptomák pubertáskori fejlődésére irányuló komplex, átfogó vizsgálatsorra, azonban napjainkig ilyet nem végeztek. Ezért a jelen kísérletek célja a MAM-E17 modell több életkoron átívelő (prepubertás, pubertás és felnőttkor) átfogó magatartási vizsgálata, amely a skizofrénia betegség tüneteinek széles spektrumát lefedi.

A vizsgált magatartások a következők voltak:

1. A spontán lokomotoros aktivitást open field teszt (OPF) segítségével vizsgáltunk, emellett értékeltük az állatok sztereotip magatartásait is (ágaskodás, mosakodás, szaglászás).
2. A szorongás vizsgálatára az emelt keresztpalló tesztet (EPM) alkalmaztuk, emellett az OPF teszt eredményeit is elemeztük szorongás szempontjából is.

3. A szenzoros-motoros kapuzó mechanizmusokat a startle reakció prepulse inhibíciós paradigmájában (PPI) monitoroztuk.
4. A motoros koordinációs képességek értékeléséhez rotarod tesztet alkalmaztunk.
5. A kognitív képességeket 8 karú labirintus tesztben (RAM) vizsgáltuk.

A MAM-E17 modellállatok agyában (elsősorban a hippocampusban) található strukturális elváltozások felderítéséhez szövettani analízist végeztünk.

3. Kísérleti módszertan

3.1. Kísérleti állatok

A MAM-E17 modellállatokat saját laborunkban hoztuk létre [21, 31]. 41 nőstény és 19 hím Wistar-patkányt pároztattunk (Charles-River, Magyarország). A vemhes nőstények a gesztációs 17. napon intraperitoneálisan MAM (MRIGlobal Chemical Carcinogen Repository, Kansas City, Missouri; 25 mg/kg 0,9% NaCl-ban oldva) vagy vehikulum (0,9% NaCl oldat) injekciót kaptak. Az utódokat 3-4 hetes korukban választottuk el az anyától.

Az állatházban állandó, 22 ± 1 °C hőmérsékletet, $55 \pm 10\%$ -os páratartalmat, és 12 órás ciklusokban váltakozó fény-sötét periódust (7:00/19:00) biztosítottunk. Az állatok standard laboratóriumi rágszálótápot (Charles-River Magyarország Kft., Budapest) és csapvizet fogyaszthattak *ad libitum*. Az állatok tartása során az egyetemi (BA02/2000-8/2012, BA02/2000-64/2017), hazai (40/2013. (II. 14.) számú Magyar Kormányrendelet) és nemzetközi (European Community Council Directive, 86/609/EEC, 1986, 2010) állatkísérletes etikai irányelveknek megfelelően jártunk el.

Kísérleteinket a következő életkorokban végeztük: prepubertáskor, amely átfedhet a korai pubertáskorral (4-5 hét = PD28-42, ezt a későbbiekben prepubertáskornak nevezzük), késői pubertáskor átfedésben a fiatal felnőttkorral (8-9 hét = PD56-70, ezt késői pubertáskorként említjük) és felnőttkor (14-15 hét = PD98-112).

A kísérletekben hím utódokkal dolgoztunk. A lokomotoros aktivitást, szorongást, a rotarodon nyújtott teljesítményt valamint a szenzoros-motoros kapuzó mechanizmusokat ugyanazon állatokon vizsgáltuk 3 különböző életkorban, prepubertás, késői pubertás és felnőtt korban (MAM-E17: n=19, ill. kontroll: n=22). A RAM tesztet a tanulási transzfer miatt mindhárom életkorban más-más állatcsoporton végeztük (kontroll: prepubertásban n=12,

pubertásban n=9, és felnőttkorban n=11; ill. MAM-E17: prepubertásban n=14, pubertásban n=9, és felnőttkorban n=15).

A magatartási tesztek a nappali ciklusban végeztük 08:00 és 16:00 óra között.

3.2. Neurológiai vizsgálatok

Annak ellenőrzésére, hogy a MAM-kezelés hatással van-e a motoros képességekre, neurológiai vizsgálatokat végeztünk. Ennek során monitoroztuk az izomtónust, a vizuális és proprioceptív placing reflexeket, a végtagok koordinációs képességét rácson járással és a kapaszkodás vizsgálatával [44].

3.3. Magatartási vizsgálatok

3.3.1. Spontán lokomotoros aktivitás vizsgálata open field tesztben (OPF)

A spontán lokomotoros aktivitást és az általános magatartást OPF tesztben vizsgáltuk. Az apparátus egy 50×50×40 cm-es, nyitott tetejű szürke doboz, amelynek alját virtuálisan 16 azonos méretű négyzetre osztottuk. A kísérleteket egy hangszigetelt, gyengén megvilágított szobában (40 W, vörös fény) végeztük. Az aréna fölött egy videokamerát helyeztünk el, amely rögzítette az állatok mozgását, majd ezt a Noldus EthoVision Basic software (Noldus Information Technology b.v., Wageningen, Hollandia) segítségével elemeztük.

A teszt 3 egymást követő napon történt. Az állatokat egyenként az aréna közepére helyeztük 5 perces időtartamokra (ülés). Ezen ülések alatt a Noldus rendszer rögzítette az állatok lokomotoros aktivitását és kiszámította a virtuális határvonalak átlépésének számát (keresztezések száma, crossing), valamint az állatok által megtett utat. Az állatok magatartási mintázatait, azaz az ágaskodások (rearing), szaglászások (sniffing) és mosakodások (grooming) számát kézzel regisztráltuk.

3.3.2. Szorongás vizsgálata

3.3.2.1. Szorongás vizsgálata emelt keresztpalló tesztben (elevated plus maze, EPM)

Az állatok szorongását EPM tesztben vizsgáltuk. Az apparátus két szürke pallóból áll, amelyek egy keresztet képeznek. Két egymással szemben álló kar nyitott (50×12 cm), kettő zárt, ezek fala 40 cm magas (50×12×40 cm), a tető nyitott. Az apparátus padlója a talaj felett 100 cm magasságban helyezkedik el. A kísérleteket egy hangszigetelt, gyengén megvilágított szobában végeztük. Az adatok rögzítése és elemzése az OPF tesztnél leírt módon történt.

Az állatokat az apparátus közepére helyeztük (centrális platform), orral valamelyik zárt kar irányában. A teszt 5 percig tartott, mialatt mértük mennyi időt tölt a két nyitott karon, a két nyitott kar végén, illetve a két zárt karon. A nyitott és zárt karok területére történő belépések számát szintén elemeztük. Az anxiolitikus (szorongásoldó) hatásnak azt tekintettük, ha az állat több időt töltött egy nyitott területen, ill. többször kereste fel azt.

3.3.2.2. Szorongás vizsgálata open field tesztben

Az OPF apparátus alját virtuálisan 16 négyzetre osztottuk. A 4 központi négyzet alkotta a centrális zónát, a 12 perifériás pedig a perifériás zónát. Az anxiolitikus hatást a centrális zónában töltött idő megnövekedése jelezte.

3.3.3. Akusztikus startle reflex (ASR) prepulse inhibíciójának vizsgálata (PPI)

A PPI vizsgálata egy gyengén megvilágított, hangszigetelt szobában történt. Az apparátus egy startle kamrából állt, amely egy transzducerre épült (Aluminium Single-Point Load Cell, Modell 1004, Vishay Precision Group, Malvern USA) áttetsző plexidoboz (24x14x14 cm). Az akusztikus ingereket egy 24 cm-rel a doboz fölött elhelyezett hangszóró szolgáltatva. A transzducer kimenete egy 32 csatornás előerősítő egyik csatornájához volt csatlakoztatva. Ez egy 64 csatornás analóg/digitális-konverterhez (LVC-64, Noted Bt., Pécs, Hungary) volt kötve. Az eseményeket az LVC-64 bemenetén keresztül regisztráltuk. A kísérlet során a következő stimulusokat alkalmaztuk: 1. startle pulse alone (SA), amely egyetlen nagyintenzitású hangimpulzust jelent (120 dB, 20 ms), 2. prepulse + startle pulse (PS), amely tartalmaz egy kis intenzitású (75 dB, 20 ms) és egy ezt követő nagyintenzitású hangimpulzust (120 dB, 20 ms) 100 ms intervallummal, 3. prepulse alone (PA), 4. no stimulus (NS), amikor kizárólag háttérzaj volt jelen (50 dB).

Egy nappal a teszt megkezdése előtt az állatokat egyesével behelyeztük a startle kamrába 3-3 percre háttérzaj (50 dB) prezentálása mellett (habituáció). A következő napon a kísérlet 5 perces akklimatizációval kezdődött. Ezután 5 habituáló SA stimulus következett, amelyet a PPI érték kalkulálásakor nem vettünk figyelembe. Ezt 20 blokk követte, minden egyes blokkban szerepelt mind a négy ingertípus (SA, PS, PA, NS) pseudorandom sorrendben. Az egyes ingerek közti intervallum 15 ± 5 s. A teszt 16,5 percig tartott, amely során a háttérzaj végig hallható volt.

A felül áteresztő szűrővel (10 Hz) megszűrt adatokat off-line elemeztük Linux rendszeren Matlab program segítségével írt shell scriptekkel [45]. Akusztikus stimulusok hatására az állat teljes teste megrezzen, amely az elvezetett erőgörbén pozitív hullámként jelenik meg. A startle

magnitúdót, mint a startle hullám csúcsát egy a hangimpulzus kezdetéhez képest meghatározott 0-100 ms időablakban elemeztük és tetszőleges egységekben fejeztük ki.

A PPI-t minden egyes állatra külön határoztuk meg, mint az ASR százalékos csökkenését, a következő képlet segítségével: $PPI\% = \{1 - [(startle \text{ amplitudó prepulse} + startle \text{ pulse impulzus}) / startle \text{ amplitudó pulse alone impulzus}] \} * 100$.

3.3.4. Motoros koordinációs képességek vizsgálata rotarod tesztben

A motoros koordinációs képességeket rotarod apparátussal vizsgáltuk (Ugo Basile 47700, Olaszország). Ez egy több részre osztott, 6 cm átmérőjű forgó hengerből áll, beállítható forgási sebességgel. A teszt során azt mértük, hogy az állatok mennyi ideig képesek a forgó hengeren tartózkodni. A kísérletet enyhén megvilágított szobában végeztük (40 W vörös fény).

A vizsgálat során a Rozas és munkatársai által leírt protokollt követtük [46]. A kísérlet előtt 1 nappal az állatokat megtanítottuk a feladatra. 5 rpm forgási sebességet beállítva 2 percre felhelyeztük őket a hengerre. Ezt 3-szor elvégeztük 2-3 órás szünetekkel. A teszt napján az állatokat különböző forgási sebességeknél vizsgáltuk, sorban, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, és 40 rpm-nél. Minden esetben állatonként feljegyeztük, hogy az egyes sebességek esetén mennyi ideig képesek a hengeren maradni, amely maximálisan 300 secundum lehetett.

3.3.5. Kognitív képességek vizsgálata 8 karú labirintusban (radial arm maze, RAM)

Az állatok kognitív képességeit 8 karú labirintusban vizsgáltuk. Az apparátus 8 db 72x10 cm nagyságú, 5 cm magas fallal körülvett korból áll, amelyek egy 27 cm átmérőjű centrális platformot vesznek körül. A karokat az óramutató járásának megfelelően számoztunk (1-8). A labirintust 52 cm-rel a padló fölé emeltük. A karok külső végén etetőt helyeztünk el (5 cm átmérő, 1 cm mélység). A kísérlet során az apparátus valamely 4 karjába jutalmat helyeztünk (csokis gabonapehely golyó), az állatoknak ezeket kellett megtalálniuk, a tanulási folyamat során ezek helyét elsajátítaniuk. A tájékozódást a karokban, ill. az apparátuson kívül elhelyezett jelek (cue) segítették. A kísérletet hangszigetelt, enyhén megvilágított szobában végeztük. Az adatok rögzítése és elemzése az OPF tesztnél leírt módon történt.

