

# A prefrontális kéreg szerepe az abnormális agresszió szabályozásában

Doktori tézisek

**Biró László**

Semmelweis Egyetem  
Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Haller József, D.Sc., tudományos tanácsadó  
Dr. Mikics Éva, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Gyertyán István, Ph.D., egyetemi kutató  
Dr. Pintér Ottó, Ph.D., kutató

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Rihmer Zoltán, D.Sc., egyetemi tanár  
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Zachar Gergely, Ph.D., tudományos munkatárs  
Dr. Tarnawa István, Ph.D., kutató

Budapest  
2019

## BEVEZETÉS

---

Az abnormális módon megnyilvánuló agresszió több pszichiátriai kórkép, például az antiszociális személyiségzavar, a fiataalkori magatartászavarok, a borderline személyiségzavar és az időszakos explozív zavar központi eleme. A szakirodalomban újabban az abnormális agresszióval társuló pszichopatológiákat egyfajta fejlődési zavarnak tekintik, melyeket környezeti és biológiai (genetikai, pszichológiai, neurobiológiai) faktorok együttes interakciója okozhat. Az averzív szociális környezetben felnövő gyermekek felnőttkorukban nagyobb eséllyel mutatnak pszichopatológiás vonásokat, melyek jellegzetes tünetei a szorongás, a megnövekedett stressz-reaktivitás, antiszociális viselkedés és a fokozott hajlam az agresszióra. Az abnormális agresszió mögött álló neuronális mechanizmusok megértéséhez a természetes mértékű agresszivitást moduláló pályarendszerek és érintett agyterületek feltárása kiemelten fontos. Az agresszióval társuló pszichopatológiákra a mediális prefrontális kéreg (mPFC) strukturális és funkcionális deficitjei jellemzik. Az mPFC gátló szerepet tölt be az agresszió szabályozásában és különösen hosszútávú fejlődésmenttel rendelkezik, amely így fokozottan érzékennyé teszi a fiataalkori averzív környezeti behatásokra. Ilyen jellegű behatásokra (pl. gyermekkori elhanyagolás) emberekben az mPFC strukturális deficiteket mutat.

Annak ellenére, hogy az agresszióval társuló kórképekben prefrontális deficiteket írtak le, a neuronális aktivációs tanulmányok szerint az agressziót megemelkedett mPFC aktivitást kíséri. Ehhez hasonló eredményt mutattak azok az emberekben végzett vizsgálatok, amelyeknél az agresszió tényleges hatását tanulmányozták (fiktív ellenfelek büntetése, illetve erőszakos videojátékokkal való játék). Mind az abnormális agresszió állmodelljeiben, mind az agresszióval társuló pszichopatológiáknál az mPFC felfokozott aktivitását írták agresszív viselkedés során. Noha az mPFC sűrű

projekciókat küld számos szubkortikális területhez, nem ismert az, hogy az egyes projekciók miként modulálják az agresszió mennyiségi és minőségi jellegeit.

Munkánk első részében az mPFC hipotalamikus projekcióinak agresszióban betöltött szerepét vizsgáltuk, nevezetesen a mediobazális hipotalamusz (MBH) és a laterális hipotalamusz (LH) prefrontális kérgi bemenetét. Előbbi agyterület az intraspecifikus agresszió agyi központja rágszálókban, utóbbi pedig a ragadozói agresszióban játszik szerepet, de az intraspecifikus agresszióban betöltött szerepére is vannak irodalmi adatok. Bár utóbbi két agyterület prefrontális kérgi bemenete felveti az agresszió közvetlen kérgi modulálásának lehetőségét, korábban ezt kísérletes bizonyítékokkal nem támasztották alá.

Munkánk második részében, a fiatalkori szociális elhanyagolás laboratóriumi modelljét, a korai szociális izolációs patkány modellt alkalmaztuk a felnőttkori abnormális agresszió és az ehhez társuló prefrontális kérgi változások tanulmányozására. Embereknél a korai szociális elhanyagolás hajlamosító tényezőként járul hozzá a felnőttkori erőszakossághoz és bűntettek elkövetéséhez. A szociális izolációs modell számos hatását reprodukálja az humán szociális elhanyagolásnak: a szociális izolációnak kitett patkányok abnormális agresszivitás mutatnak (mennyiségileg többet harapnak és a harapások az ellenfeleik sérülékeny testrészeire irányulnak (fejt, torok, has). Vizsgálatunk a korai szociális izoláció okozta prefrontális kérgi deficittek feltárására irányult, így megvizsgálva azt, hogy az izoláció reprodukálja-e a humán abnormális agresszióhoz kapcsolódó strukturális változásokat. Vizsgálatunk az izolációban felnőtt állatok agresszív interakcióját kísérő neuronális aktivációs mintázatok leírására is kiterjedtek.

