

MTA Doktori Értekezés Tézisei

NYIRI GÁBOR

---

**A MEMÓRIA AGYKÉREG  
ALATTI SZABÁLYOZÁSA**

Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet

Budapest, 2020

## Tartalomjegyzék

Előszó .....	3
Bevezetés .....	4
A szeptum és a hippokampusz .....	4
A szeptum és a hippokampusz erős anatómiai és funkcionális kapcsolata .....	5
A mediális raphe régió .....	5
A nucleus incertus .....	6
Az acetilkolin-GABA kotranszmissziója és szerepe a memória szabályozásában .....	7
A tématerülethez tartozó publikációk .....	7
Bevezetés .....	7
Eredményeink .....	8
A kolinerg rostok GABAerg jelátvitelének jelentősége .....	9
A medián raphe szerepe a negatív élmények rögzítésében .....	10
A tématerülethez tartozó publikációk .....	10
Bevezetés .....	10
Eredményeink .....	11
A MRR vGluT2 neuronok jelentőségének összefoglalása .....	13
A nucleus incertus szerepe a kontextuális emlékek rögzítésében .....	15
A tématerülethez tartozó publikáció .....	15
Bevezetés .....	15
Eredményeink .....	17
Az NI GABAerg neuronok szerepének összefoglalása .....	18
A NI GABAerg neuronok jelentősége .....	20
Összefoglalás .....	21
Köszönetnyilvánítás .....	22
Referenciák .....	23

## Előszó

Agyunk fontos képessége, hogy folyamatosan képes fejlődni és alkalmazkodni környezetéhez. Ennek egyik legfontosabb eszköze a tanulás és a memória. A tanulás képessége olyan sikeressé vált, hogy a mai ember nem csupán képes rá, de késztetést is érez annak gyakorlására, így a felfedezés és megismerés utáni vágy valamilyen formája minden ember életében fontos szerepet játszik. Ennek megfelelően, az emberi tanulás és a memória kutatása több oknál fogva rendkívül hasznos. Az emberi agy működésének megértése, részben a fent említett okok miatt, eredendő emberi kíváncsiságunk kielégítésére szolgál. Izgalmas felfedezni hogyan raktározódnak emlékeink, hisz ezek építik fel azt a történetet, ami alapján saját magunkat meghatározzuk és ami egyszer majd segíthet megérteni tudatunk működését is. Ugyanakkor a mindennapi élet szempontjából jelentős gyakorlati haszna is van ezeknek a kutatásoknak. Egyrészt lehetővé teszi, hogy az idegrendszeri eredetű megbetegedéseket célzottan gyógyítani tudjuk. Sajnos erre nagy szükség is van, mivel az idegrendszerrel kapcsolatos megbetegedések mára az egyik legnagyobb gazdasági és társadalmi terhet jelentik az emberiség számára. A központi idegrendszerrel kapcsolatos orvosi beavatkozások hatékonysága óriásit léphet előre, ha megismerjük az egyes agyterületek különböző sejttípusainak működését, ha felismerjük mely sejtek működésének változása vezet bizonyos megbetegedésekhez, és így specifikus módon képesek leszünk a személyre, sőt sejttípusra szabott orvosi eljárások kidolgozására. Optimális esetben ez nem csupán tüneti kezelést biztosíthat, hanem a betegek valódi gyógyulását is lehetővé teheti. Másrészt, az agy működésének megértése segíthet a mesterséges intelligenciák fejlesztésében is, amely a jövő társadalmát nagymértékben formáló technológiává válik majd. Mindezekhez elengedhetetlen az idegrendszer elemeinek, felépítésének és működésének pontos megértése, meg kell ismernünk az agy sejttípusait, azok kommunikációjának tulajdonságait, összeköttetések struktúráját és a működésük által irányított viselkedési és szabályozó folyamatokat.

A memóriát két főbb típusra szokás osztani, melyek tipikusan eltérő agyterületekhez kötődnek. Az implicit memória, jellemzően nem tudatos, ilyen például a finom mozgásokkal kapcsolatos motoros memória, aminek kézzel írás vagy hangszeres játék közben vesszük hasznát. A másik az explicit vagy deklaratív memória, ami tudatosan felidézhető emlékeket raktároz. A deklaratív memória, konkrét élethelyzetekhez, térbeli saját eseményekhez köthető típusát epizódikus memóriának nevezzük, melyek rövid időperiódusokat ölelnek fel és az eseményre vonatkozó specifikus kontextuális részleteket tartalmaznak. Ezek nyilvántartása a hippocampusz és a vele összekötött agyterületek feladata, amely az ún. kontextus függő emléknymokat szervezi.

Agyunk felépítésének leegyszerűsített korábbi modellje szerint a különböző agyi folyamatok mint a szaglás, látás, tanulás, térbeli tájékozódás, beszéd, mind különböző agyterületek irányítása alatt áll. Bár ez a modell nem áll messze az igazságtól, a biológiai rendszereknél nem meglepő módon, a helyzet nem ilyen egyszerű. Jó példa erre az u.n. szomatoszenzoros, azaz érző agykérgi terület, melyről ma már ismert, hogy direkt mozgató

feladatokat is ellát (1), vagy a mozgató agykéreg, melyről ma már ismert, közvetlen érző feladatokat is ellát (2). A kontextuális emlényomok raktározásában elsődlegesen felelősnek tartott hippokampális formációban a memória nyomok rögzítéséhez számos agyterület összehangolt működése szükséges, a környezeti ingerek előzetes szűrésétől kezdve, a hippokampusz működését koordináló ritmikus aktivitás szabályozásáig, melyeket mind jórészt a hippokampuszon kívüli, sokszor kéreg alatti agyterületek végeznek. Ugyanakkor meglepő módon számos főként kéreg alatti kontextuális memóriafolyamatokat irányító agyterületek sejtjei vagy azok jelátvivő rendszerei még mindig ismeretlenek.