A kísérleti időszakban az állatoktól megvontuk a táplálékot, csak a teszt során és az azt követő 1,5 órában ehettek. Az első napon az állatokat 5 percre az apparátusba helyeztük jutalom nélkül, hogy felderítsék az arénát és habituálódjanak a kísérleti körülményekhez. A következő napon (1. kondicionálási nap) az állatoknak meg kellett tanulni, hogy keressék az ételt az apparátusban. Ekkor 4 kar etetőjébe 1-1 pelletet helyeztünk el (1, 3, 5 és 7-es kar) és az állatok 10

percet kaptak, hogy megtalálják őket. Ezt követően a jutalom pontos elhelyezkedését kellett megtanulniuk. Minden ülésben maximum 10 percet kaptak, hogy megtalálják a 4 pelletet. A kondicionálásokat addig ismételtük, amíg egyik csoport teljesítménye (amelyet a belépések számával mértünk) sem javult tovább (kritérium teljesítmény). Ekkor a jutalmakat új pozícióba helyeztük (1, 2, 4 és 5-ös kar), és az állatoknak most már az új elrendezést kellett megtanulniuk (reverz kondicionálási paradigma). A kísérletet ismét több napig folytattuk, amíg az állatok teljesítménye már nem mutatott további javulást.

Az állatok teljesítményét az általuk elkövetett hibák számával fejeztük ki. A következő hibákat különítettük el: Az 1-es típusú hiba jelenti a nem jutalmazó karba történő belépést (kondicionálási paradigmában a 2, 4, 6, és 8-as kar, reverz paradigmában a 3, 6, 7, 8-as kar). A 2-es típusú hiba jelzi bármely olyan karba történő ismételt belépést, amelyben az adott ülésben már járt. A 3-as típusú hiba csak reverz paradigmában értelmezhető, ez jelenti a belépések számát olyan nem jutalmazó karokba, amelyek a kondicionálási paradigmában jutalmazók voltak (3 és 7).

3.4. Szövetteni vizsgálatok

A kísérletek végeztével a patkányokat uretánnal túlaltattuk (20%-os uretánoldat i. p. injekciója, 1,4 g/ttkg) és izotóniás sóoldattal transcardialisan perfundáltuk, ezt 10%-os formaldehid-oldat infúziója követte. Ezután az agyakat formalinba tettük. Egy hetes fixációt követően az agyakból lefagyasztva mikrotommal 60 µm-es koronális metszeteket készítettünk, amelyeket krezil-ibolyával festettünk. Fénymikroszkópban vizsgáltuk a dorsalis hippocampus és a prefrontális kéreg struktúráját és kiterjedését patkány sztereotaxikus agyatlasz segítségével [47].

A szövettani preparációt megelőzően vízkiszorításos módszerrel megmértük a teljes agy térfogatát [48]. Ezt követően lemértük az agyak hosszát anteroposterior irányban, azaz a cerebrum anterior és posterior vége közti távolságot, illetve a cerebrum legnagyobb mediolaterális kiterjedését. A dorsalis hippocampus területének nagysága Moore és mtsai munkája alapján, a mediolaterális és dorsoventralis szegmentum hosszát jelentette a medialis habenula szintjén [21]. A PFC esetén a rostralis nucleus accumbens magasságában mértük az anterior cinguláris kéreg (AC), a prelimbikus (PL) és az infralimbikus területek (IL) kéregvastagságát [21]. A fényképek Nikon Optiphot-2 mikroszkóp, és Spot Advanced 3.5.2. szoftver segítségével készültek.

3.5. Statisztika

Az OPF, a sztereotip magatartások és a rotarod teszt eredményeinek analízise során az adatokat three-factor mixed ANOVA (MANOVA) segítségével dolgoztuk fel, ahol a kezelés

(MAM vs. vehikulum) volt a between-subject factor, és az életkor (prepubertás, késői pubertás, felnőttkor) valamint a kísérleti nap (1. nap, 2. nap, 3. nap) a within-subject factor. Az EPM és a PPI adatai esetén a kezelés (MAM vs. vehikulum) jelentette a between-subject factort az életkor (prepubertás, késői pubertás, felnőttkor) pedig a within-subject factort. A RAM teszt adatainak elemzését kétutas ANOVA-val végeztük, itt a kezelés (MAM vs. vehikulum) és az életkor (prepubertás, késői pubertás, felnőttkor) is between-subject factorként szerepelt. Post hoc analízishez Bonferroni tesztet végeztünk. A hippocampus vagy az mPFC kiterjedésének elemzéséhez független mintás t-tesztet alkalmaztunk. A szignifikancia szintet $p < 0,05$ -nél határoztuk meg. A grafikonokon az átlagok \pm a standard hiba (S.E.M.) szerepelnek. A * a post hoc teszt által kimutatott szignifikanciát jelzi.

4. Eredmények

A gesztációs idő hossza mindegyik anya esetén 23-24 nap volt. A MAM-kezelés az egyes almokba született utódok számát nem befolyásolta. Az utódok méretében, ill. általános állapotában sem tapasztaltunk semmilyen különbséget a kontrollokhoz képest (az adatokat nem mutatjuk).

4.1. Neurológiai vizsgálatok

A végtagok rácson járással és kapaszkodással vizsgált koordinációja, az izomtónus, a vizuális és proprioceptív placing reflexek, valamint a vizuális stimulusok irányába mutatott orientáció vizsgálata során nem tapasztaltunk zavart a MAM-E17 állatoknál és nem találtunk szignifikáns eltérést a MAM-kezelt és a kontroll csoport között (az adatokat nem mutatjuk).

4.2. Magatartási vizsgálatok

4.2.1. Spontán lokomotoros aktivitás vizsgálata open field tesztben

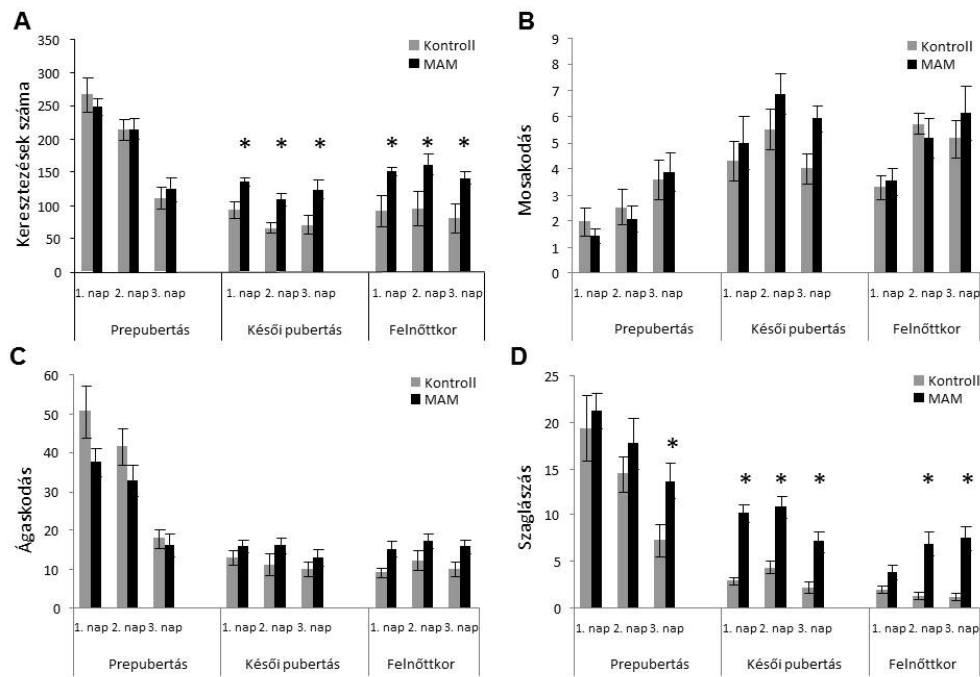
Az open field teszt adatainak elemzésekor a keresztezések számát vizsgálva szignifikáns különbség mutatkozott a kezelés tekintetében (1A ábra, $F=9,629$ $p=0,005$), amely jelzi a MAM-kezelt állatok megnövekedett lokomotoros aktivitását. A részletes analízis kimutatta, hogy a hiperlokomóció jelen van késői pubertásban ($F=10,029$ $p=0,003$) és felnőttkorban ($F=17,812$ $p < 0,001$), azonban prepubertásban nem ($F=0,005$ $p=0,945$). A két csoport napokra lebontott páros összehasonlítása nem jelzett különbséget prepubertásban (1.nap $F=0,693$ $p=0,406$; 2.nap $F=0,005$ $p=0,944$; 3.nap $F=0,385$ $p=0,536$), azonban szignifikáns különbség volt késői pubertásban (1.nap $F=4,025$ $p=0,047$; 2.nap $F=3,957$ $p=0,049$; 3.nap $F=6,199$ $p=0,014$) és felnőttkorban (1.nap

F=7,759 p=0,006; 2.nap F=9,408 p=0,003; 3.nap F=7,785 p=0,006) minden egyes napon. Jelen volt egy életkor hatás (F=84,998 p<0,001), és egy kezelés x életkor interakció (F=8,721 p<0,001), amely arra utal, hogy a MAM-kezelt állatoknál megfigyelhető hiperlokomóció életkortól függ. Kimutatható volt egy nap hatás (F=25,982 p<0,001), továbbá egy életkor x nap interakció (F=16,253 p<0,001). A post hoc analízis napról napra csökkenő aktivitást jelzett prepubertásban (1.nap-2.nap p=0,005; 1.nap-3.nap p<0,001; 2.nap-3.nap p<0,001), igazolva a habituáció jelenségét, amely mindkét csoportban hasonló volt.

Az átfogó statisztikai elemzés szerint a MAM-kezelés nem befolyásolta a mosakodás gyakoriságát (1B ábra, F=0,972 p=0,335). Ennek ellenére szignifikáns életkor hatás (F=23,623 p<0,001), nap hatás (F=8,184 p<0,001), valamint életkor x nap interakció (F=2,121 p=0,080) volt megfigyelhető. A post hoc analízis a mosakodás mennyiségében egy napról napra történő növekedést mutatott ki prepubertásban (1.nap-3.nap p=0,017), továbbá késői pubertásban (p<0,001); és felnőttkorban (p<0,001) prepubertáshoz képest. Ez a jelenség hasonlít a keresztezések számának elemzésekor megfigyelthez, amelyet habituációként interpretáltunk.

Az ágaskodások számában nem volt különbség a MAM-kezelt és a kontroll csoport között (1C ábra, F=0,043 p=0,838), azonban szignifikáns életkor (F=113,368 p<0,001) és nap (F=23,982 p<0,001) hatás volt kimutatható, továbbá egy életkor x nap interakció (F=17,861 p<0,001). Az ágaskodások számának napról napra történő csökkenése prepubertásban, (p<0,05), valamint késői pubertásban (p<0,001) és felnőttkorban (p<0,001) prepubertáshoz képest emlékeztet a korábbi habituációs mintázatra.

A MAM-kezelt csoportnál a szaglászások mennyisége szignifikánsan megnövekedett (1D ábra, F=13,161 p=0,002) és a post hoc analízis szerint ez a különbség mindhárom életkorban megfigyelhető volt (prepubertásban F=5,372 p=0,025; késői pubertásban F=14,232 p<0,001, felnőttkorban F=7,271 p=0,010). Jelen volt továbbá egy életkor- (F=108,972 p<0,001) és nap hatás (F=9,005 p<0,001), azonban, kezelés x életkor interakciót nem találtunk (F=1,086 p=0,340). A csoportok közti különbség kimutatható volt késői pubertás minden napján (1.nap F=9,411 p=0,003; 2.nap F=7,547 p=0,007; 3.nap F=4,433 p=0,037) és felnőtt korban az első nap kivételével (1.nap F=0,529 p=0,468; 2.nap F=5,221 p=0,024; 3.nap F=7,005 p=0,009), továbbá prepubertás 3. napján (1.nap F=0,649 p=0,422; 2.nap F=1,914 p=0,169; 3.nap F=7,165 p=0,008). Szignifikánsan csökkenő aktivitás volt megfigyelhető egyrészt prepubertásban napról napra (1.nap-2.nap p=0,013; 1.nap-3.nap p<0,001; 2.nap-3.nap p=0,001), másrészt az életkorok között (prepubertás-késői pubertás p<0,001; prepubertás-felnőttkor p<0,001; késői pubertás-felnőttkor p=0,003), amely ismét a habituáció jele lehet.