## **CÉLKITŰZÉSEK**

---

### **1. Az mPFC és a hipotalamikus támadási központok közötti projekciók anatómiai és viselkedési karakterizálása**

1.1. Az MBH-ba és az LH-ba vetülő prefrontális kérgi neuronpopulációk átfedésének vizsgálata.

1.2. Az mPFC-MBH és az mPFC-LH projekciók neurokémiai karakterizálása.

1.3. Az mPFC-MBH és az mPFC-LH projekciók az agresszív és egyéb szociális viselkedésformákra gyakorolt hatásainak vizsgálata agresszív interakció során.

### **2. A korai szociális izoláció következtében kialakuló abnormális agresszió hátterében álló prefrontális kérgi strukturális és funkcionális változások leírása**

2.1. A korai szociális izoláció kiváltotta strukturális változások feltárása az mPFC-ben.

2.2. A korai szociális izoláció indukálta abnormális agresszióhoz társuló neuronális aktivitásbeli változások feltárása az mPFC-ben.

2.3. A korai szociális izoláció következtében kialakuló abnormális agresszív viselkedés során aktiválódó neuronok neurokémiai jellemzése.

## **MÓDSZEREK**

---

### **Kísérleti alanyok**

A kísérletek során vizsgált állatok hím Wistar patkányok voltak (Charles River Laboratories). A műtéti beavatkozásokig az állatokat csoportosan, azok után

individuálisan tartottuk, egy 12 órás fordított napszakos ciklusú állatszobába, ahol a sötét periódus délelőtt 10:00 órakor kezdődött. A szobában állandó hőmérséklet ( $22 \pm 2$  °C) és páratartalom ( $60 \pm 10$  %) volt. Laboratóriumi patkánytáp és víz korlátlan mennyiségben állt az állatok rendelkezésére. Az állatkísérleteket az Európai Bizottság Tudományos Tanácsa ajánlásának (86/609/EEC) megfelelően, a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet Állatjóléti Bizottságának felügyeletével és jóváhagyásával, a szükséges, állatkísérletek végzésére szóló engedélyek birtokában végeztük.

### Korai szociális izoláció

Az utódokat 21 napos korukban választottuk el az anyaállattól. A következő 7 hét során az alomtársakat véletlenszerűen egyedül (izolációs kezelés) vagy 4 fős (szociális) csoportokban tartottuk.

### **Viselkedési vizsgálatok**

#### Rezidens-betolakodó teszt

A territoriális agresszív viselkedés a reziden betolakodó tesztben tanulmányoztuk Plexiglas dobozokban (40 x 25 x 25 cm). A rezidens állatok ketrecébe egy náluk kisebb ivarérett hím betolakodót helyeztünk 20 percre és viselkedésüket videokamerával rögzítettük. A videofelvételeken azonosítottuk a harapásokat, majd azokat lassítva, képkockánként megállítva elemeztük („frame-by-frame analízis”) azok célpontjait és a harapásokat megelőző viselkedéselemeket. A harapások célpontjait az alábbi kategóriákba soroltuk: fej (a fülek előtti terület), torok (a fülek alatti ventrális terület), hát (a fülek mögötti terület), has (a lábak közötti ventrális terület), lábfejek, farok. Az ellenfél fejét, torkát és a hasát érintő harapásokat sérülékeny célpontú harapásnak minősítettük. Vizsgálataink kiterjedtek a harapási szándék előre jelzésének azonosítására is, azaz rögzítettük, hogy milyen viselkedéselem előzte meg a támadást. „Előre

jelzett” harapásnak tekintettük, amikor a rezidens fenyegető viselkedés, illetve domináns testhelyzet felvétele után harapta meg ellenfelét. „Előre nem jelzett” harapásnak tekintettük, amikor a támadást arra nem utaló viselkedés előzte meg. A vizsgálatok analízise során azokat a harapásokat, melyeket nem előzött meg fenyegetés vagy sérülékeny testrészekre irányultak abnormális harapásoknak tekintettük. A harapások elemzése mellett a rezidens állatok viselkedését részletesen karakterizáltuk a H77 eseményregisztráló szoftver segítségével. Ennek során - a videofelvétellel párhuzamosan, az egyes magatartási változókhoz rendelt billentyűk lenyomásával - minden monitorozott magatartási elem esetében megállapítottuk a viselkedéssel töltött összidőt, illetve ennek arányát a teljes teszt idejére vonatkoztatva (időszázalék), valamint azok előfordulási gyakoriságát és első előfordulásának latenciáját. A megfigyelt magatartási változók a következők voltak: pihenés; exploráció; szociális szaglászás; tisztálkodás; offenzív viselkedés; defenzív magatartás; domináns pozíció; szubmisszív pozíció.