*Jelen értekezés, három tématerületet felölelő kutatásainkat mutatja be, melyekben a kontextuális memória hippokampuszon kívüli koordinálását végző új pályarendszereket vagy ismert pálya gyökeresen új tulajdonságát vizsgáltuk.*

## Bevezetés

Az emlősállatok két előagyi területe a szeptum és a hippocampus alapvető fontosságú az éberségi, tanulási, memória, szorongásos, félelmi és emocionális folyamatokban, míg rendellenes működése szellemi hanyatláshoz vagy más kognitív rendellenességekhez vezethet. E területek beidegzést kapnak az agytörzsből, melynek fontos szerep jut alapvető szabályozó funkcióban, mint bizonyos típusú motoros és érzékelési folyamatok vagy az éberség és tudatosság koordinálása. Munkánkban ezeknek a területeknek a kapcsolatait vizsgáltuk.

### A szeptum és a hippokampusz

A szeptum és a hippokampusz a limbikus rendszer részei. A hippokampusz alapvetően fontos a különböző típusú tanulási és memória folyamatokban<sup>1-4</sup>, mint például az asszociatív<sup>5</sup>, a térbeli<sup>6-9</sup>, a deklaratív<sup>10</sup>, a munkamemória<sup>9,11</sup>, az epizodikus memória folyamatokban<sup>12</sup>, a rövid és a hosszú távú memória nyomok rögzítésében és előhívásában<sup>7,13-15</sup>, az éberségi és a figyelmi folyamatokban<sup>16</sup>, a szorongás kialakulásában<sup>17,18</sup>, az érzelmek feldolgozásában<sup>19</sup>, a különböző érző és asszociációs kéreg területek felől érkező információk integrálásában<sup>20</sup>, rövid távú memória nyomok tárolásában és előhívásában<sup>21</sup>, miközben működésének zavara idő előtti kognitív problémákhoz vagy elbutuláshoz vezethet<sup>22,23</sup>. A dorzális hippokampusznak elsősorban a térbeli és kontextuális tanulási folyamatokban van szerepe, míg a ventrális hippokampusz inkább az érzelmi élet, félelem és szorongás szabályozásában játszik fontosabb szerepet<sup>24</sup>.

Bazális előagy területén elhelyezkedő szeptális magok (mediális szeptum és Broca-féle diagonális köteg magvai) fontos átjátszó állomásai azon felszálló érző információknak<sup>25</sup>, melyek a középagyat és agytörzset kötik össze az előagyi területekkel. A szeptális magoknak szintén alapvető funkciója van a tanulás és a memória folyamatokban<sup>26-28</sup>, szabályozzák a térbeli memória folyamatokat<sup>29</sup>, a munkamemóriát<sup>30</sup>, a félelmet<sup>31,32</sup>, a szorongást<sup>31,33,34</sup>, az

érzelmekek és az agresszió folyamatait <sup>35</sup> és számos más érzellemmel összefüggő folyamatokat <sup>36</sup>.

### A szeptom és a hippokampusz erős anatómiai és funkcionális kapcsolata

A memória folyamatokkal összefüggésben az egyik legfontosabb hippokampuszeptális pálya a hippokampusz gátló GABAerg sejtjeinek egy típusától ered, míg a szeptohippokampális pálya pedig több összetevőből áll így kolinerg, GABAerg és glutamaterg sejtek is vetítenek a szeptumból a hippokampuszba. Az emlős szepto-hippokampális rendszer egyik legjellemzőbb hálózati aktivitás mintázata az úgynevezett théta frekvencia sávban elhelyezkedő lassú hullámú oszcilláció, mely úgy tűnik a hippokampusz online aktív kódoló állapotát reprezentálja <sup>37-39</sup>. Ez a hálózati oszcilláció fontos szerepet játszott a szeptohippokampális rendszer működésének feltérképezésében. Számos kéreg alatti területről érkező pálya befolyásolja ennek a ritmusnak a kialakulását ideértve a mediális raphe régiót is, azonban továbbra is tisztázatlan, hogyan képes befolyásolni ezek a felszálló pályák a memória folyamatokat és azok honnan, hova és hogyan hordoznak érzelmi vagy motivációs információkat. Különösen nagy kihívás ezeknek a folyamatoknak a vizsgálata mivel (i) a kéreg alatti területől érkező felszálló pályák egy része még mindig ismeretlen. Például a szeptohippokampális vetítéssel bíró, 2-es típusú vezikuláris glutamát transzporter pozitív (vGluT2) glutamaterg sejtek alapvető szerepét csak nemrégiben fedezték fel <sup>40,41</sup>. Továbbá, ahogyan az épp saját munkáinkból is kitűnt, további pályák szintén felfedezésre vártak és bizonyára továbbiak is várnak még. Továbbá (ii) néhány felszállópálya esetében még a jelátvivő anyag tartalom természete is tisztázatlan (például nemrégiben tisztázódott hogy a medián raphéból érkező felszálló pálya távolról sem csak szerotonerg <sup>42,43</sup>. Valamint (iii) a legtöbb tanulmány még mindig a jobban karakterizált és könnyebben vizsgálható agyterületekre fókuszál és elkerülte azokat a szepto-hippokampális rendszert beidegző nehezen jelölhető és manipulálható magokat, melyek megértése pedig fontos volna a rendszer működésének megértéséhez.