1. ábra. MAM-E17 kezelés hatása open field tesztben a keresztetések számára (A), és a különböző sztereotip magatartásokra (B-D). Az oszlopok az átlagokat mutatják (\pm S.E.M.) 3 kísérleti napon 3 életkorban. Szürke oszlopok: kontroll és fekete oszlopok: MAM-kezelt csoport. * $P < 0,05$ jelzi a szignifikáns különbségeket. További magyarázat a szövegben.

4.2.2. Szorongás vizsgálata

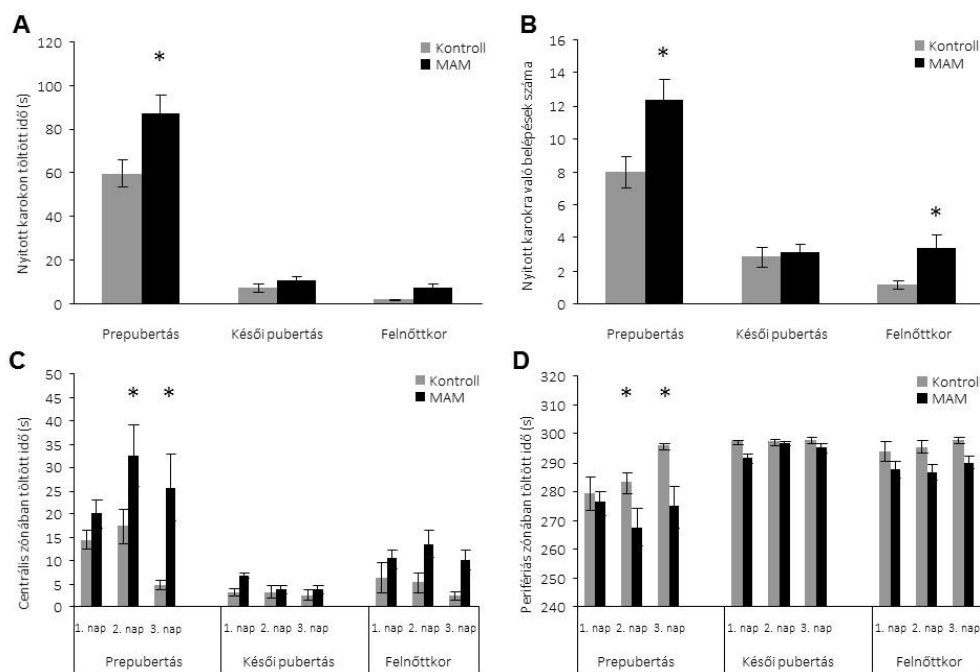
4.2.2.1. Szorongás vizsgálata emelt keresztpalló tesztben

A nyitott karokban töltött idő MAM-kezelt állatoknál megnövekedett (2A ábra, $F=9,806$ $p=0,003$). Jelen volt az életkor hatása ($F=157,179$ $p < 0,001$) és a kezelés x életkor interakció ($F=4,690$ $p=0,012$). Páros összehasonlítás kimutatta, hogy a két csoport közti különbség csak prepubertásban van jelen ($F=18,693$ $p < 0,001$). Csökkenés volt késői pubertásban ($p < 0,001$) és felnőttkorban ($p < 0,001$) prepubertáshoz képest.

A nyitott karokba történő belépések száma szignifikánsan megnövekedett a MAM-kezelt csoportban (2B ábra, $F=11,019$ $p=0,002$). Szignifikáns életkor hatás ($F=67,898$ $p < 0,001$), valamint kezelés x életkor interakció szintén kimutatható volt ($F=3,715$ $p=0,028$). Post hoc teszt bizonyította, hogy a csoportok közti különbség jelen van prepubertásban ($F=15,498$ $p < 0,001$) és felnőttkorban ($F=4,081$ $p=0,045$), de késői pubertásban nem ($F=0,059$ $p=0,808$). Csökkenő aktivitás mutatkozott késői pubertásban ($p < 0,001$) és felnőttkorban ($p < 0,001$) prepubertáshoz képest.

4.2.2.2. Szorongás vizsgálata open field tesztben

A MAM-E17 állatok szignifikánsan több időt töltöttek a centrális zónában a kontroll állatokhoz képest (2C ábra, $F=10,056$ $p=0,005$). Megfigyelhető volt az életkor hatás ($F=30,472$ $p<0,001$), és a kezelés x életkor interakció ($F=4,680$ $p=0,011$), amely jelzi, hogy a kezelés hatásának megjelenése életkorfüggő. Post hoc analízis kimutatta, hogy a két csoport közti különbség jelen volt prepubertásban ($F=17,781$ $p<0,001$) és felnőttkorban ($F=4,111$ $p=0,046$), de késői pubertásban nem ($F=0,248$ $p=0,620$). Páros összehasonlítás szerint a MAM-kezelt állatok több időt töltenek a centrális zónában prepubertás második ($F=8,484$ $p=0,004$) és harmadik napján ($F=16,021$ $p<0,001$), azonban felnőttkorban nem volt különbség az egyes napokon (1.nap $F=0,601$ $p=0,439$; 2.nap $F=2,565$ $p=0,111$; 3.nap $F=2,177$ $p=0,142$). Csökkenés volt megfigyelhető késői pubertásban ($p<0,001$) és felnőttkorban ($p<0,001$) prepubertáshoz képest.



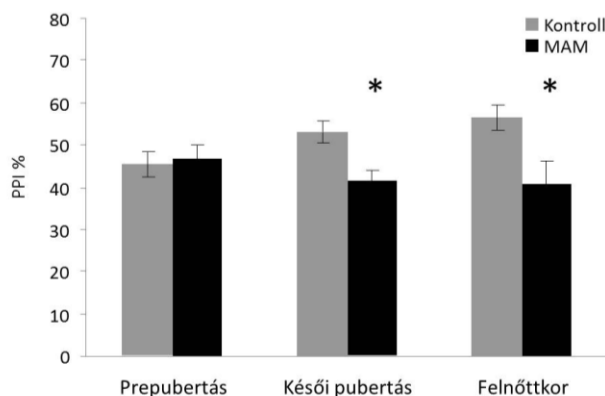
2. ábra. MAM-E17 kezelés hatása a szorongásra EPM tesztben (A-B) és OPF tesztben (C-D). Az oszlopok az átlagokat mutatják (\pm S.E.M.) egy kísérleti napon 3 életkorban EPM tesztben és 3 kísérleti napon 3 életkorban OPF tesztben. Szürke oszlopok: kontroll és fekete oszlopok: MAM-kezelt csoport. * $P<0,05$ jelzi a szignifikáns különbségeket. További magyarázat a szövegben.

Átfogó analízis szerint a MAM-E17 állatok kevesebb időt töltenek a perifériás zónában (2D ábra, $F=11,247$ $p=0,003$). Jelen volt egy életkor hatás ($F=29,239$ $p<0,001$), de nem volt interakció ($F=2,608$ $p=0,077$). Az egyes életkorokat külön vizsgálva a post hoc teszt különbséget jelzett a két csoport között prepubertásban ($F=14,055$ $p<0,001$) és felnőttkorban ($F=4,733$ $p=0,032$). A páros összehasonlítás különbséget mutatott ki prepubertásban a második ($F=7,156$

p=0,008) és harmadik napon (F=13,547 p<0,001), de felnőttkorban nem. Növekedés volt megfigyelhető késői pubertásban (p<0,001) és felnőttkorban (p<0,001) prepubertáshoz képest.

4.2.3. Akusztikus startle reflex prepulse inhibíciójának vizsgálata

A kontroll állatok prepulse inhibíciója minden életkorban átlagosan 40-60% volt (3. ábra). Ezzel szemben a MAM-kezelt állatok PPI zavart mutattak mind késői pubertásban mind felnőttkorban (~40% PPI). Az ANOVA csoportok közti különbséget mutatott ki (F=7,497 p=0,012), továbbá kezelés x életkor interakciót (F=3,742 p=0,032). Életkor hatás azonban nem volt jelen (F=0,168 p=0,846). Post hoc analízis szerint a csoportok közti különbség jelen van késői pubertásban (F=6,456 p=0,014) és felnőttkorban (F=11,787 p=0,001), azonban prepubertásban nem (F=0,002 p=0,962).

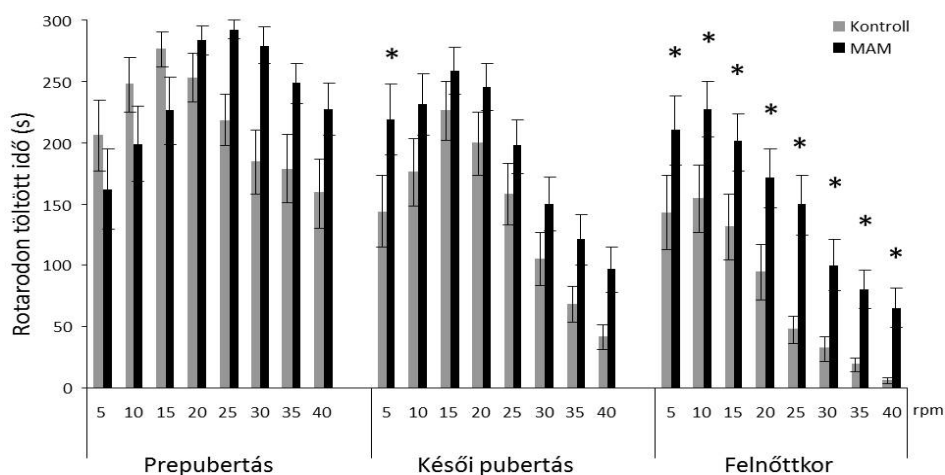


3. ábra. MAM-E17 kezelés hatása a prepulse gátlásra. Az oszlopok az átlagokat mutatják (\pm S.E.M.) egy kísérleti napon 3 életkorban. Szürke oszlopok: kontroll és fekete oszlopok: MAM-kezelt csoport. * P<0,05 jelzi a szignifikáns különbségeket. További magyarázat a szövegben.

4.2.4. Motoros koordinációs képességek vizsgálata rotarod tesztben

A MAM-kezelt állatok szignifikánsan több időt töltöttek a rotarodon (4. ábra, F=13,638 p=0,001). Jelen volt egy életkor hatás (F=128,252 p<0,001), és egy kezelés x életkor interakció (F=6,045 p=0,002), amely jelezte a kezelés hatásának életkorfüggését. Ennek megfelelően a fokozott teljesítmény megfigyelhető volt késői pubertásban (F=10,424 p=0,002) és felnőttkorban (F=21,606 p<0,001), de prepubertáskorban nem (F=2,442 p=0,122). Jelen volt egy általános sebesség hatás (F=29,180 p<0,001) valamint az életkor x sebesség interakció (F=6,273 p<0,001), amely azt jelenti, hogy a rotarodon töltött idő valamely sebességértéknél az életkortól függ. Kezelés x életkor x sebesség interakció szintén kimutatható volt (F=1,819 p=0,032). A páros összehasonlítás különbséget jelzett késői pubertásban 5rpm-nél (F=6,026 p=0,014) és

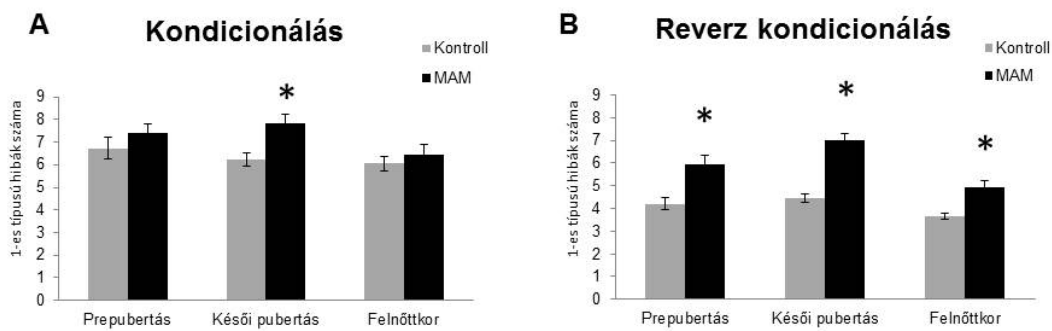
felőttkorban (5 rpm $F=4,893$ $p=0,027$; 10 rpm $F=5,764$ $p=0,017$; 15 rpm $F=5,155$ $p=0,024$; 20 rpm $F=6,316$ $p=0,012$; 25 rpm $F=10,911$ $p=0,001$; 30 rpm $F=5,056$ $p=0,025$; 35 rpm $F=4,304$ $p=0,038$; 40 rpm $F=3,914$ $p=0,048$). Szignifikáns teljesítménycsökkenés volt az különböző életkorú patkányok között ($p<0,001$).