#### Rezidens-betolakodó teszt optogenetikai ingerléssel

Három nappal az RB tesztek előtt a rezidens állatokat áthelyeztük a teszt dobozokba. A 10 perces RB teszt a betolakodó állat behelyezésével kezdődött. A prefronto-hipotalamikus projekciók fotostimulációja minden esetben a tesztső három percében történt, 20 Hz-es, 10 ms-os időtartamokban felvillanó (20 ms-os szünetekkel alternálva) 20 mW kimeneti teljesítményű kék (473 nm) lézer impulzusok alkalmazásával. Minden állatot négy RB tesztnek vetettünk alá, amelyekből kettő fotostimulációval, kettő anélkül történt. A fotostimulációval párosított és az azzal nem társított RB tesztek véletlenszerű alternáló elrendezésben követték egymást.

#### Szociabilitás teszt

Az állatokat egy nyílt térbe helyeztük, 5 perces beavatkozás nélküli habituációs periódusra. Ezután az aréna egyik sarkába

egy kisebb hím fajtársat raktunk rácsos hengerben, a másik sarokba egy üres hengert. A fajtárs behelyezését követő 3 percen az RB teszttel megegyező ingerlési paramétereket alkalmaztuk, majd további 7 percig fotostimuláció nélkül folytattuk a tesztet. A fajtársat tartalmazó és üres cylinder explorációját H77 eseményrögzítő szoftverrel kvantifikáltuk.

## **Műtéti beavatkozások**

A kettős pályajelöléshez és az optogenetikai manipulációkhoz (vírus beadás, optikai szál beültetés) szükséges műtéti eljárásokat sztereotaxikus készülékben (Kopf Instruments) végeztük, mely előtt az állatokat intraperitoneális injekcióval adott 50 mg/kg ketamin (Medicus Partner), 20 mg/kg xylazin (Medicus Partner) és 0,2 ml/kg pipolphen (Egis) keverékével elaltattuk.

### Kettős retrográd pályajelölés

Az mPFC hipotalamuszba vetítő sejtjeinek feltérképezésére Cholera toxin  $\beta$  (CTB; List Biologicals) és FluorGold (FG; Fluorochrome) retrográd irányban terjedő pályajelölő anyagokat adtunk be az MBH-ba (CTB) és az LH-ba (FG).

### Vírus beadás és optikai szál beültetés

A prefronto-hipotalamikus terminálisok optogenetikai manipulációjához AAV2.5.-hSyn.hChR2-(H134R)eYFP.-WPRES.h ( $10^{13}$  GC/ml titer; catalog #26973, Addgene; Penn Vector Core) és AAV-hSyn-EYFP (titer,  $3 \times 10^{12}$ ; Addgene; University of North Carolina, Chapel Hill, NC) víruskonstrukciókat injektáltunk az mPFC-be (AP, 2.8 mm; ML, 0.6 mm; DV, 4.4 and 5.0mm from bregma) és optikai szálakat ültettünk be az MBH (AP, -1.8 mm; ML, 1 mm; DV, -8.8 mm) vagy az LH (AP, -2.3 mm; ML, 2 mm; DV, -7.4 mm) fölé.

## **Szövetteni eljárások**

### Perfúzió és agymetszés

A viselkedésteszték után 90 perccel az állatokat mélyaltatásban 150 ml PBS oldattal majd 300 ml jéghideg 4%-os paraformaldehid-oldattal, a felszálló aortán keresztül transzkardiálisan perfundáltuk. Az állatok agyát eltávolítottuk a koponyából, utófixáltuk és 30%-os szacharóz-oldatba tettük krioprotekció céljából. Ezt követően fagyasztó 30  $\mu$ m vastag koronális agymetszeteket készítettünk.