### A mediális raphe régió

A mediális raphe régió (MRR) alapvető szerepe van mind az agykérgi mind pedig az agykéreg alatti hálózatok aktiválásának szabályozásában <sup>44,45</sup>. A MRR-nak fontos szerep jut a félelmi viselkedés és az ehhez társuló bizonyos szorongásos rendellenességekben. Bizonyos funkcionális rendellenességei akár skizofréniát vagy depressziót kiválthatnak <sup>46-52</sup>. A MRR-t alapvetően egy szerotonerg magcsoportnak gondolták és a tudományos köztudatban még mindig ez az elképzelés uralkodik. Pedig régóta ismert, hogy bőséggel található itt serkentő glutamaterg transzmisszióra képes a vezikuláris glutamát transzporter 3-as típusát (vGluT3) tartalmazó, valamint GABAerg azaz GABA (gamma-aminobutyric acid) transzmittert felszabadító sejtek is <sup>53-56</sup>. A szerotonerg és a vGluT3 pozitív glutamaterg sejtek is sűrűn beidegzik az előagy területet <sup>43,45,57</sup>, képesek

a hippocampális aktivitás de-szinkronizálására és gátolják a szeptális idegsejtek ritmikus aktivitását, elnyomhatják a hippocampális éles hullám aktivitást és meggátolhatják a memória nyomok konszolidálódását, hálózati beépülését <sup>42,58,59</sup>. Korábban sikerült azonosítanunk, hogy a vGluT3 pozitív glutamaterg sejtek képesek a szepto-hippocampális hálózat erős, gyors és pontos serkentésére <sup>42,43</sup>. Meglepő módon azonban bármilyen sok információ gyűlt is össze az évek során a MRR működéséről és hatásáról, mégis ismeretlen volt annak pontos sejtösszetétele, azaz nem volt ismert, hogy hányféle sejt típus milyen ingerületátvivő anyagot használ a MRR-ban.

### A nucleus incertus

A MRR GABAerg sejtjeinek vizsgálata közben észrevettük, hogy a MRR caudo-dorsalis határa mentén elhelyezkedő és nucleus incertus (NI) sejtjei jelentősen beidegzik a szepto-hippocampális rendszert. A NI-t korábban csupán egy peptiderg modulátoros magnak gondolták az itt található relaxin-3 peptid kifejeződése miatt. Összességében viszonylag kevés tudományos értekezés született a NI-szal kapcsolatban. Tudni lehetett, hogy legalább három különböző típusú sejt található itt: glutamaterg sejtek, valamint relaxin-3 neuropeptide- pozitív és negatív GABAergic sejtek <sup>60-63</sup>. Bár a szakirodalomban található első eredmények azt sugallták, hogy a NI-nak fontos szerepe lehet a limbikus rendszer működésében, mégis célsejt szelektivitását és működését alig vizsgálták korábban. Meglepő módon az is kiderült, hogy a nucleus pontis oralis (nPO) limbikus rendszerre gyakorolt alapvető befolyását is a NI közvetíti, mivel a NI gátlása megszüntette az nPO serkentése által kiváltott hippocampális theta ritmus aktivitást. A relaxinerg NI rostok erősen vetítenek a limbikus területekre, mellyel a szeptális ritmusok és a hippocampusz függő tanulás és memóriát képes befolyásolni <sup>60-64</sup>. Ennek megfelelően nem is meglepő, hogy fiziológiai adatok tanúsága szerint néhány NI sejt a hippocampális aktivitással fázis-kapcsoltan tüzel, miközben a relaxinerg jelátvitel mediális szeptumban történt gátlása, gátolja a térbeli munkamemória működését <sup>65,66</sup>. Bár patkányban ismert volt, hogy néhány szeptális sejt rostokat küldd vissza a NI területére <sup>67</sup>, mégis a NI efferens és afferens vetítési mintázata, cél-szelektivitása és különböző sejtjeinek viselkedésre gyakorolt hatása még mindig szinte teljesen ismeretlen volt.

## Az acetilkolin-GABA kotranszmissziója és szerepe a memória szabályozásában

### A tématerülethez tartozó publikációk

V. T. Takács, T. F. Freund, G. Nyiri: Neuroligin 2 Is Expressed in Synapses Established by Cholinergic Cells in the Mouse Brain. *PLoS One*. 8 (2013).

V. T. Takács, C. Cserép, D. Schlingloff, B. Pósfai, A. Szőnyi, K. E. Sos, Z. Környei, Á. Dénes, A. I. Gulyás, T. F. Freund, G. Nyiri: Co-transmission of acetylcholine and GABA regulates hippocampal states. *Nature Communications*. 9 (2018)

### Bevezetés

A hippokampusz sűrű beidegzést kap a bazális előagy szeptális területeiről eredő kolinerg sejtektől <sup>68</sup> és így ez központi szerepet játszik a szepto-hippokampális rendszer legtöbb bevezetőben említett funkciójában. A bazális előagyból felszálló kolinerg rendszer <sup>69,70</sup> alapvető szerepet játszik az agykérgi funkciók szabályozásában mint például a figyelem <sup>71</sup>, a tanulás és memória <sup>72</sup>, a szinaptikus plaszticitás <sup>73</sup>, az alvás ébrenléti ciklusok szabályozása <sup>74</sup>, és szerepe szintén jelentős bizonyos neurodegeneratív megbetegedésekben <sup>75</sup>.

Bazális előagy kolinerg rendszerének korábbi modellje, a kolinerg rendszert célzó kezelések kifejlesztését célzó erőfeszítések és a kolinerg rendszer memóriafolyamatokban betöltött szerepe mind azon a feltételezésen alapultak, hogy a kolinerg rendszer sejtei kizárólag egyetlen jelátvivő anyagot az acetilkolint szabadítják fel, főként nem-szinaptikus úgynevezett térfogati transzmisszióval <sup>76-81</sup>. A kolinerg rostok által látszólag csak nagyon ritkán létesített szinapszisok is ezt a nem-szinaptikus jelátvitel koncepciót támogatták <sup>82,83</sup>, mely szerint a szinaptikus vezikulákba csomagolt jelátvivő anyag azaz neurotranszmitter, az axon terminálisokból bármely irányban kiürülhet, majd az így ürült anyag az extracelluláris térben diffundálva jut el majdani szinapszisokon kívüli azaz extra-szinaptikus receptoraihoz melyeken keresztül végül hat majd a célsejtekre. Azonban olyan irodalmi adatok is születtek melyek a kolinerg jelátvitel rendkívül precíz időzítéséről szóltak büntetés és jutalmazás során <sup>84</sup>, valamint több tanulmány az acetilkolin pontosan időzített ürülését támasztotta alá <sup>78,85,86</sup>. Továbbá az, hogy a hippokampális szinaptikus plaszticitás függ a kolinerg hatás milliszekundumos pontosságú időzítésétől <sup>87</sup> szintén megdönteni látszott azt a tankönyvi adatot miszerint a kolinerg rendszer nem szinaptikusan jelátvitel segítségével működik, hisz az extra-szinaptikus felszabadulás és traszmitter diffúzió erre nem volna képes.