4. ábra. MAM-E17 kezelés hatása a rotarodon töltött időre. Az oszlopok az átlagokat mutatják (\pm S.E.M.) az egyes forgási sebességtételeknél (rpm) egy kísérleti napon 3 életkorban. Szürke oszlopok: kontroll és fekete oszlopok: MAM-kezelt csoport. * $P<0,05$ jelzi a szignifikáns különbségeket. További magyarázat a szövegben.

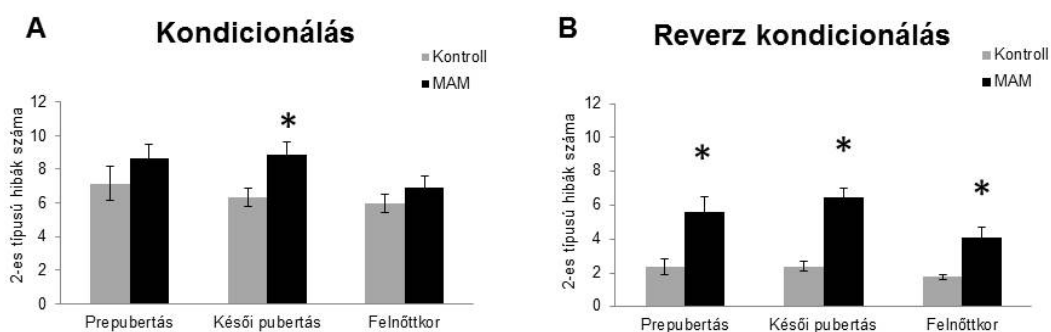
4.2.5. Kognitív képességek vizsgálata 8 karú labirintusban

Az 1-es típusú hibát vizsgálva az ANOVA-val végzett átfogó analízis a kondicionálási fázisban szignifikáns kezeléshatást mutatott ki (5A ábra, $F=6,650$; $p=0,012$), ami azt jelentette, hogy a MAM-E17 állatok több hibát vétettek. A kontroll és MAM-kezelt csoport adatainak koronként történő páros összehasonlítása során azonban csak pubertáskorban mutatkozott különbség ($F=6,263$; $p=0,015$). Korhatás nem jelentkezett ($F=2,402$; $p=0,098$), és nem volt kezelés x életkor interakció sem ($F=1,038$; $p=0,360$). A reverz kondicionálási szakaszban a MAM-kezelt állatok szignifikánsan több hibát vétettek a kontrollokhöz képest (5B ábra, $F=64,603$; $p<0,001$). A MAM-kezelt és a kontroll csoport adatainak életkoronként történő páros összevetése alapján a két csoport szignifikánsan eltérően teljesített prepubertásban ($F=19,717$; $p<0,001$), pubertásban ($F=36,284$; $p<0,001$) és felőttkorban ($F=11,237$; $p=0,001$). Jelen volt továbbá egy életkor hatás ($F=12,332$; $p<0,001$), azonban kezelés x életkor interakció nem volt ($F=2,365$; $p=0,102$). Az egyes korokhoz tartozó adatok páros összehasonlításakor szignifikáns különbségek mutatkoztak: mind a kontroll, mind a MAM-kezelt állatok prepubertásban ($p=0,016$) és pubertásban ($p<0,001$) többet hibáztak, mint felőttkorban. Ez jelzi, hogy az állatok életkora befolyásolta a teljesítményüket.



5. ábra. MAM-E17 kezelés hatása az 1-es típusú hibák számára RAM tesztben. Az oszlopok a 11 kezdeti és 8 reverz kondicionálás során számított hibák átlagát mutatják (\pm S.E.M.) 3 életkorban. Szürke oszlopok: kontroll és fekete oszlopok: MAM-kezelt csoport. * $P < 0,05$ jelzi a szignifikáns különbségeket. További magyarázat a szövegben.

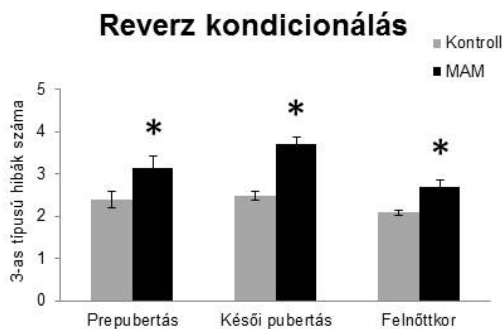
A 2-es típusú hiba esetén a kezdeti kondicionálási szakaszban szintén jelen volt a kezeléshatás (6A ábra, $F=6,475$; $p=0,013$), azaz a MAM-E17 állatok többet hibáztak. A két csoport adatainak életkoronként végzett páros összehasonlítása alapján a különbség pubertás korra korlátozódott ($F=4,041$; $p=0,049$). Életkor hatás ($F=2,095$; $p=0,131$) és kezelés x életkor interakció nem volt kimutatható ($F=0,468$; $p=0,628$). Reverz kondicionálási szakaszban a MAM-kezelt állatoknál ismét nagyobb volt a hibák száma (6B ábra, $F=37,948$; $p < 0,001$). A csoportok életkoronként végzett páros összehasonlításából kitűnik, hogy a MAM-E17 állatok csökkent teljesítménye kiterjed prepubertás ($F=14,805$; $p < 0,001$), pubertás ($F=16,462$; $p < 0,001$) és felnőttkorra ($F=7,369$; $p=0,009$) is. Életkorhatás ($F=3,009$; $p=0,056$), valamint életkor x kezelés interakció ($F=0,934$; $p=0,398$) nem volt jelen.



6. ábra. MAM-E17 kezelés hatása a 2-es típusú hibák számára RAM tesztben. Az oszlopok a 11 kezdeti és 8 reverz kondicionálás során számított hibák átlagát mutatják (\pm S.E.M.) 3 életkorban. Szürke oszlopok: kontroll és fekete oszlopok: MAM-kezelt csoport. * $P < 0,05$ jelzi a szignifikáns különbségeket. További magyarázat a szövegben.

A 3-as típusú hiba esetén a MAM-kezelt állatok ismét többet vétettek (7. ábra, $F=33,792$; $p < 0,001$). A kontroll és MAM-E17 csoport adatait életkoronként összevetve a különbség jelen volt

prepubertásban ($F=9,153$; $p=0,004$), pubertásban ($F=20,537$; $p<0,001$) és felnőttkorban ($F=5,858$; $p=0,018$). Jelen volt az életkorhatás ($F=7,324$; $p=0,001$), azonban nem volt kezelés x életkor interakció ($F=1,522$; $p=0,226$). Az egyes életkorokhoz tartozó adatok páros összehasonlítása szerint a kontroll, és a MAM-kezelt állatok prepubertásban ($p=0,079$) és pubertásban ($p=0,001$) többet hibáztak, mint felnőttkorban, ami jelzi, hogy a teljesítményük felnőttkorban volt a legnagyobb.

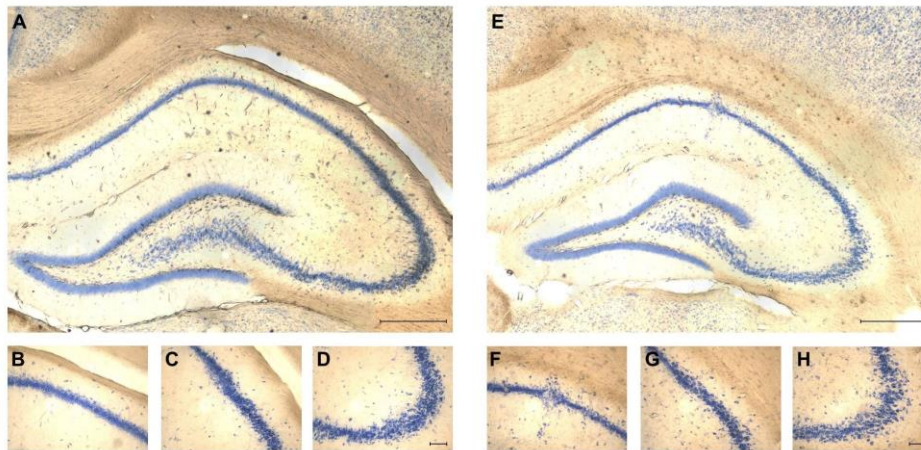


7. ábra. MAM-E17 kezelés hatása a 3-as típusú hibák számára RAM tesztben. Az oszlopok a 8 reverz kondicionálás során számított hibák átlagát mutatják (\pm S.E.M.) 3 életkorban. Szürke oszlopok: kontroll és fekete oszlopok: MAM-kezelt csoport. * $P<0,05$ jelzi a szignifikáns különbségeket. További magyarázat a szövegben.

4.3. Szövetteni vizsgálatok

A MAM-kezelt állatok agytérfogatai kisebbek voltak ($1,74 \pm 0,02$ ml ($n=33$)), mint a kontroll állatokéi ($1,83 \pm 0,03$ ml ($n=33$)); [Független mintás T-teszt, $t=2,926$ $p=0,005$]. Az agyak hosszmereteit vizsgálva szintén szignifikáns eltéréseket kaptunk. Az anteroposterior hossz kontroll állatoknál $14,72 \pm 0,08$ mm ($n=36$), a MAM-E17 állatoknál $13,66 \pm 0,09$ mm ($n=34$); [Független mintás T-teszt, $t=8,753$ $p<0,001$] volt. A mediolateralis hossz kontroll állatok esetén $14,64 \pm 0,07$ mm ($n=36$), míg a MAM-E17 állatoknál $14,21 \pm 0,07$ mm ($n=33$); [Független mintás T-teszt, $t=4,318$ $p<0,001$] volt.

A szövetteni analízis során szembevető változásokat figyeltünk meg a hippocampus területén. A MAM-E17 kezelt csoportban szignifikáns térfogatcsökkenés jelentkezett a dorsalis hippocampusban mind mediolateralis [8A,E ábra, Független mintás T-teszt, $t=4,994$ $p<0,001$], mind dorsoventralis irányban [8A,E ábra, Független mintás T-teszt, $t=3,057$ $p=0,014$]. A térfogatcsökkenésen túl a piramisréteg rendezetlensége is jellemző volt (8.F-H ábra). Tömör, egységes struktúra helyett a sejtek diszperz elhelyezkedése és heterotópiák voltak megfigyelhetők. Számos piramisesejt benyomult a stratum oriens és stratum radiatum rétegébe a CA1-től a CA3 régióig.



8. ábra. MAM-E17 kezelés hatása a dorsalis hippocampus struktúrájára. A-kép: kontroll állat hippocampusa, B-D a hippocampus piramisrétegének finomstruktúrája kontroll állatban. E-kép: MAM-E17 állat hippocampusa, F-H a hippocampus piramisrétegének finomstruktúrája MAM-E17 állatban. A jobb alsó sarokban található vonal (scale bar) mérete 500 μm (A és E), és 100 μm (B-D és F-H). További magyarázat a szövegben.