### Az mPFC strukturális változásainak felmérése

Az mPFC strukturális változásainak felmérését a Paxinos és Watson-féle patkányagy atlasz alapján a Bregmától számított AP +3,20 mm és +2,70 mm közötti síkokban végeztük állatonként két metszeten. Ebben a régióban a kérgestest (corpus callosum) elülső része különösen jól látható anatómiai indikátor, amely lehetővé tette az agykéreg vastagságának megbízható felmérését. Az mPFC-t tartalmazó metszeteket bilaterálisan sötét látóterés (dark field) mikroszkópia segítségével, 10x nagyítású objektívvel digitalizáltuk. Ezt követően ImageJ (NIH, USA) képelemző szoftver alkalmazásával kvantifikáltuk a kéreg mediális falvastagságát két merőleges vonal segítségével, melyeket az agy szélétől a kérgestest dorzális illetve ventrális széléhez húztunk megbízható anatómiai pontok alapján.

### Immunhisztokémia

A szabadon úszó metszeten c-Fos, NeuN, CTB, FG, GFP, vGAT, vGLUT1, GFAP, lectin, SMI-32, GABA, CaMKII $\alpha$  festéseket hajtottunk végre. A metszeteket szobahőmérsékleten PBS-T-ben (0.1% - 0.5% Triton X-100) blokkoltuk normal kecske, ló vagy szamár szérummal és elsődleges (24-72 óra at 4°C or szabahő) majd másodlagos ellenanyagokat tartalmazó oldatban inkubáltuk (2 óra szabahő).

### Mikroszkópia



A kiemelt régiókról egy CCD kamera rendszerrel felszerelt Olympus DP70 fénymikroszkóppal digitalizáltuk a felvételeket 60-250x-es nagyításon. A fluoreszcens jelölések esetén a metszeteket Mowiol 4-88 (Sigma, USA) oldattal fedtük le és Nikon Ni-C2 típusú lézer-pásztázó mikroszkóp (Nikon Europe, Amsterdam, Hollandia) segítségével digitalizáltuk. A képalkotás során a fluorofórok 488 nm-es, 561 nm-es, és 642 nm hullámhosszú lézerekkel gerjesztettünk (CVI Melles Griot).

### ***In vitro* elektrofiziológia**

Az agyat gyorsan eltávolítottuk a koponyából és jéghideg nátrium tiszta oldatba merítettük, majd az MBH-t tartalmazó 250  $\mu\text{m}$  vastag akut agyszeleteket készítettünk. A kiválasztott neuront patch-clampeltük az üveg kapilláris közelében (200-300  $\mu\text{m}$ ). A posztzinaptikus áramok (PSC) teljes sejt patch-clamp konfigurációban történtek. A neuronok feszültség zárban voltak a pipettával -70 mV tartott potenciálon. A lézerrimpulzus időtartama 10 ms, frekvenciája 0,2 Hz volt, 2,5 mW intenzitással. Az analízis során 60 impulzus alatti mérést átlagoltunk. A mérések során összesen három állat 12 neuronjából történt elvezetés.

### **Statisztikai módszerek**

A feltüntetett adatok átlag  $\pm$  standard hiba (SE) formátumban adtuk meg. A statisztikai analízist STATISTICA program (Statistica Inc., Tulsa, USA) segítségével végeztük. A viselkedési adatokhoz Kruskal-Wallis ANOVA, illetve két faktoros ANOVA elemzést végeztünk. A szövettani adatok esetében ismételt mérések ANOVA modellt alkalmaztunk, amelyet Tukey-féle post-hoc összehasonlítás követett (Holm-Bonferroni korrekcióval). Az adatokat négyzetgyök transzformációnak vetettük alá, ha nem feleltek meg az ANOVA előkövetelményeknek. Szignifikáns hatásnak a  $p < 0,05$  értékeket tekintettük.

## EREDMÉNYEK

---

### 1. A prefrontális kéreg és a hipotalamikus támadási központok közötti projekció anatómiai és viselkedési karakterizálása:

#### 1.1. Az MBH-t és az LH-t beidegző mPFC idegsejtek réteg-specifikus eloszlása

Eredményeink alapján az mPFC sejtjei jelentős bemenetet adnak a hipotalamikus támadási központokhoz. Az MBH-ba és az LH-ba vetítő sejtek eltérő eloszlást mutattak a prefrontális kéreg különböző rétegeiben. A kettős CTB/FG retrograd pályajelölés alapján három különböző típusú vetítő sejtpopulációt találtunk az mPFC-ben. Az MBH-ba vetítő sejtek főként a III./V. rétegben, míg az LH-ba vetítő sejtek a III./V. mellett a VI. rétegben is sűrűn helyezkedtek el.