A bazális előagyi kolinerg sejtek alapvetően meghatározzák a hippokampusz ritmikus hálózati aktivitását <sup>88,89</sup>, és a kolinerg rostok képesek gátolni a éles hullám (SWR) aktivitás kialakulását <sup>90</sup>, ami a memória nyomok raktározását jelző egyik legjellemzőbb hálózati

tevékenység. Ha a kolinerg rostok ilyen jelentős mértékben befolyásolhatják a memória rögzítését is, különösen fontos ismerni, hogy ezt valóban nem-szinaptikus jelátvitellel és valóban csak acetilkolin segítségével teszik-e.

## Eredményeink

E tématerület vizsgálata során bizonyítottuk, hogy

- A bazális előagyból eredő kolinerg szinapszisok neuroligin 2 jelátvivő fehérjét és gephyrin horgonyzó fehérjét tartalmaznak, melyekkel azonosítani lehet a kolinerg szinapszisokat.

- Gyakorlatilag az összes hippocampális kolinerg terminális létrehoz egy vagy akár több szinapszist is. A hippocampus CA1-ben az NL2 és a gephyrin pozitív kolinerg szinapszisok elsősorban piramissejt dendrit törzseket és túske nyakakat céloznak, valamint néhány interneuron dendritet.

- A kolinerg sejtek szinapszisaik rendelkeznek a GABAerg jelátvitel molekuláival. Poszt-szinaptikusan tartalmaznak GABA<sub>A</sub> receptor gamma 2 alegységet. Pre-szinaptikus tartalmazzák a GABAerg és kolinerg jelátvitel elemeit pl. a GABA-t vezikulákba juttató vezikuláris GABA transzporter (vGAT) fehérjét, a GABA-szintetizáló enzimét, a glutamát-dekarboxiláz 65-öt (GAD65) és a GABA maga is kimutatható a kolinerg terminálisokban.

- A kolinerg sejtek összetett, GABAerg-kolinerg poszt-szinaptikus válaszokat váltanak ki. E válaszok gyorsasága is szinaptikus jelátvitelről tanúskodnak, mivel mindkét válasz nagyon rövid kezdő késleltetéssel rendelkezett (2,8 és 7,4 ms).

- Az acetilkolin és GABA tartalmú vezikulák is csak szinapszisokból ürülnek. Háromdimenziós rekonstrukciókból szabad szemmel és statisztikai módszerekkel is látható volt, hogy a szinaptikus vezikulák kifejezetten az aktív zónák közelében csoportosulnak. Nem találtunk dokkolt vagy fúzionált (exocitotikus fúzió áteső) vezikulákat szinapszisokon kívül, csak szinapszisokban. Ezek az eredmények cáfolták az acetilkolin nem-szinaptikus felszabadulását.

- Az acetilkolin és GABA tartalmú vezikulák ugyanabban a vezikula csoportban vannak. Az acetilkolin tartalmú vezikulák is a kolinerg rostok GABAerg szinapszisaiban koncentráálódtak, továbbá a kolinerg és GABAerg szinaptikus vezikulák keverednek.

- Kölcsönös auto-receptor moduláció szabályozza az acetilkolin és a GABA ürülését. Mind a GABA<sub>B</sub> receptorok, mind az M2-típusú acetilkolin receptorok (AChR) blokkolásával mindkét poszt-szinaptikus potenciál növekedett, azaz mind a GABAerg IPSP-k, mind a kolinerg EPSP-k amplitúdója szignifikánsan növekedett.

- Különböző Ca-csatornák befolyásolják az acetilkolin és a GABA szinaptikus ürülését. A P/Q típusú kalcium-csatornák szelektív blokkolása szignifikánsan csökkentette a GABAerg IPSP-eket, de nem okozott változást a kolinerg komponensekben. Ezzel szemben a kolinerg komponens erőteljesen csökkent az N-típusú kalcium-csatornák szelektív blokkolása után, míg a GABAerg IPSP-k nem mutattak szignifikáns változást.



- A kolinerg sejtekből felszabaduló GABA a hippokampusz működési állapotát is meghatározza. Az éles hullám (SWR) aktivitás kolinerg sejtek általi gátlása, valójában a szinapszisaikból felszabaduló GABA hatása. Mivel a SWR aktivitás éppen a memória nyomok raktározását mutató hálózati tevékenység, a kolinerg rostokból történő GABA-felszabadulás így képes a memórianyomok rögzítését közvetlenül befolyásolni.
- A kolinerg rostokból a GABA szinaptikus transzmissziója önmagában is hatékonyan képes szabályozni a hippokampusz epileptiform aktivitását, aminek nagy jelentősége lehet az epilepsziás megbetegedések jövőbeli géntechnológiai kezelésében.

### A kolinerg rostok GABAerg jelátvitelének jelentősége

A kolinerg rostok adják a hippokampusz egyik legsűrűbb és leghatékonyabb kéreg alól érkező pályarendszerét, ezért felfedezéseink alapvetően változtatják meg a hippokampális szabályozásról alkotott elképzeléseinket. Megállapítottuk, hogy az acetilkolin és a GABA az előagyi kolinerg sejtekből, a szinaptikus aktív zónában, külön vezikulákból, eltérő molekuláris szabályozás segítségével szabadul fel. Továbbá bizonyítottuk, hogy ez a GABA felszabadulás önmagában is hatékonyan képes befolyásolni a memóriafolyamatokban alapvető jelentőségű éles hullám aktivitást és önmagában is képes kordában tartani a hippokampusz esetleges epileptiform aktivitását.