Az mPFC esetén a MAM-kezelt állatoknál nem találtunk szignifikáns eltérést a kontrollhoz képest (MAM-kezelt állatokban az anterior cinguláris kéreg (AC) átlagos vastagsága: $1957,5 \pm 72,56 \mu\text{m}$, a prelimbikus kéregé (PL): $1250 \pm 47,43 \mu\text{m}$, és az infralimbikus kéregé (IL): $1050 \pm 53,62 \mu\text{m}$; $n=10$. Kontroll állatoknál az AC: $2079,17 \pm 75,94 \mu\text{m}$, PL: $1304,167 \pm 26,15 \mu\text{m}$, és az IL: $1112,5 \pm 26,42 \mu\text{m}$; $n=6$). 6 MAM-E17 állat esetén azonban csökkent volt a kérgi vastagság a kontroll agyak átlagos értékeihez képest.

5. Diszkusszió

5.1. Neurológiai vizsgálatok

Kísérleteinkben a MAM-E17 kezelés nem okozott eltérést a vemhességi időszak hosszában, illetve az utódok méretében, illetve az alom nagyságában. A neurológiai tesztek szerint a MAM-E17 állatok nem mutatnak izomtónus csökkenést, vagy motoros zavart. Az irodalomban többségében a miénkhez hasonló adatokkal találkozhatunk [16, 21, 22, 27, 29].

5.2. Magatartási vizsgálatok

5.2.1. Spontán lokomotoros aktivitás és sztereotip magatartások vizsgálata

A MAM-E17 állatok szignifikánsan megnövekedett lokomotoros aktivitást mutattak pubertáskori kezdettel, amely felnőttkorban is megmaradt. A fokozott lokomotoros aktivitást

úgy tekintik, mint a skizofrénia pozitív tüneteinek megfelelőjét [49] és ahhoz hasonlóan elsőként késői pubertáskorban jelenik meg [50]. A prepubertásban megfigyelhető napról napra csökkenő aktivitás, mind MAM-kezelt, mind kontroll állatokban, habituációra utal. A korábbi publikációk megerősítik adatainkat [22, 25, 51, 52].

A sztereotip magatartásokat elemezve késői pubertásban és felnőttkorban a MAM-kezelt állatoknál szignifikánsan megnövekedett a szaglászások száma, továbbá tendenciózusan az ágaskodások is gyakoribbá váltak. Tudomásunk szerint egyetlen ide vonatkozó publikáció létezik, amely a felnőtt MAM-E17 állatok orofaciális sztereotip magatartásának fokozódásáról számolt be [21]. Eredményeinkben a lokomotoros aktivitás valamint a sztereotip magatartások hasonló növekedést mutattak, hasonló életkori mintázattal. A megfigyelt jelenség oka lehet, **egy komplex exploratív-orientatív magatartás, amely a környezetre adott fokozott válaszkészséget tükröz, különösen a proximális stimulusok esetén.**

5.2.2. Szorongás vizsgálata

Mind az EPM, mind az OPF tesztben a MAM-kezelés anxiolitikus hatását lehetett megfigyelni egy érdekes időbeli mintázattal: az anxiolitikus hatás, amely jelen volt prepubertásban, késői pubertásban eltűnt, majd felnőttkorban újra megjelent bár kisebb mértékben. Ez a jelenség feltehetően a pubertáskori érési folyamatokra vezethető vissza, amely továbbá hozzájárul a skizofrénia számos tüneteinek megjelenéséhez. **Összességében tehát nem vonhatjuk le azt a következtetést, hogy a MAM-kezelt állatok szoronganak.**

Humán irodalmi adatok alapján inkább fokozott szorongást várhattunk volna [53]. Ennek ellenére korábbi, a MAM-E17 állatok szorongását vizsgáló tanulmányok ellentmondásos eredményekről számolnak be mind az EPM [54, 55], mind az OPF [22, 25, 51] tesztek esetén. **A mi adatainkat erősen alátámasztja az a tény, hogy két különböző paradigmában is következetesen ugyanaz a magatartás, csökkent szorongás volt megfigyelhető. Továbbá az anxiolitikus magatartás életkori mintázata is azonos volt a két paradigmában.**

5.2.3. Akusztikus startle reflex prepulse inhibíciójának vizsgálata

A MAM-E17 állatok PPI-ja **pubertás előtt nem tért el a kontroll állatokétól, késői pubertásban azonban csökkent PPI-t regisztráltunk, amely felnőttkorban is megmaradt.** Ez összhangban van más kutatócsoportok eredményeivel [15, 21, 25, 51]. A szenzoros-motoros kapuzó mechanizmusok biztosítják, hogy a nagymennyiségű beérkező szenzoros információ közül kizárólag a lényeges ingerek válhatnak ki motoros választ. A skizofrén betegeknek ezek a

mechanizmusok károsodnak [56]. Eredményeinkben a PPI csökkenés életkori mintázata hasonlít az exploratív magatartásnál látottra. Ez alapján feltételezhető, hogy a **megnövekedett exploratív aktivitás és a PPI csökkenés egymástól nem független jelenségek. A PPI csökkenés által jelzett szűrő funkció csökkenése okozhatja, hogy a környezeti ingerekre megnő a válaszkészség, ami a megnövekedett explorátoros aktivitásban tapasztalható.**

5.2.4. Motoros koordinációs képességek vizsgálata

A rotarod teszt eredményei azt mutatják, hogy a MAM-kezelt állatok a kontrollokhoz képest szignifikánsan hosszabb ideig maradnak a hengeren, eltekintve egy kezdeti szakasztól prepubertásban. Alapvetően a rotarod teszt a motoros képességek vizsgálatára szánt teszt [46], a teljesítményt azonban motivációs faktorok és a motoros adaptációs/tanulási képességek is befolyásolják. Feltételezhető, hogy a kezdeti szakaszban megfigyelhető csökkent teljesítmény, amelyet az egyetlen létező irodalmi adat is alátámaszt [16], tanulási-adaptációs zavar következménye lehet. Ezt az általunk végzett neurológiai vizsgálatok eredményei is megerősítik, amelyek szerint a MAM-kezelt állatoknál nem jellemző motoros zavar. A mi kísérleteinkben azonban a MAM-E17 állatok kezdeti csökkent teljesítménye fokozatosan megnövekedett a kontrollhoz képest, és ezen az emelt szinten maradt a kísérlet további szakaszában, mindhárom életkorban. Erre a fokozott teljesítményre a hiperaktivitás tűnik a legvalószínűbb magyarázatnak, amelyet az OPF teszt eredményei is alátámasztanak.

5.2.5. Kognitív képességek vizsgálata

A RAM teszt egy komplex kognitív teszt, amelyet a NIMH “Cognitive Neuroscience Treatment Research to Improve Cognition in Schizophrenia” (CNTRICS) nevű kezdeményezése [57, 58] is elfogad. A feladat végrehajtásához az állatok többféle tanulási stratégiát alkalmazhatnak: 1. Az apparátuson belüli jelek (cue-k) biztosítják az asszociatív tanulás lehetőségét. 2. A térbeli tájékozódást és a térbeli tanulást az apparátuson kívüli jelek teszik lehetővé. 3. A harmadik lehetőség az útvonal tanulása [59], ami azt jelenti, hogy az állat csak a jutalom pozícióinak mintázatát tanulja meg. Az állatok teljesítményét jelző különféle hibatípusokból más-más kognitív funkciózavarra következtethetünk [60].

A nem jutalmazó karok látogatása (1-es típusú hiba) a hosszú távú memória (ha az állat nem emlékszik hol kell lennie a pelletnek) [60], valamint a munkamemória zavarát (ha az állat nem emlékszik melyik karban járt már az adott ülésben) is jelezheti. Az adott ülésben már felkeresett karok újbóli látogatása (2-es típusú hiba) a munkamemória csökkenésére utal. **Az 1-es**

és 2-es típusú hibák eredményeiből az látszik, hogy kondicionálási fázisban a MAM-kezelt állatok teljesítménye prepubertás és felnőttkort tekintve megfelelő, ami a tanulási képességek és a munkamemória épségét jelzi. Ezzel szemben pubertáskorban, valamint reverz paradigmban az állatok mindhárom korcsoportjánál kognitív zavar mutatkozott. Az 1-es és 2-es típusú hibák eredményeinek hasonlósága miatt és mivel a 2-es típusú hiba a munkamemória épségére utal, feltételezhetjük, hogy a MAM-kezelés a hosszú távú memóriát nem befolyásolja. Ennek megfelelően nincs tudomásunk olyan irodalmi adat létezéséről, amely a MAM-E17 állatok hosszú távú memóriazavaráról számolna be.

A MAM-E17 állatokon különböző életkorokban végzett vizsgálatok általában a téri munkamemória zavarát jelzik [51, 61]. Gourevitch és mtsai azonban a miénkhez hasonló eredményeket kaptak RAM tesztben, felnőtt állatokon, de a miénktől eltérő protokollal [29]. Abból a kísérletből kitűnt, hogy a MAM-kezelt állatoknál jelentkező **munkamemória deficit állapotfüggő**: az ő esetükben a kísérlet 2 fázisa közötti latencia megnövelése, a mi kísérleteinkben pedig a reverz paradigma során a jutalmak elrendezésének megváltoztatása idézte elő.

A kondicionálási fázisban nyújtott teljesítményük alapján az állatok térbeli navigációs készségei prepubertás és felnőtt korban megfelelően működnek. Az irodalmi adatok azonban minden általunk vizsgált életkorban inkább ennek ellenkezőjéről számolnak be [51, 55, 62, 63].

A térbeli navigációt igénylő tanulási forma mellett az állatok további lehetősége a teszt végrehajtására az asszociatív tanulás. Ennek lehetőségét egy a miénkhez hasonlóan jutalmazáson alapuló paradigmban alátámasztották [21], míg egy büntetéses tesztben megkérdőjelezték [28]. További lehetséges magyarázat a MAM-E17 állatok csökkent teljesítményére vonatkozóan a figyelemzavar, amelyet számos vizsgálat alátámaszt [28, 32, 64], bár nem mindegyik [65].

Összevetve a kondicionálási és reverz kondicionálási fázisban kapott hibák számát, a kontroll állatok esetén javulás tapasztalható, míg a MAM-kezelt állatoknál nincs ilyen változás. **Feltehetően a MAM-kezelt állatoknál a reverz kondicionálási szakaszban megjelenő súlyosabb munkamemóriazavar jelezheti az új szabály követésének képtelenségét, amely a reverz tanulás, és általánosan a magatartási/tanulási flexibilitás zavarának tudható be** [66]. Ezt a magyarázatot alátámasztják a 3-as típusú hibák számának adatai (azon nem jutalmazó karok felkeresése a reverz paradigmban, amelyek a kondicionálási fázisban jutalmazók voltak), ahol szintén szignifikáns növekedés látszott MAM-E17 állatoknál minden egyes életkorban. A 3-as típusú hibák számának növekedése egyfelől jelentheti, hogy az állat nem emlékszik, hol kell lennie a pelletnek, vagy pedig jobban ragaszkodik azokhoz a karokhoz, amelyek korábban jutalmazók voltak (ezt nevezzük perszeverációnak). Számos irodalmi adat alátámasztja a magatartási flexibilitás csökkenését MAM-E17 állatokban különböző életkorokban [21, 27, 28, 51, 61, 67, 68].

A MAM-E17 állatok kognitív zavarai pubertáskorban időlegesen intenzívebben jelentkezhetnek, ami jelzi, hogy ebben a periódusban fokozottabb az érzékenység. Ez összefügghet azzal, hogy a prenatális MAM-kezelés által indukált zavarok nagy része is csak pubertásban jelenik meg, amikor az éppen zajló agyi érési folyamatok interferálnak a már meglévő anomáliákkal, a skizofréniában történetekhez hasonlóan [8, 69].