#### 1.2. Az mPFC projekciók neurokémiai karakterizálása az MBH és LH szintjén

A vírus vektorok segítségével sikeresen megfertőztük a prefrontális kéreg IL és PrL alterületeinek neuronjait. Mind az MBH, mind az LH területén nagy denzitásban találtunk az mPFC-ből érkező axonokat. Eredményeink szerint az MBH-ba és az LH-ba vetítő mPFC sejtek kizárólagosan glutamatergek: a vizsgált kereteken belül az MBH-ban átlagosan  $372 \pm 11$ ; míg az LH-ban  $506 \pm 31$  vGLUT1-eYFP ko-expressziót számoltunk. A vGAT-eYFP ko-expresszió száma elenyésző volt, az MBH esetén átlagosan  $1 \pm 0,7$ ; az LH esetén  $1 \pm 0,6$  GABAerg szinapszist számoltunk. *In vitro* elektrofiziológiai kísérleteink alapján az mPFC axonjainak fotostimulálása megbízhatóan váltott ki posztzinaptikus válaszokat akut hipotalamikus szeletekben az MBH-ban.

#### **1.4. Az mPFC-MBH projekció fotostimulálásának hatása az agresszív viselkedésre és a nem agresszív szociális viselkedésformákra**

Az MBH-ba érkező prefrontális kérgi bemenetek fotostimulálása szignifikánsan növelte a harapások számát a stimulációval nem társított tesztekhez képest. A fotostimuláció hatása szelektívnek bizonyult, ugyanis sem a harapási latenciára, sem az abnormális harapások arányára nem gyakorolt szignifikáns hatást. Ebben a kísérletben egyik patkány sem mutatott *fokozottan* abnormális harapást. A fotostimuláció viselkedési szelektivitása abban is megnyilvánult, hogy nem okozott szignifikáns változást más viselkedési változóknál, így a pihenéssel, explorációval, szaglászással, mosakodással, fenyegetéssel és domináns viselkedéssel töltött időmennyiségében.

#### **1.5. Az mPFC-LH projekció fotostimulálásának hatása az agresszív viselkedésre és a nem-agresszív szociális viselkedésformákra**

Az LH-ba érkező prefrontális kérgi bemenetek fotostimulálása nem befolyásolta sem a harapások számát sem latenciáját. Ezzel ellentétben a fotostimuláció szignifikánsan növelte mind az abnormális, mind a *fokozottan* abnormális harapások arányát. Hasonló hatásokat az MBH fotostimulációja során nem tapasztaltunk. A fotostimuláció más viselkedésformákra nem gyakorolt hatást az RB tesztben, ami a fotostimuláció viselkedés-specifikus hatását támasztja alá. Annak érdekében, hogy a harapások időbeli eloszlását megjelenítsük, az egyes patkányok által végrehajtott harapásokat az egyes teszt blokkokra perces bontásban ábrázoltuk. A harapások időbeli eloszlása fordított U-alakú görbe alakjához hasonlított mind a fotostimulációval társított, mind a kontroll tesztek alatt, mutatva, hogy mennyiségi eltérés az LH stimulációjakor nem mutatkozott. Ezzel szemben a természetesnek tekintett, szociális kontextusnak megfelelő harapásokat felváltották a megnövekedett számú abnormális harapások, amelyek az egész tesztidőtartam alatt

megfigyelhetőek voltak. Megjegyzendő, hogy a fotostimuláció elhúzódó, az egész tesztre kiterjedő hatása volt megfigyelhető. Ugyanakkor a fotostimuláció elhúzódó következő tesztre kiterjedő hatása nem volt megfigyelhető.

### **1.6. Kontroll kísérletek eYFP-t tartalmazó víruskonstrukciókkal**

A Chr2 mentes mPFC bemenetek fotostimulációja az MBH-ban nem gyakorolt szignifikáns hatást a harapások számára. Ebben a kísérletsorozatban sem figyeltünk meg *fokozottan* abnormális harapásokat. A fotostimuláció nem okozott szignifikáns változást a pihenéssel, explorációval, szaglászással, mosakodással, fenyegetéssel és domináns viselkedéssel töltött idő mennyiségében.

A fotostimuláció nem gyakorolt szignifikáns hatást a lokomócióra, ugyanis nem mutatkozott szignifikáns különbség a Chr2-t és eYFP riporter fehérjét kifejező állatok vonal átlépéseinek a számában. Noha az állatok szignifikánsan több időt töltöttek a szociális partnert tartalmazó, mint az üres cylinder körül, nem mutatkozott szignifikáns különbség a Chr2-t és eYFP riporter fehérjét kifejező kísérleti csoportok között a szociabilitás tesztben. Ennek megfelelően a szociális preferencia indexben sem mutatkozott szignifikáns különbség a kísérleti csoportok között.