A kolinerg kommunikáció domináns formájának évtizedekig a nem-szinaptikus felszabadulást tartották <sup>76-78,80,91</sup>. Eredményeink bizonyították, hogy mind a GABA, mind az acetilkolin szinaptikusan ürül és szinaptikusan vagy a szinapszisok körül azaz periszinaptikusan vannak gyors receptorai. Természetesen, önmagában a gyors szinaptikus válaszok nem zárják ki, hogy a felszabaduló transzmitterek további extra-szinaptikus receptorokon is hassanak. Így az általunk talált szinaptikus felszabadulás és a korábban elterjedt térfogati transzmisszió hipotézise közötti eltérés legvalószínűbb oka a szinapszisokból túlcorduló jelátvivő anyag azaz az u.n. spill-over jelensége, amely lehetővé teszi a transzmitterek számára további extraszinaptikus receptorok elérését is.

Az előagyi kolinerg sejtek kulcsszerepet játszanak a hippokampusz aktivitási állapotának átalakításában <sup>88</sup>. A magas kolinerg sejt aktivitás a theta oszcillációval és a külső információk gyors, mégis instabil tárolásával jár a hippokampuszban, míg az alacsony kolinerg aktivitást SWR aktivitás kíséri <sup>92</sup>, ami fontosnak tűnik az instabil memória nyomok konszolidációja és a memória nyomok nagyagykéregben való raktározása szempontjából <sup>93,94</sup>. A kolinerg moduláció klasszikus elméletei feltételezik, hogy a diffúz módon felszabaduló acetilkolin lassan áthangolná a kérgi hálózati aktivitást, különféle hálózati aktivitás mintázatok megjelenését téve ezzel lehetővé <sup>22,76,95</sup>. És valóban, egy nemrégiben végzett tanulmány kimutatta, hogy a mediális szeptum kolinerg sejtjei elnyomják az SWR aktivitást <sup>90</sup>. A szerzők azt gyanították, hogy ez a GABAergic interneuronok M2 kolinerg receptorokon keresztüli gátlása miatt lehet. Mi ugyan megerősítettük, hogy a kolinerg rostok aktiválása valóban elnyomja az SWR-eket, de megmutattuk, hogy az a kolinerg rostokból ürülő GABA miatt

valószínűleg meg. Ez a gátlás csökkentheti az egyidejűleg aktív piramisneuronok előfordulásának valószínűségét is, amely szükséges a SWR beindításához <sup>96</sup>.

A kolinerg rendszer degenerációja az Alzheimer-kór patológiájának tipikus jellemzője <sup>75</sup>, és ezeknek a betegeknek gyakran epilepsziás rohamaik is vannak <sup>97</sup>. És valóban, a szelektív kolinerg pálya szelektív irtása növeli a rohamok előfordulását a hippocampusban <sup>98–100</sup>, míg a REM-alvás pedig, amely fokozott kolinerg sejt aktivitással jár <sup>101</sup>, elnyomja az epilepsziás rohamokat <sup>102,103</sup>. Korábban azonban nem értették, hogy akkor miért tapasztalták, hogy számos kolinerg agonista, éppen hogy kiváltotta az epilepsziás rohamokat <sup>104</sup>. Ezért feltételezzük, hogy az előagyi kolinerg neuronok degenerációja elsősorban azért vezet epileptiform aktivitáshoz, mert az megfosztja a hippocampust egy jelentős GABAerg innervációtól is. Eredményeink valóban támogatták ezt az elképzelést, mivel a GABA felszabadulása az előagyi kolinerg rostokból önmagában elegendő volt az epileptiform aktivitás előfordulásának csökkentéséhez.

Eredményeink, amelyek egy szigorúan szabályozott, hatékony, szinaptikus GABA-jelátvitelt igazoltak a hippocampus kolinerg rostjaiból, a korábbi modellek újraértelmezését kívánják, és akár alternatív megközelítések alapjául szolgálhatnak az Alzheimer-kórt érintő kolinerg beidegzés elvesztésének kezelésére.

## A medián raphe szerepe a negatív élmények rögzítésében

### A tématerülethez tartozó publikációk

K. E. Sos, M. I. Mayer, C. Cserép, F. S. Takács, A. Szőnyi, T. F. Freund, G. Nyiri: Cellular architecture and transmitter phenotypes of neurons of the mouse median raphe region. *Brain Structure and Function*. 222, 287–299 (2017).

A. Szőnyi, K. Zichó, A. M. Barth, R. T. Gönczi, D. Schlingloff, B. Török, E. Sipos, A. Major, Z. Bardóczi, K. E. Sos, A. I. Gulyás, V. Varga, D. Zelena, T. F. Freund, G. Nyiri: Median raphe controls acquisition of negative experience in the mouse. *Science* (80). 366 (2019).

### Bevezetés

Az állatok életének egyik fő mozgatórugója a pozitív tapasztalatok átélése iránti késztetés (mint például a táplálkozás, a társas kapcsolatok vagy a szaporodás), illetve a negatív élmények (mint pl. az éhezés, a veszélyek vagy a sérülések) elkerülése. Az állatok és így az ember túléléséhez is elengedhetetlen, hogy gyorsan fel tudja mérni az ártalmas helyzeteket, képes legyen azonnal válaszolni rájuk, emlékezzen a kiváltó körülményekre, és hogy képes legyen a hasonló negatív élményeket előre látni <sup>105–110</sup>. Mind a pozitív élmények elérésére, mind pedig a negatívok elkerülésére számos agyterület összehangolt működésére van

szükség. A negatív élmények elkerülésében központi szerepe van a laterális habenula (LHb) és a mediális ventrális tegmentum (mVTA) területeinek abban, hogy kiértékeljék a már kialakult helyzetet és megjósolják a jövőben esetleg előforduló negatív élményeket. Továbbá központi szerepe van a szepto-hippokampális rendszernek is, amely segít rögzíteni és visszahívni a negatív eseményekkel kapcsolatos emlékeket.