Ezen felül a kondicionálási fázisban pubertáskorban megjelenő teljesítménycsökkenést fokozott szorongás is okozhatná, bár eredményeink alapján a MAM-E17 állatok nem szoronganak jobban [70]. **A teljesítmény kondicionálási fázisban megfigyelt életkor szerinti mintázata MAM-kezelt állatoknál megegyezik a szorongási állapot életkor szerinti mintázatával:** prepubertás és felnőttkorban kisebb mértékű volt a szorongás, pubertáskorban viszont megegyezett a kontroll csoportéval. Mivel a szorongás csökkenti a kognitív teljesítményt, a csökkent szorongási állapot jobb teljesítményt eredményezhet prepubertás és felnőttkorban.

Számos irodalmi adat beszámol a skizofréniában megfigyelhető kognitív zavarokról, úgy mint hosszú távú memóriazavar [71], munkamemóriazavar [71-73], reverz tanulási zavar [74] valamint a perszeveratív magatartás [75].

5.3. Szöveti vizsgálatok

A kísérleteinket követő szöveti analízis az irodalmi adatokkal összhangban a MAM-E17 állatok agytérfogatának csökkenését mutatta ki [21, 22, 26]. A dorsalis hippocampusban a térfogatcsökkenésen túl a CA1-CA3 régióban sejtdiszperziót és heterotópiákat figyeltünk meg az irodalmi adatokhoz hasonlóan [22, 25, 26, 28-30]. A PFC-t vizsgálva néhány MAM-E17 állat esetén csökkent kéregvastagságot találtunk, azonban összességében nem volt szignifikáns különbség a MAM-kezelt és a kontroll csoport között, bár korábbi tanulmányok beszámoltak erről [21, 28]. Hasonló neuropatológias torzulások gyakran megfigyelhetők a humán skizofrén agyban [6, 22, 37, 76].

Jelen munkánk az első olyan kísérletsorozat, amely a skizofrénszerű szimptomák pubertáskori fejlődésére fókuszálva végigköveti a magatartási paraméterek változásait prepubertástól felnőttkorig ugyanazon állatokon. Vizsgálataink során igazoltuk a skizofréniához hasonló tünetek életkor szerinti megjelenési mintázatát és a szöveti károsodásokat. Mindezek alapján a modell használhatónak tűnik különböző gyógyszertergetek kísérletes tanulmányozásában, amely előmozdíthatja a betegek preventív kezelésére irányuló klinikai kutatásokat.

6. Összefoglalás

A célkitűzésekben feltett kérdésekre a következő válaszokat kaptuk:

1. Általános aktivitás és szenzoros-motoros kapuzó mechanizmusok vizsgálata:

- a. A MAM-kezelt állatok a lokomotoros aktivitás fokozódását és a sztereotip magatartások számának növekedését mutatták pubertáskori kezdettel, amely felnőttkorban is megmaradt. Ez párhuzamba állítható a skizofrénia pozitív tüneteinek pubertáskori megjelenésével.
- b. A MAM-E17 állatok PPI-ja pubertás előtt nem tért el a kontroll állatokétól, késői pubertásban azonban csökkent PPI-t regisztráltunk, amely felnőttkorban is megmaradt.
- c. A hiperaktivitás és a fokozott sztereotip magatartás egy komplex exploratív-orientatív magatartás következménye lehet, amely a környezetre adott fokozott válaszkészséget tükröz, különösen a proximális stimulusok esetén. Ennek hátterében a hibásan működő szenzoros-motoros kapuzó mechanizmusok állhatnak, amelyek működési zavarát a PPI deficit is jelzi.

2. Motoros koordináció vizsgálata:

A MAM-E17 állatok a kontrollokhöz képest pubertásban és felnőttkorban szignifikánsan hosszabb ideig maradtak a hengeren, ami jelzi, hogy a motoros koordinációs készségeik épek. A fokozott teljesítmény lehet hiperaktivitás következménye.

3. Szorongás vizsgálata:

A MAM-E17 állatok szorongási állapota egy érdekes időbeli mintázatot követett: az anxiolitikus hatás, amely jelen volt prepubertásban, késői pubertásban eltűnt, majd felnőttkorban újra megjelent.

4. Kognitív képességek vizsgálata:

- a. A MAM-E17 állatok kondicionálási paradigmában nyújtott teljesítménye alapján a tanulási képességek, ill. hosszú távú memória és a munkamemória prepubertás és felnőtt korban megfelelő. Azonban a reverz kondicionálási szakaszban megfigyelhető teljesítménycsökkenés munkamemóriazavarra utal. A teljesítményzavar reverz paradigmára történő korlátozódása jelezheti, hogy a munkamemória-deficit állapotfüggő.
- b. Reverz paradigmában a MAM-kezelt állatok nem képesek az új szabály követésére, amely a reverz tanulás, és általánosan a magatartási/tanulási flexibilitás zavarának tudható be.
- c. A munkamemóriazavar és a magatartási flexibilitás zavar is mindhárom vizsgált életkorban jelen volt.
- d. Kondicionálási paradigmában pubertás korban megnő a hibák száma. E szerint a MAM-E17 állatok kognitív zavarai pubertáskorban időlegesen intenzívebben jelentkezhetnek, ami jelzi, hogy ebben a periódusban fokozottabb az érzékenység. A kognitív teljesítmény kondicionálási fázisban megfigyelt életkor szerinti mintázata MAM-kezelt állatoknál megegyezik a szorongási állapot életkor szerinti mintázatával.

5. Szövetteni leletek:

A szövettani analízis a MAM-E17 állatoknál a teljes agy és a cerebrum térfogatának csökkenését mutatta ki. A dorsalis hippocampusban a térfogatcsökkenésen túl a CA1-CA3 régióban sejtdiszperziót és heterotópiákat figyeltünk meg.

7. Irodalomjegyzék

- [1] Nagai T, Kitahara Y, Shiraki A, Hikita T, Taya S, Kaibuchi K, Yamada K. Dysfunction of dopamine release in the prefrontal cortex of dysbindin deficient sandy mice: an in vivo microdialysis study. *Neurosci Lett*. 2010;470:134-8.
- [2] Foley C, Corvin A, Nakagome S. Genetics of Schizophrenia: Ready to Translate? *Curr Psychiatry Rep*. 2017;19:61.
- [3] Lewis DA, Levitt P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci*. 2002;25:409-32.
- [4] Stahl SM. Beyond the dopamine hypothesis of schizophrenia to three neural networks of psychosis: dopamine, serotonin, and glutamate. *CNS Spectr*. 2018;23:187-91.
- [5] Keshavan MS, Tandon R, Boutros NN, Nasrallah HA. Schizophrenia, "just the facts": what we know in 2008 Part 3: neurobiology. *Schizophr Res*. 2008;106:89-107.
- [6] Harrison PJ. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain : a journal of neurology*. 1999;122 (Pt 4):593-624.
- [7] Wright IC, Rabe-Hesketh S, Woodruff PW, David AS, Murray RM, Bullmore ET. Meta-analysis of regional brain volumes in schizophrenia. *The American journal of psychiatry*. 2000;157:16-25.
- [8] Rapoport JL, Addington AM, Frangou S, Psych MR. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry*. 2005;10:434-49.
- [9] Maccabe JH. Population-based cohort studies on premorbid cognitive function in schizophrenia. *Epidemiol Rev*. 2008;30:77-83.
- [10] Hill M, Crumlish N, Clarke M, Whitty P, Owens E, Renwick L, Browne S, Macklin EA, Kinsella A, Larkin C, Waddington JL, O'Callaghan E. Prospective relationship of duration of untreated psychosis to psychopathology and functional outcome over 12 years. *Schizophr Res*. 2012;141:215-21.
- [11] Kobayashi A, Matsumoto H. Studies on Methylazoxymethanol, the Aglycone of Cycasin. Isolation, Biological, and Chemical Properties. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1965;110:373-80.
- [12] Matsumoto H, Nagahama T, Larson HO. Studies on Methylazoxymethanol, the Aglycone of Cycasin: A Synthesis of Methylazoxymethyl Acetate. *Biochem J*. 1965;95:13C-4C.
- [13] Nagata Y, Matsumoto H. Studies on methylazoxymethanol: methylation of nucleic acids in the fetal rat brain. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1969;132:383-5.
- [14] Kikuchi O, Karasawa Y, Suzuki K, Hopfinger AJ. Reactivity of methylazoxymethanol and its metabolites with nucleophilic centers of DNA bases: a semi-empirical NDDO molecular orbital study. *Cancer Biochem Biophys*. 1982;6:75-82.
- [15] Mackowiak M, Bator E, Latusz J, Mordalska P, Wedzony K. Prenatal MAM administration affects histone H3 methylation in postnatal life in the rat medial prefrontal cortex. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2014;24:271-89.
- [16] Balduini W, Lombardelli G, Peruzzi G, Cattabeni F. Treatment with methylazoxymethanol at different gestational days: physical, reflex development and spontaneous activity in the offspring. *Neurotoxicology*. 1991;12:179-88.
- [17] Lavin A, Moore HM, Grace AA. Prenatal disruption of neocortical development alters prefrontal cortical neuron responses to dopamine in adult rats. *Neuropsychopharmacology*. 2005;30:1426-35.
- [18] Bayer SA, Altman J. Development of the telencephalon: neural stem cells, neurogenesis, and neuronal migration. *The rat nervous system: Elsevier*; 2004. p. 27-73.
- [19] Hradetzky E, Sanderson TM, Tsang TM, Sherwood JL, Fitzjohn SM, Lakics V, Malik N, Schoeffmann S, O'Neill MJ, Cheng TM, Harris LW, Rahmoune H, Guest PC, Sher E, Collingridge GL, Holmes E, Tricklebank MD, Bahn S. The methylazoxymethanol acetate (MAM-E17) rat model: molecular and functional effects in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37:364-77.
- [20] Meyer-Lindenberg AS, Olsen RK, Kohn PD, Brown T, Egan MF, Weinberger DR, Berman KF. Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*. 2005;62:379-86.