Annak kizárására, hogy az axonális fotostimulációval esetlegesen visszaterjedő akciós potenciál az mPFC egyéb neuronjait vagy kollaterálisait is aktiválta, az mPFC-ben c-Fos immunhisztokémiával vizsgáltuk meg a terület neuronális aktivitását. Sem az MBH, sem az LH fotostimulálása nem növelte szignifikánsan az mPFC c-Fos pozitív neuronjainak a kifejeződését az eYFP kontroll csoportokhoz képest.

### **2. A korai szociális izoláció okozta abnormális agresszióhoz kapcsolódó prefrontális kérgi strukturális és funkcionális változások**

## **2.1 A korai szociális izoláció kiváltotta abnormális agresszió**

A szociálisan izolált állatok szignifikánsan alacsonyabb latenciával és többször haraptak a szociálisan tartott állatokhoz viszonyítva az RB tesztben. A sérülékeny testrészeket (fej, torok, has) célzó harapások száma is szignifikánsan megnövekedett korai szociális izoláció hatására, valamint kevesebb alkalommal előzte meg fenyegető viselkedés a támadásaikat. A prefrontális kérgi aktiváció neurokémiai karakterizálásban részt vett állatok viselkedési mintázata hasonló változásokat mutatott.

## **2.2. A korai szociális izolációhoz társuló prefrontális kérgi strukturális változások**

Az izoláltan nevelt állatok jobb agyféltekéjében az mPFC mediolaterális kiterjedése mind dorzálisan, mind ventrálisan szignifikánsan csökkent. Ezzel szemben sem a forceps minor, sem a PAG kiterjedése nem mutatott szignifikáns változást izoláció hatására, utalva ezzel arra, hogy nem általános térfogatcsökkenést detektáltunk a szociálisan izolált állatokban. Bár a jobb oldali mPFC vastagsága csökkent, a neuronok száma nem mutatott változást egyik hemiszfériumban sem NeuN immunjelölés alapján. Ezzel szemben, az SMI-32 immunoreaktív idegi nyúlványok bilaterális csökkenést mutattak a korai szociális izoláció hatására, akárcsak a gliális denzitás. A mikrovaszkulátúra jelölésére használt lektin immunjelölés hasonlóan csökkent optikai denzitást mutatott az izoláltan tartott állatokban, azonban ez csak a jobb oldali hemiszfériumra korlátozódott.

## **2.3. A korai szociális izolációt kísérő abnormális agresszióhoz társult mPFC neuronális aktiváció**

Az agresszív interakció szignifikánsan fokozta a c-Fos aktivációt, mind a szociálisan, mind az izoláltan tartott patkányokban. Az izoláltan tartott állatokban ez a növekedés nagyobb volt, mint a szociálisan nevelkedett csoportban.

Az izoláció által fokozott mPFC aktivitás ugyancsak jobban lokalizálható volt a rácsháló segítségével, mely rámutatott a PrL és az IL III/V. és VI. rétegének fokozott aktivitására. Összegezve, ezek az adatok azt mutatják, hogy az mPFC aktivációja nagyobb volt az izoláltan nevelkedett állatok esetében, és ez a hatás az mPFC egy jól körülhatárolt alrégiójára koncentrált.

#### **2.4. Az agresszív interakció hatására aktiválódott idegsejtek neurokémiai azonosítása**

A fenti kísérlethez hasonlóan ebben a kísérleti kohortban is reprodukáltuk az agresszív interakcióban megjelenő fokozott c-Fos aktivációt az mPFC területén az izolált csoportban, mely mind a CaMKII $\alpha$  és a GABA immunoreaktivitást mutató sejtek esetében megfigyelhető volt.

## **KÖVETKEZTETÉSEK**

---

Kísérleti eredményeink alapján az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

### **1) Az mPFC projekció-specifikusan modulálja az agresszív viselkedés különböző aspektusait a hipotalamusz szintjén:**

- a) Az mPFC-ből elkülönült neuronpopulációk vetítenek az MBH-ba és az LH-ba, ahol sűrű excitatorikus szinaptikus vezikula felszabadulási helyeket alkotnak.
- b) Az mPFC-MBH projekció az agresszió mennyiségi, míg az mPFC-LH projekció az agresszió minőségi jellegeinek modulálását szervezi.
- c) Mind az mPFC-MBH, mind az mPFC-LH projekciók aktiválása szelektíven befolyásolja az agresszív viselkedést, egyéb szociális viselkedésformákra gyakorolt hatások nélkül.