Jelentőségük ellenére még mindig nem jól ismert, hogy ezen agyközpontok hogyan koordinálják egymás aktivitását a negatív élmények során. Mivel az LHb közvetlenül nem vetít a szepto-hippokampális rendszerbe, feltételezték, hogy ezek összehangolását az agytörzs medián raphe régiója (MRR) végzi<sup>59,111–117</sup>. Noha az MRR fontos szerepet játszik a hangulat, a félelem és a szorongás szabályozásában, a negatív tapasztalatok feldolgozásában betöltött szerepe továbbra is ismeretlen volt<sup>59,118,119</sup>. A MRR szerotonint (5HT) és/vagy 3-as típusú vezikuláris glutamát transzportert (vGluT3) kifejező vetítő idegsejteket tartalmaz. Ám a több évtizedes vizsgálta ellenére ismeretlen maradt, hogy az MRR idegsejtek hogyan tudják támogatni ezeket a funkciókat<sup>43,56,120</sup>. Bár a LHb, mVTA-ra, és a szeptális területek [a mediális szeptum (MS) és a Broca-féle diagonális köteg vertikális ága (VDB)] elengedhetetlenek a negatív élményekkel kapcsolatos viselkedések megértéséhez, mégis a koordinálásukban valamiképpen felelős kulcsfontosságú MRR neuronokat korábban nem sikerült azonosítani<sup>121,122</sup>.

## Eredményeink

E tématerület vizsgálata során bizonyítottuk, hogy

- A teljes MRR-ban a neuronok csak 2,1% -a volt szerotonin (5-HT), 7% volt VGLUT3, 3,6% pedig 5-HT és vGluT3 kettős pozitív; míg a neuronok 61%-a volt GABAerg. Azonban, az idegsejtek több mint 25%-a mind a 4 sejtpopuláció jelölő anyagára negatív volt, és csak a NeuN idegsejteket jelölő fehérjére volt pozitívak, majd vizsgáltuk vGluT2 tartalmukat.
- A vGluT2-pozitív sejtek adják a MRR legjelentősebb vetítését. Sztereológiai vizsgálatokkal kimutattuk, hogy a MRR neuronok legalább 20%-a vGluT2-pozitív. Ez a sejtcsoport különálló, az itt korábban leírt egyéb idegsejt típusoktól különböző sejtpopulációt alkot.
- Az MRR vGluT2-neuronok a negatív élményeket feldolgozó agyterületeket idegzik be. A vGluT2-neuronok erősen beidegzik a negatív élmények feldolgozásáért felelős LHb és mVTA sejteit, ugyanakkor elkerülik a pozitív élményekkel kapcsolatos laterális VTA dopaminerg sejteit.
- A vGluT2-pozitív MRR sejtek éppen azokat a mVTA dopaminerg idegsejteket célozzák, amelyek a mPFC-be vetítenek megerősítve a feltételezést, hogy a vGluT2 sejtek feladata a negatív élményekkel és azok előrejelzésével kapcsolatos.
- Közvetlen reciprok kapcsolat van az LHb-ba vetítő vGluT2-pozitív MRR idegsejtek és az MRR-ba vetítő vGluT2-pozitív LHb neuronok között. Ez a MRR és az LHb vGluT2-neuronjai közötti pozitív visszacsatolás fontos szerepet játszhat a negatív élményekre adott azonnali válaszban,

hiszen ezek nem csak egymást idegzik be, hanem mindkét sejtpopuláció a negatív élményeket kódoló mVTA-t is célozza.

- Azok az agyterületek, amelyek alapvető szerepet játszanak a negatív tapasztalattal összefüggő viselkedésben, erősen konvergálnak a vGluT2-pozitív MRR sejtekre.

- A MRR vGluT2-idegsejtek elősegítik az Lhb sejtek depresszióval-összefüggő aktivitását. Az MRR vGluT2-idegsejtek NMDA-receptort tartalmazó serkentő glutamaterg szinapszisokat hoznak létre az Lhb-idegsejteken, melyek az Lhb sejtek „burst”-aktivitását is kiváltották.

- Az ártalmas ingerek szelektíven aktiválják a MRR vGluT2-idegsejteket. Miközben az állatok számára erősen zavaró lég-befújás hatására az azonosított vGluT2-pozitív MRR idegsejtek nagy része erősen aktiválódott, addig a jutalom nem befolyásolta azok működését. Az enyhén zavaró LED fények villogása pedig csupán enyhe átmeneti aktivitást váltott ki a vGluT2-pozitív MRR neuronok egy kis alcsoportjában.

- Az MRR vGluT2-neuronok direkt aktiválása erősen negatív élményt okoz. A egerek azonnal megpróbálták elkerülni a helyet, ahol stimuláltuk a MRR vGluT2-neuronokat, majd erős kondicionált félelmet is mutattak.

- A MRR vGluT2-neuronok aktivitása nem csupán kevésbé kívánatos, hanem mindenáron elkerülendő az állat számára, még akkor is, ha ez meggátolja hogy az állat alap ösztöne szerint ételhez juthasson.

- Az MRR vGluT2-neuronok aktiválása agressziót vált ki. Míg a kontroll egerek többnyire barátságosan szociális interakciót keresve viselkedtek idegen fajtárs vagy kisebb betolakodó egér mellett, a MRR vGluT2-neuronok aktiválása agressziót váltott ki mindkét esetben.

- Az MRR vGluT2-neuronok krónikus aktiválása az állatokban relatív érdektelenséget vált ki a kellemesebb cukoroldat iránt, ami a depresszió klasszikus tünetének tekintett anhedónia egyik tipikus jellemzője.

- Az MRR vGluT2-neuronok krónikus aktiválása után az egerek mellékveséinek tömege a post-mortem vizsgálat során is szignifikánsan magasabb volt, ami igazolta ezen állatok megemelkedett stressz szintjét.

- Az MRR vGluT2 idegsejtek aktiválják a memória rögzítését segítő MS/VDB idegsejteket. Az MRR vGluT2 idegsejtek szelektíven hoztak létre serkentő szinapszisokat a hippocampusba vetítő, ritmuskeltő, parvalbumin (PV) pozitív GABAerg sejteken az MS/VDB-ben.

- A vGluT2-pozitív MRR idegsejtek többsége mind az MS/VDB, mind a Lhb agyterületre vetít különböző axon ágakkal.

- A MRR vGluT2-neuronok fény-aktiválása az emlékek kialakulását elősegítő theta oszcillációkat váltott ki a hippocampusban.