- [21] Moore H, Jentsch JD, Ghajarnia M, Geyer MA, Grace AA. A neurobehavioral systems analysis of adult rats exposed to methylazoxymethanol acetate on E17: implications for the neuropathology of schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 2006;60:253-64.
- [22] Flagstad P, Mork A, Glenthøj BY, van Beek J, Michael-Titus AT, Didriksen M. Disruption of neurogenesis on gestational day 17 in the rat causes behavioral changes relevant to positive and negative schizophrenia symptoms and alters amphetamine-induced dopamine release in nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29:2052-64.
- [23] Chin CL, Curzon P, Schwartz AJ, O'Connor EM, Rueter LE, Fox GB, Day M, Basso AM. Structural abnormalities revealed by magnetic resonance imaging in rats prenatally exposed to methylazoxymethanol acetate parallel cerebral pathology in schizophrenia. *Synapse*. 2011;65:393-403.
- [24] Ward KE, Friedman L, Wise A, Schulz SC. Meta-analysis of brain and cranial size in schizophrenia. *Schizophr Res*. 1996;22:197-213.
- [25] Le Pen G, Gourevitch R, Hazane F, Hoareau C, Jay TM, Krebs MO. Peri-pubertal maturation after developmental disturbance: a model for psychosis onset in the rat. *Neuroscience*. 2006;143:395-405.
- [26] Matricon J, Bellon A, Frieling H, Kebir O, Le Pen G, Beuvon F, Dumas-Duport C, Jay TM, Krebs MO. Neuropathological and Reelin deficiencies in the hippocampal formation of rats exposed to MAM; differences and similarities with schizophrenia. *Public Library of science (PLoS One)*. 2010;5:e10291.
- [27] Featherstone RE, Rizos Z, Nobrega JN, Kapur S, Fletcher PJ. Gestational methylazoxymethanol acetate treatment impairs select cognitive functions: parallels to schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32:483-92.
- [28] Flagstad P, Glenthøj BY, Didriksen M. Cognitive deficits caused by late gestational disruption of neurogenesis in rats: a preclinical model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2005;30:250-60.
- [29] Gourevitch R, Rocher C, Le Pen G, Krebs MO, Jay TM. Working memory deficits in adult rats after prenatal disruption of neurogenesis. *Behav Pharmacol*. 2004;15:287-92.
- [30] Penschuck S, Flagstad P, Didriksen M, Leist M, Michael-Titus AT. Decrease in parvalbumin-expressing neurons in the hippocampus and increased phencyclidine-induced locomotor activity in the rat methylazoxymethanol (MAM) model of schizophrenia. *Eur J Neurosci*. 2006;23:279-84.
- [31] Lodge DJ, Grace AA. Aberrant hippocampal activity underlies the dopamine dysregulation in an animal model of schizophrenia. *J Neurosci*. 2007;27:11424-30.
- [32] Lodge DJ, Behrens MM, Grace AA. A loss of parvalbumin-containing interneurons is associated with diminished oscillatory activity in an animal model of schizophrenia. *J Neurosci*. 2009;29:2344-54.
- [33] Chen L, Perez SM, Lodge DJ. An augmented dopamine system function is present prior to puberty in the methylazoxymethanol acetate rodent model of schizophrenia. *Dev Neurobiol*. 2014;74:907-17.
- [34] Arnold SE, Franz BR, Gur RC, Gur RE, Shapiro RM, Moberg PJ, Trojanowski JQ. Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions. *The American journal of psychiatry*. 1995;152:738-48.
- [35] Glantz LA, Lewis DA. Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*. 2000;57:65-73.
- [36] Conrad AJ, Abebe T, Austin R, Forsythe S, Scheibel AB. Hippocampal pyramidal cell disarray in schizophrenia as a bilateral phenomenon. *Archives of general psychiatry*. 1991;48:413-7.
- [37] Jönsson SA, Luts A, Guldborg-Kjaer N, Ohman R. Pyramidal neuron size in the hippocampus of schizophrenics correlates with total cell count and degree of cell disarray. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. 1999;249:169-73.
- [38] Zhang ZJ, Reynolds GP. A selective decrease in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. *Schizophr Res*. 2002;55:1-10.
- [39] Reynolds GP, Zhang ZJ, Beasley CL. Neurochemical correlates of cortical GABAergic deficits in schizophrenia: selective losses of calcium binding protein immunoreactivity. *Brain Res Bull*. 2001;55:579-84.
- [40] Cho RY, Konecky RO, Carter CS. Impairments in frontal cortical gamma synchrony and cognitive control in schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:19878-83.

- [41] Belujon P, Patton MH, Grace AA. Role of the prefrontal cortex in altered hippocampal-accumbens synaptic plasticity in a developmental animal model of schizophrenia. *Cereb Cortex*. 2014;24:968-77.
- [42] Goto Y, Grace AA. Alterations in medial prefrontal cortical activity and plasticity in rats with disruption of cortical development. *Biol Psychiatry*. 2006;60:1259-67.
- [43] Grace AA. Gating of information flow within the limbic system and the pathophysiology of schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*. 2000;31:330-41.
- [44] Lénárd L, Karádi Z, Szabó I, Hahn Z. Pallidal mechanisms in the organisations of feeding and sensorimotor integration. In: Lissák K, editor. *Recent developments of neurobiology in Hungary*, Budapest.: Akadémiai Kiadó; 1982. p. 79-113.
- [45] Petykó Z, Gálosi R, Tóth A, Máthé K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L. Responses of rat medial prefrontal cortical neurons to Pavlovian conditioned stimuli and to delivery of appetitive reward. *Behav Brain Res*. 2015;287:109-19.
- [46] Rozas G, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. An automated rotarod method for quantitative drug-free evaluation of overall motor deficits in rat models of parkinsonism. *Brain Res Brain Res Protoc*. 1997;2:75-84.
- [47] Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 3 ed. San Diego, California: Academic Press; 1997.
- [48] Rush SA, Maddox T, Fisk AT, Woodrey MS, Cooper RJ. A precise water displacement method for estimating egg volume. *Journal of Field Ornithology*. 2009;80:193-7.
- [49] Powell CM, Miyakawa T. Schizophrenia-relevant behavioral testing in rodent models: a uniquely human disorder? *Biol Psychiatry*. 2006;59:1198-207.
- [50] Lieberman JA, Perkins D, Belger A, Chakos M, Jarskog F, Boteva K, Gilmore J. The early stages of schizophrenia: speculations on pathogenesis, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Biol Psychiatry*. 2001;50:884-97.
- [51] Hazane F, Krebs MO, Jay TM, Le Pen G. Behavioral perturbations after prenatal neurogenesis disturbance in female rat. *Neurotox Res*. 2009;15:311-20.
- [52] Le Pen G, Jay TM, Krebs MO. Effect of antipsychotics on spontaneous hyperactivity and hypersensitivity to MK-801-induced hyperactivity in rats prenatally exposed to methylazoxymethanol. *J Psychopharmacol*. 2011;25:822-35.
- [53] Lysaker PH, Salyers MP. Anxiety symptoms in schizophrenia spectrum disorders: associations with social function, positive and negative symptoms, hope and trauma history. *Acta Psychiatr Scand*. 2007;116:290-8.
- [54] Du Y, Grace AA. Peripubertal diazepam administration prevents the emergence of dopamine system hyperresponsivity in the MAM developmental disruption model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38:1881-8.
- [55] Gastambide F, Taylor AM, Palmer C, Svard H, Karjalainen M, Janhunen SK, Tricklebank M, Bannerman DM. Alterations in spatial memory and anxiety in the MAM E17 rat model of hippocampal pathology in schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232:4099-112.
- [56] Braff DL, Geyer MA. Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies. *Archives of general psychiatry*. 1990;47:181-8.
- [57] Moore H, Geyer MA, Carter CS, Barch DM. Harnessing cognitive neuroscience to develop new treatments for improving cognition in schizophrenia: CNTRICS selected cognitive paradigms for animal models. *Neurosci Biobehav Rev*. 2013;37:2087-91.
- [58] Nikiforuk A. Assessment of cognitive functions in animal models of schizophrenia. *Pharmacol Rep*. 2018;70:639-49.
- [59] Featherstone RE, Rizos Z, Kapur S, Fletcher PJ. A sensitizing regimen of amphetamine that disrupts attentional set-shifting does not disrupt working or long-term memory. *Behav Brain Res*. 2008;189:170-9.
- [60] Hodges H. Maze procedures: the radial-arm and water maze compared. *Brain research Cognitive brain research*. 1996;3:167-81.

- [61] Brown JW, Whitehead CA, Basso AM, Rueter LE, Zhang M. Preclinical evaluation of non-imidazole histamine H3 receptor antagonists in comparison to atypical antipsychotics for the treatment of cognitive deficits associated with schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2013;16:889-904.
- [62] Snyder MA, Adelman AE, Gao WJ. Gestational methylazoxymethanol exposure leads to NMDAR dysfunction in hippocampus during early development and lasting deficits in learning. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38:328-40.
- [63] Ratajczak P, Kus K, Murawiecka P, Slodzinska I, Giermaziak W, Nowakowska E. Biochemical and cognitive impairments observed in animal models of schizophrenia induced by prenatal stress paradigm or methylazoxymethanol acetate administration. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2015;75:314-25.
- [64] Mar AC, Nilsson SRO, Gamallo-Lana B, Lei M, Dourado T, Alsiö J, Saksida LM, Bussey TJ, Robbins TW. MAM-E17 rat model impairments on a novel continuous performance task: effects of potential cognitive enhancing drugs. *Psychopharmacology (Berl)*. 2017;234:2837-57.
- [65] Howe WM, Tierney PL, Young DA, Oomen C, Kozak R. MAM (E17) rodent developmental model of neuropsychiatric disease: disruptions in learning and dysregulation of nucleus accumbens dopamine release, but spared executive function. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232:4113-27.
- [66] de Bruin JP, Sanchez-Santed F, Heinsbroek RP, Donker A, Postmes P. A behavioural analysis of rats with damage to the medial prefrontal cortex using the Morris water maze: evidence for behavioural flexibility, but not for impaired spatial navigation. *Brain Res*. 1994;652:323-33.
- [67] Gastambide F, Cotel MC, Gilmour G, O'Neill MJ, Robbins TW, Tricklebank MD. Selective remediation of reversal learning deficits in the neurodevelopmental MAM model of schizophrenia by a novel mGlu5 positive allosteric modulator. *Neuropsychopharmacology*. 2012;37:1057-66.
- [68] Gomes FV, Guimaraes FS, Grace AA. Effects of pubertal cannabinoid administration on attentional set-shifting and dopaminergic hyper-responsivity in a developmental disruption model of schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2014;18.
- [69] Walker E, Bollini AM. Pubertal neurodevelopment and the emergence of psychotic symptoms. *Schizophr Res*. 2002;54:17-23.
- [70] Kállai V, Tóth A, Gálosi R, Péczely L, Ollmann T, Petykó Z, László K, Kállai J, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L. The MAM-E17 schizophrenia rat model: Comprehensive behavioral analysis of pre-pubertal, pubertal and adult rats. *Behav Brain Res*. 2017;332:75-83.
- [71] Van Snellenberg JX. Working memory and long-term memory deficits in schizophrenia: is there a common substrate? *Psychiatry Res*. 2009;174:89-96.
- [72] Gold JM, Carpenter C, Randolph C, Goldberg TE, Weinberger DR. Auditory working memory and Wisconsin Card Sorting Test performance in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*. 1997;54:159-65.
- [73] Goldman-Rakic PS. Working memory dysfunction in schizophrenia. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*. 1994;6:348-57.
- [74] Elliott R, McKenna PJ, Robbins TW, Sahakian BJ. Neuropsychological evidence for frontostriatal dysfunction in schizophrenia. *Psychol Med*. 1995;25:619-30.
- [75] Perry W, Braff DL. A multimethod approach to assessing perseverations in schizophrenia patients. *Schizophr Res*. 1998;33:69-77.
- [76] Csernansky JG, Schindler MK, Splinter NR, Wang L, Gado M, Selemon LD, Rastogi-Cruz D, Posener JA, Thompson PA, Miller MI. Abnormalities of thalamic volume and shape in schizophrenia. *The American journal of psychiatry*. 2004;161:896-902.