### **2) A korai szociális izoláció felnőttkorban abnormális agresszió mintázatot hoz létre, amely háttérben az mPFC strukturális deficitjei és funkcionális hiperaktivitása áll:**

- a) A korai szociális izoláció hatására az mPFC térfogata csökken, melyet a dendritikus, glia és vaszkuláris elemek alacsonyabb kifejeződése kísér.
- b) A korai szociális izolációt kísérő abnormális agresszióhoz az MBH-ba és az LH-ba vetítő mPFC régiók fokozott aktivitása társul, feltehetően hozzájárulva az abnormális agresszióformák megjelenéséhez.
- c) Az agresszív interakciót kísérő neuronális hiperaktivitás mind a glutamáterg, mind a GABA-erg neuronok fokozott aktivitásával jár, így egyelőre kérdéses milyen sejtípus megváltozására vezethető vissza a megfigyelt hiperaktivitás.

## ÖSSZEFOGLALÁS

---

A gyermekkori szociális elhanyagolás és a korai stressz jelentős prefrontális kérgi (PFC) deficithez vezet a fejlődés során, valamint kiemelt kockázati tényezőként hozzájárul a kóros agresszióval társuló magatartászavarok kialakulásához. Ugyanakkor számos korábbi vizsgálat szerint, agresszív viselkedés során a PFC fokozott aktivációja figyelhető meg a fokozott agressziót mutató állapotokban, így a PFC agresszió szabályozásában betöltött szerepe máig nem teljesen tisztázott.

Első kísérletsorozatunkban a mediális PFC (mPFC) agressziót szabályozó szerepét vizsgáltuk a hipotalamikus efferenseinek optogenetikai manipulációjával hím patkányokban. Az mPFC-mediobazális hipotalamusz közötti kapcsolat aktiválása fokozta az állatok agresszivitását, mely megnövekedett harapásszámban nyilvánult meg. Ezzel szemben az mPFC-laterális hipotalamusz kapcsolat stimulálása az agresszív viselkedést csak minőségileg befolyásolta, az állatok többet haraptak sérülékeny testrészekre és a támadásaikat megelőző fenyegetések száma csökkent, azaz abnormális támadásformákat aktivált. Összességében eredményeink arra utalnak, hogy az mPFC két elkülönülő hipotalamikus projekción keresztül szabályozza az agresszió minőségi és mennyiségi jellemzőit.

Második kísérletsorozatunkban a korai szociális izoláció agresszív viselkedésre gyakorolt hatását és az ehhez társuló prefrontális kérgi strukturális és funkcionális változásokat vizsgáltuk. Eredményeink szerint korai szociális izoláció hatására felnőttkorban abnormális agresszió alakul ki, melyet a támadások számának emelkedése, az ellenfél sérülékeny testrészeinek célzása, illetve a támadások előrejelzésének hiánya jellemez. Az izolált állatoknál csökken a jobboldali mPFC térfogata és vaszkulaturája, továbbá bilaterálisan csökken a gliális és dendritikus denzitás, mutatva a megváltozott mPFC fejlődést izoláció hatására. A kialakuló abnormális agressziót az mPFC azon alterületeinek



(infralimbikus (IL) és prelimbikus kéregnek (PrL))a fokozott aktivációja kísérte, melyek szoros anatómiai kapcsolatban állnak az agresszió fent jelzett hipotalamikus központjaival. Eredményeink tehát megerősítik a korai averzív szociális hatások és a PFC krónikus deficitjének abnormális agresszióban betöltött szerepét, továbbá rámutatnak az agresszió szabályozásának egy közvetlen prefrontális kérgi útvonalára.

## **SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE**

---

### **A disszertációhoz kapcsolódó közlemények**

1. Biro, L., Toth, M., Sipos, E., Bruzsik, B., Tulogdi, A., Bendahan, S., Sandi, C., Haller, J., (2017). Structural and functional alterations in the prefrontal cortex after post-weaning social isolation: relationship with species-typical and deviant aggression. *Brain structure & function*, 222: 1861-1875. **IF: 4.231.**
2. Biro, L., Sipos, E., Bruzsik, B., Farkas, I., Zelena, D., Balazsfi, D., Toth, M., Haller, J., (2018). Task Division within the Prefrontal Cortex: Distinct Neuron Populations Selectively Control Different Aspects of Aggressive Behavior via the Hypothalamus. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 38: 4065-4075. **IF: 5.971.**