- A MRR vGluT2-neuronok szükségesek a félelmi memória rögzítéséhez. Kísérleti állatainkban egy ijesztő inger során a MRR vGluT2-neuronokat gátolva azt találtuk, hogy az egerek a gátlás

miatt szinte semmilyen félelmi viselkedést nem mutattak. Sem kontextuális, sem pedig kulcsingerhez kötött félelem emléke nem alakult ki.

### A MRR vGluT2 neuronok jelentőségének összefoglalása

Az állatoknak gyorsan fel kell mérniük a rájuk leselkedő veszélyeket, el kell dönteniük, hogy harcolniuk vagy menekülniük érdemes. Ezzel párhuzamosan hatékonyan fel kell fogniuk és meg kell tanulniuk, hogy mi vezetett a veszélyes helyzethez, hogy a jövőben azt elkerülhessék. Az Lhb és az mVTA aktiválódnak a negatív tapasztalatok megszerzése során<sup>111,123–125</sup>, amely elindítja a negatív élmények kódolását ezekben a magokban<sup>109,126</sup>. Az mVTA dopaminerg neuronjainak aktiválása szintén negatív élményeket kódol<sup>124,127</sup>, míg a lateral VTA neuronok aktivitása a pozitív megerősítésben játszik szerepet. Az Lhb szinte kizárólag glutamaterg neuronokat tartalmaz, amelyek negatív élményt kódolnak és aktiválják az mVTA fent említett dopaminerg (DA) sejtjeit<sup>124,125,128,129</sup>. Az Lhb aktivitás közvetett módon gátolja a pozitív megerősítés kódolását is a laterális VTA-ban<sup>124,130</sup>. Ezek a folyamatok fogják finomhangolni a jövőbeli eseményekre adható stratégiákat<sup>109,126,131–134</sup>, és a Lhb és mVTA aktivitása megjósolhatóvá teszi a negatív élmények előfordulását<sup>107,127,135–139</sup>. Mindehhez azonban az MS/VDB-hippocampális rendszert szintén a memória nyomok rögzítéséhez optimális állapotba kell kapcsolni, ami az emlékek alapján segíti a negatív élmények későbbi előrejelzését<sup>112,117</sup>. Ugyanakkor, korábban nem volt ismert, hogy mely idegi kapcsolatok teszik lehetővé e rendszerek összehangolt aktiválását. Noha az MRR-ről ismert volt, hogy központi szerepet játszik a negatív tapasztalatok feldolgozásában<sup>59,118</sup>, ismert sejtípusai nem vetítettek a Lhb-ba, és az MRR-idegsejtek közel 25% -ának transzmitter fenotípusa és célsejtjei még szintén ismeretlenek voltak<sup>140</sup>.

Felfedeztünk a MRR-ban egy korábban fel nem ismert vGluT2-pozitív idegsejt populációt, ami erősen beidegzi az Lhb, mVTA és MS/VDB területeket. Ezek adják a MRR-ból vetítő neuronok legnagyobb populációját, glutamatergek és különálló sejtpopulációt alkotnak a MRR-ban. Számos környezeti tapasztalatszerzéssel kapcsolatos agyi központból kapnak monoszintaptikus bemeneteket<sup>111,123,141</sup>. Az MRR vGluT2-idegsejtek túlnyomórészt az Lhb mediális („limbikus”) részét idegzik be, amely épp a MRR-ba és mVTA-ba vetít, de kerülnek az Lhb laterális („pallidális”) részét, amely más jellegű információkat dolgoz fel<sup>129,137,142,143</sup>. Az MRR vGluT2-neuronok közvetlenül beidegzik az MRR-ba és mVTA-be vetítő Lhb-sejtjeiket, közvetlen visszacsatolást hozva ezzel létre MRR-Lhb-mVTA tengelyen.

In vivo méréseink megerősítették az MRR vGluT2-neuronok központi és specifikus szerepét a negatív tapasztalatok kialakulásában. Az MRR vGluT2-idegsejtjeiket erősen és specifikusan aktiválták az erős ártalmasnak vélt stimulusok, enyhén aktiválták a kevésbé zavaró stimulusok, míg a jutalmazó stimulusok nem befolyásolták aktivitásukat. Ez arra utal, hogy ezek az idegsejtek elsősorban a negatív tapasztalatok közvetítéséért felelősek. És valóban, ezen idegsejteknek épp a káros ingerek megélése pillanatában történő optogenetikai gátlása kiküszöbölte vagy jelentősen csökkentette a hippocampusz-függő kontextuális

memórianyomok, és a hippokampusz-független kulcsingerhez kötött félelmi emlékek kialakulását. Tehát a MRR vGluT2-neuronok populációja egy olyan neuronhálózati központ amely elengedhetetlen a negatív tapasztalatok megfelelő feldolgozásához.

Az már korábban is ismert volt, hogy az LHb vagy a mVTA stimulálása hasonló hatásokkal jár <sup>124,132,144,145</sup>, az MRR vGluT2 idegsejtek pedig mindkettőt erősen beidegzik, így nem volt meglepő, hogy optogenetikai aktiválásuk azonnali elkerülő, menekülő magatartást váltott ki, és az állat a rossz élmény kontextusát meg is jegyezte mivel másnap fényaktiválás nélkül is elkerülte az adott kontextust. További eredményeink is alátámasztották, hogy a MRR vGluT2 neuronok a negatív tapasztalatok aktív elkerülésében vesznek részt, azaz menekülést vagy agressziót váltanak ki.