8. Publikációs jegyzék

A teljes publikációs lista a következő címen megtalálható:

<https://m2.mtmt.hu/gui2/?type=authors&mode=browse&sel=10025904>

8.1. A disszertáció témájához kapcsolódó elsőszerzős folyóiratcikkek

- **Kállai V**, Tóth A, Gálosi R, Szabó I, Petykó Z, Karádi Z, Kállai J, Lénárd L. (2015) A MAM-E17 skizofrénia patkány modell (MAM-E17 schizophrenia rat model) *Psychiatr Hung*;30(1):4-17. (Q4)
- **Kállai V**, Tóth A, Gálosi R, Péczely L, Ollmann T, Petykó Z, László K, Kállai J, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L (2017): The MAM-E17 schizophrenia rat model: Comprehensive behavioral analysis of pre-pubertal, pubertal and adult rats *Behav Brain Res*; 332:75-83. (IF: 3.173, Q1)
- **Kállai V**, Lénárd L, Péczely L, Tóth A, Gálosi R, Petykó Z, László K, Kállai J, Szabó I, Karádi Z, Ollmann T. Cognitive performance of the MAM-E17 schizophrenia model rats in different age-periods. *Behavioural Brain Research*. In press. **Q1***, [IF: 2.770]*
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112345>

8.2. Egyéb impaktfaktoros publikációk

- Kőszegi Zs, Kovács P, Wilhelm M, Atlasz T, Babai N, **Kállai V**, Hernádi I (2006) The application of in vivo microiontophoresis for the investigation of mast cell–neuron interactions in the rat brain. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 69:227-231
Q2, [IF: 1.403]
- Ollmann T, Péczely L, László K, Kovács A, Gálosi R, Kertes E, **Kállai V**, Zagorác O, Lénárd L (2015): Anxiolytic effect of neurotensin microinjection into the ventral pallidum. *Behav Brain Res* 294:208-14.
Q1, [IF: 3.002]
- Péczely L, Ollmann T, László K, Kovács A, Gálosi R, Kertes E, Zagorác O, **Kállai V**, Karádi Z, Lénárd L. (2016) Role of ventral pallidal D2 dopamine receptors in the consolidation of spatial memory. *Behav Brain Res* 313:1-9
Q1, [IF: 3.002]
- Lénárd L, Ollmann T, László K, Kovács A, Gálosi R, **Kállai V**, Attila T, Kertes E, Zagoracz O, Karádi Z, Péczely L. (2017) Role of D2 dopamine receptors of the ventral pallidum in inhibitory avoidance learning. *Behav Brain Res* 321:99-105
Q1, [IF: 3.173]
- Tóth A, Petykó Z, Gálosi R, Szabó I, K, Feldmann Á, Péczely L, **Kállai V**, Karádi Z, Lénárd L. (2017) Neuronal coding of auditory sensorimotor gating in medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 326:200-208.
Q1, [IF: 3.173]

- Lénárd L, László K, Kertes E, Ollmann T, Péczely L, Kovács A, **Kállai V**, Zagorác Z, Gálosi R, Karádi Z. Substance P and neurotensin in the limbic system: their roles in reinforcement and memory consolidation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2018;85:1-20.
D1, [IF: 8.002]
- Gálosi R, Petykó Z, **Kállai V**, Tóth A, Ollmann T, Péczely L, Kovács A, Berta B, Lénárd L. Destruction of noradrenergic terminals increases dopamine concentration and reduces dopamine metabolism in the medial prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 2018;344:57-64.
Q1, [IF: 2.770]
- László K, Péczely L, Zagorác Z, Ollmann T, Kertes E, **Kállai V**, Csetényi B, Karádi Z, Lénárd L. The role of intraamygdaloid neurotensin and dopamine interaction in conditioned place preference. *Behav Brain Res* 2018;344:85-90.
Q1, [IF: 2.770]
- Berta B, Péczely L, Kertes E, Petykó Z, Ollmann T, László K, **Kállai V**, Kovács A, Zagorác Z, Gálosi R, Karádi Z, Lénárd L. Iontophoretic microlesions with kainate or 6-hydroxidopamine in ventromedial prefrontal cortex result in deficit in conditioned taste avoidance to palatable tastants. *Brain Research Bulletin* 2018; 143:106-115
Q2, [IF: 3.103]
- Berta B, Kertes E, Péczely L, Ollmann T, László K, Gálosi R, **Kállai V**, Petykó Z, Zagorác Z, Kovács A, Karádi Z, Lénárd L. Ventromedial prefrontal cortex is involved in preference and hedonic evaluation of tastes. *Behav Brain Res* 2019; 367:149-157
Q1, [IF: 2.770]**
- Zagorác Z, Ollmann T, Péczely L, László K, Kovács A, Berta B, **Kállai V**, Kertes E, Lénárd L. QRFP administration into the medial hypothalamic nuclei improves memory in rats *Brain Research* 2019. In press
Q1, [IF: 2.990]**

összesített impaktfaktor: 42.101

8.3. Egyéb publikációk

- Kovács P, Atlasz T, Kőszegi Zs, **Kállai V**, Molnár D, Hernádi I, Wilhelm M (2005) Changing estrogen level modifies mast cell-neuron interactions in the rat thalamus. *Magyar Idegtudományos Társaság (MITT) X., Pécs*
- Kőszegi Zs, Kovács P, **Kállai V**, Atlasz T, Pál E, Wilhelm M (2006) Mast cell-neuron interactions: in vivo microiontophoretical and morphological investigations. *International IBRO Workshop Budapest, Hungary*
- Kőszegi Zs, **Kállai V**, Atlasz T, Babai N, Kovács P, Vecsei Zs, Wilhelm M, Hernádi I. (2007) The effects of mast cell degranulation on neuronal activity in the thalamus of normal and ovariectomized rats. *Magyar Idegtudományi Társaság (MITT) XI., Szeged*
- **Kállai V**, Vecsei Zs, Tékus É, Wilhelm M. (2010) Thalamic mast cell number and their distribution in female rats. *International IBRO Workshop Pécs, Hungary*

- Tóth A, Petykó Z, **Kállai V**, Gálosi R, Karádi K, Feldman Á, Máthé K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L. (2012) Auditory sensory gating local field potential analysis in the medial prefrontal cortex in freely moving rats. *International IBRO Workshop Szeged, Hungary*
- Magyary I, **Kállai V**, Müller F, Varga S, Gyertyán I, Visegrády A, Horváth Cs (2010) Effects of dizocilpine maleate (MK-801) and chlorpromazine on locomotor activity and social behavior in zebrafish. The 1st European Zebrafish PI Meeting. Padova, Olaszország
- Tóth A, Petykó Z, **Kállai V**, Gálosi R, Karádi K, Feldmann Á, Máthé K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L. (2012) Szenzoros kapuzó mechanizmus auditoros kiváltott potenciál analízise szabadon mozgó patkány mediális prefrontális kérgében. *A Magyar Élettani Társaság, a Magyar Anatómusok Társasága, a Magyar Biofizikai Társaság és a Magyar Mikrocirkulációs és Vaszkuláris Biológiai Társaság Kongr.* Debrecen, Magyarország
- **Kállai V**, Tóth A, Petykó Z, Gálosi R, Karádi K, Feldmann Á, Máthé K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L. (2012) Auditoros szenzoros kapuzás lokális mezőpotenciál analízise patkány mediális prefrontális kérgében. *Magatartástudományi napok*
- Tóth A, Petykó Z, **Kállai V**, Gálosi R, Karádi K, Feldmann Á, Máthé K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L. (2012) Local field potential analysis of auditory sensory gating in medial prefrontal cortex in freely moving rats. *8th FENS Forum of European Neuroscience, Barcelona, Spain*
- Wilhelm M, Vecsei Zs, **Kállai V**, Kőszegi Zs, Hernádi I (2013) Thalamic mast cell number and their activation state in female rats. *Journal of neurochemistry* 125:(Suppl. 1)p. 157. *1 p.(2013) 24th Biennial Meeting of the International-Society-for-Neurochemistry and the American-Society-for-Neurochemistry.* Cancun, Mexikó.
- Tóth A, Petykó Z, Feldman Á, **Kállai V**, Gálosi R, Karádi K, Máthé K, Szabó I, Karádi Z, Lénárd L. (2014) Single unit analysis of auditory sensory gating in the medial prefrontal cortex (mPFC) in freely moving rats. *IBRO Workshop, Debrecen, január 16-17. p.: 95.*
- **Kállai V**, Gálosi R, Tóth A, Petykó Z, Ollmann T, Péczely L, Kovács A, Kállai J, Szabó I, Lénárd L. (2014) The MAM-E17 rat model of schizophrenia: Behavioral examinations. *IBRO Workshop, Debrecen, január 16-17. p.: 77.*
- Péczely L, Ollmann T, László K, **Kállai V**, Kovács A, Lénárd L. (2014) A ventrális pallidum D2 dopamin receptorainak szerepe a memóriakonzolidációban. *III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, április 15-17.* In: Kósa B, Springó Zs (szerk.): *III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet*, p. 18
- Ollmann T, Péczely L, László K, **Kállai V**, Kovács A, Lénárd L. (2014) A ventrális pallidum neurotensin-1-receptorainak szerepe a pozitív megerősítésben és a szorongásban. *III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, április 15-17.* In: Kósa B, Springó Zs (szerk.): *III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet*, p. 17
- **Kállai V**, Gálosi R, Tóth A, Petykó Z, Ollmann T, Péczely L, Kovács A, Karádi Z, Kállai J, Szabó I, Lénárd L. (2014) Magatartási vizsgálatok MAM-E17 skizofrén állatmodellén. *III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, április 15-17.* In: Kósa B, Springó Zs (szerk.): *III. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia absztraktfüzet*, p. 249
- Tóth A, Petykó Z, Gálosi R, Szabó I, Karádi K, Feldman Á, Péczely L, **Kállai V**, Karádi Z, Lénárd L. (2016) A mediális prefrontális kérgi sejtek szabályozó szerepe az auditoros szenzoros kapuzó mechanizmusban. *FAMÉ 2016: Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája Pécs, június 1-4.*

- Ollmann T, Péczely L, László K, **Kállai V**, Kovács A, Gálosi R, Kertes E, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L. A ventralis pallidum neurotensinreceptorainak szerepe a szorongás szabályozásában. In: *FAMÉ 2016.06.01-04: Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája. Pécs, Magyarország, Paper P.285.*
- Péczely L, Ollmann T, László K, **Kállai V**, Kovács A, Gálosi R, Kertes E, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L. A ventralis pallidum területén található D2 dopamin receptorok memória-stabilitásban játszott szerepének vizsgálata nem-tradicionális magatartási paraméterek segítségével. In: *FAMÉ 2016.06.01-04: Magyar Farmakológiai, Anatómus, Mikrocirkulációs és Élettani Társaságok Közös Tudományos Konferenciája. Pécs, Magyarország, P 2.95.*
- **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. *FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország, 2017.09.20-23.*
- Péczely L, Ollmann T, **Kállai V**, László K, Kovács A, Kertes E, Gálosi R, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L. Inhibition of the ventral pallidal D2 dopamine receptors induces place aversion. *FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország, 2017.09.20-23.*
- Ollmann T, Péczely L, **Kállai V**, László K, Kovács A, Kertes E, Gálosi R, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L. D2 dopamine receptor antagonist sulpiride prevents the anxiolytic and rewarding effects of neurotensin in the ventral pallidum. *FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország, 2017.09.20-23.*
- Dusa D, Ollmann T, **Kállai V**, Lénárd L, Péczely L. A ventralis pallidumba injektált szulpirid hatása a térbeli tanulásra. *VII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, Magyarország, 2018.05.17-19.*
<http://idkpecs.phdpecs.hu/hu/program>
- **Kállai V**, Ollmann T, Péczely L, Gálosi R, Tóth A, Kovács A, Dusa D, Berta B, Kertes E, László K, Karádi Z, Kállai J, Szabó I, Lénárd L. A MAM-E17 skizofrénia patkánymodell: kognitív képességek vizsgálata 3 különböző életkorban. *Magyar Élettani Társaság, Szeged, Magyarország 2018. 06.27-30.*
- Ollmann T, Péczely L, **Kállai V**, Dusa D, László K, Berta B, Kovács A, Kertes E, Gálosi R, Zagoracz O, Karádi Z, Lénárd L. Role of ventral pallidal dopamine-neurotensin interactions in the regulation of reward and anxiety. *Magyar Élettani Társaság, Szeged, Magyarország 2018. 06.27-30.*
- Péczely L, Ollmann T, **Kállai V**, Dusa D, László K, Berta B, Kovács A, Kertes E, Gálosi R, Zagoracz O, Tóth A, Lénárd L. A ventralis pallidumba injektált szulpirid hatása a tanulási folyamatokra Morris-féle úsztatási tesztben egészséges és MAM-E17 skizofrénia modell állatokon. *Magyar Élettani Társaság, Szeged, Magyarország 2018. 06.27-30.*
- Kertes E, László K, Péczely L, Ollmann T, **Kállai V**, Berta B, Lénárd L. Az amygdala centrális magjába és a globus pallidusba injektált substance P hatása a helytanulásra Morris water maze tesztben. *Magyar Élettani Társaság, Szeged, Magyarország 2018. 06.27-30.*
- Berta B, Kertes E, Péczely L, Ollmann T, **Kállai V**, Lénárd L. A ventromediális prefrontális kéreg szerepe az íz-preferenciában. *Magyar Élettani Társaság, Szeged, Magyarország 2018. 06.27-30.*