### **A szerző egyéb közleményei**

3. Tulogdi, A., Soros, P., Toth, M., Nagy, R., Biro, L., Aliczki, M., Klausz, B., Mikics, E., Haller, J., (2012). Temporal changes in c-Fos activation patterns induced by conditioned fear. *Brain Res Bull*, 88: 359-370. **IF: 2.935.**
4. Toth, M., Tulogdi, A., Biro, L., Soros, P., Mikics, E., Haller, J., (2012). The neural background of hyper-

emotional aggression induced by post-weaning social isolation. *Behav Brain Res*, 233: 120-129. **IF: 3.327.**

5. Tulogdi, A., Toth, M., Barsvari, B., Biro, L., Mikics, E., Haller, J., (2014). Effects of resocialization on post-weaning social isolation-induced abnormal aggression and social deficits in rats. *Dev Psychobiol*, 56: 49-57. **IF: 3.307.**
6. Tulogdi, A., Biro, L., Barsvari, B., Stankovic, M., Haller, J., Toth, M., (2015). Neural mechanisms of predatory aggression in rats-implications for abnormal intraspecific aggression. *Behav Brain Res*, 283: 108-115. **IF: 3.002.**
7. Zelena, D., Mikics, E., Balazsfi, D., Varga, J., Klausz, B., Urban, E., Sipos, E., Biro, L., Miskolczi, C., Kovacs, K., Ferenczi, S., Haller, J., (2016). Enduring abolishment of remote but not recent expression of conditioned fear by the blockade of calcium-permeable AMPA receptors before extinction training. *Psychopharmacology (Berl)*, 233: 2065-2076. **IF: 3.308.**
8. Mikics, E., Toth, M., Biro, L., Bruzsik, B., Nagy, B., Haller, J., (2017). The role of GluN2B-containing NMDA receptors in short- and long-term fear recall. *Physiol Behav*, 177: 44-48. **IF: 2.517.**
9. Mikics, E., Guirado, R., Umemori, J., Toth, M., Biro, L., Miskolczi, C., Balazsfi, D., Zelena, D., Castren, E., Haller, J., Karpova, N.N., (2018). Social Learning Requires Plasticity Enhanced by Fluoxetine Through Prefrontal Bdnf-TrkB Signaling to Limit Aggression Induced by Post-Weaning Social Isolation. *Neuropsychopharmacology*, 43: 235-245. **IF: 6.544.**

10. Balogh, Z., Szente, L., Biro, L., Varga, Z.K., Haller, J., Aliczki, M., (2019). Endocannabinoid interactions in the regulation of acquisition of contextual conditioned fear. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 90: 84-91. **IF: 4.185.**

## **KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

---

Mindenekelőtt köszönettel tartozom témavezetőimnek, Dr. Haller Józsefnek és Dr. Mikics Évának a lehetőségért, hogy az általuk vezetett kutatásokban részt vehettem, valamint hogy segítettek a tudományos kutatáshoz szükséges gondolkodásmód és képességek kifejlesztésében és azt, hogy tudományos kérdéseimmel mindig bátran fordulhattam hozzájuk. Dr. Tóth Máténak, Dr. Tulogdi Áronnak és Dr. Aliczki Manónak köszönöm az útmutatást és a türelmet, amelyet felém mutattak a metodikai és elméleti ismeretek elsajátítása során. Külön köszönettel tartozom közvetlen munkatársaimnak: Dr. Balázsfi Diána, Balogh Zoltán, Barsvári Beáta, Bruzsik Báborka, Dr. Demeter Kornél, Dr. Farkas Imre, Miskolczi Saiz Christina, Bodóné Dr. Sipos Eszter, Szebik Huba, Szente László, Varga Zoltán Kristóf, Venczkóné B. Nikoletta, Dr. Zelena Dóra, hogy egyrészt tudásukkal és tapasztalatukkal segítettek a mindennapokban, másrészt, hogy mindezt barátokként tették. Továbbá hálás köszönettel tartozom a Magatartás Neurobiológiai Osztály többi munkatársának is.

Köszönettel tartozom Dr. Barna Lászlónak és Dr. Pongor Csabának a mikroszkópos képalkotás kivitelezésében nyújtott segítségükért.

Köszönöm továbbá a Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet többi munkatársának, hogy szükség esetén mindig a segítségemre voltak.

Köszönöm a Semmelweis Egyetem Doktori Titkárság munkatársainak odaadó munkáját, amellyel a

doktori képzést szervezik, és bármilyen adminisztratív kérdés esetén készségesen rendelkezésemre álltak.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni szüleimnek, társamnak, testvéremnek, rokonaimnak és barátaimnak, hogy szeretetük és biztatásuk végig kísért doktori munkám és a disszertációm elkészítése során.