Ismert, hogy a depresszió egy krónikusan fennálló negatív tapasztalatokon alapuló tanulási mechanizmus eredménye <sup>146,147</sup>. A LHb neuronok előre válaszolnak a negatív eseményeket megelőző jelzésekre <sup>136,148–150</sup>, így az állat negatív élménye a valódi negatív impulzusok nélkül is kialakulhat. Nem véletlen tehát, hogy a LHb krónikus serkentése depressziót okozhat a LHb idegsejtek burst-aktivitásának elősegítésével, amelyet a szomszédos gliasejtek is szabályoznak <sup>136,149–153</sup>. Az MRR vGluT2 neuronok az LHb-sejtjeit erősen beidegzik NMDA-receptor-tartalmú serkentő szinapszissokkal, amelyeket LHb glia sejtjei vesznek körül. Ezek a MRR vGluT2 neuronok kiváltják LHb sejtek burst-aktivitását is. Ráadásul, serkentő visszacsatolás van az LHb és az MRR vGluT2-pozitív glutamáterg idegsejtjei között, ami támogathatja a szorongással és depresszióval összefüggő patológiás tanulást és így a LHb idegsejtek túlzott aktiválását, amennyiben a visszacsatolást nem sikerül hatékonyan szabályozni. És valóban, az általunk kemogenetikai módszerekkel krónikusan aktivált vGluT2-pozitív MRR idegsejtek anhedóniát okoztak a cukor-preferencia tesztben, ami a depresszió egyik tipikus tünete.

Az agresszió az egerekben és az emberekben is egyaránt ismert tünete a depresszióknak <sup>154–156</sup> és ismert, hogy a LHb, valamint a MS/VDB szerepet játszik az agresszív viselkedés érzelmi feldolgozásában <sup>157</sup>. És valóban, az általunk kemogenetikai módszerekkel krónikusan aktivált MRR vGluT2-neuronok szintén elősegítették az agresszív viselkedést. Az agressziót általában összekapcsolják az agitációval, amelynek jellemzői a nyugtalanság, és erősebb motoros tevékenységek. És valóban, az általunk kemogenetikai módszerekkel krónikusan aktivált MRR vGluT2 neuronok szintén elősegítették a megnövekedett mozgási aktivitást. Mindez együttesen azt sugallja, hogy a vGluT2-pozitív MRR idegsejtek aktiválása elősegíti az agitációt és az aktív agresszív viselkedést.

Az MRR komplex hatással van az MS/VDB-hippokampális rendszer aktivitására és a kontextuális félelem-emlékek kialakulására, bár ennek mechanizmusát korábban kevésbé értették <sup>113,115</sup>. A ritmus vezérlő PV-pozitív MS/VDB neuronok aktiválása elengedhetetlen a hippokampusz théta ritmusának kialakításához és a megfelelő epizodikus memória kialakulásához <sup>158–160</sup>. A PV-pozitív MS/VDB idegsejteteket az MRR glutamáterg sejtjei erősen beidegzik <sup>42,56,161</sup>, de ezeknek a neuronoknak a identitása ismeretlen volt. Mi bemutattuk, hogy az MRR vGluT2 neuronok nem csak az LHb/mVTA tengely beidegzését végzik, hanem

serkentő axonjaik nagy része elágazik és egyidejűleg beidegzi a PV-pozitív idegsejteket is a MS/VDB-ben. Eredményeink azt is mutatták, hogy a MRR vGluT2-neuronok azonnal és megbízhatóan elősegítik a memória rögzítéséhez szükséges hippocampális theta ritmus kialakulását és az állatok a stimulációt követő napon erős emlékeiket demonstrálva kerültek el az előző napi stimuláció helyszínét.

Eredményeink tehát igazolták, hogy a MRR vGluT2-pozitív neuron populációja egy az agy korábban fel nem ismert fontos központja, amely szükséges és elégséges is a negatív tapasztalatok megszerzéséhez. Az MRR vGluT2-idegsejtek az érzékszervi tapasztalatokkal kapcsolatos agyi területekről származó beidegzést kapnak, gátlásuk megzavarja a negatív emlékek kialakulását, aktivációja elősegíti az agított viselkedést és károsnak tartott kontextus azonnali elkerülését idézi elő, még akkor is ha az állat egyébként rendkívül pozitív motivált állapotban volt éppen. Ha az elkerülés nem lehetséges pl. egy társas interakció során, akkor a sejtek aktiválása harcot és agressziót vált ki. A MRR vGluT2-pozitív sejtek aktiválása elősegíti a negatív tapasztalatokkal kapcsolatos hosszú távú memória kialakulását is, krónikus aktiválása depresszió-szerű viselkedést eredményez, valószínűleg az LHb idegsejtek hosszú távú burst-aktivitásának indukálásával<sup>149,153</sup>, amit in vitro kísérleteinkben mi is kimutattunk.

Tehát a vGluT2-pozitív MRR idegsejtek azáltal szabályozzák a negatív tapasztalatok megszerzését, hogy egyidejűleg aktiválják mind az agy negatív élményfeldolgozó központjait, mind szepto-hippocampális rendszert az epizodikus memória nyomok kódolásának beindításához. A negatív tapasztalatok feldolgozása során bekövetkező hibás alkalmazkodási mechanizmusok számos hangulati rendellenesség alapját képezik, amelyek óriási társadalmi és gazdasági hatással vannak mind az egyénekre, mind a társadalomra, így e neuronális központ szelektív célzása új terápiás megoldások alapját képezheti.

## A nucleus incertus szerepe a kontextuális emlékek rögzítésében

### A tématerülethez tartozó publikáció

A. Szőnyi, K. E. Sos, R. Nyilas, D. Schlingloff, A. Domonkos, V. T. Takács, B. Pósfai, P. Hegedüs, J. B. Priestley, A. L. Gundlach, A. I. Gulyás, V. Varga, A. Losonczy, T. F. Freund, G. Nyiri: Brainstem nucleus incertus controls contextual memory formation. *Science*. 364 (2019)

### Bevezetés

A félelmi emlékek, melyek lehetővé teszik, hogy az állatok elkerüljék a számukra ártalmas helyzeteket, az ártalmas ingerek (feltétel nélküli inger) és az adott helyzet körülményeinek (a kontextus) társításával jön létre. Ezeket másként kontextuális memóriának is nevezzük. A dorzális hippocampusz alapvető szerepet játszik a kontextuális memória kódolásában, melynek CA1 piramissejtjei felelősek azért, hogy az emléknymok kódolása

után azok nagygykéregbe juthassanak hosszú távú tárolás céljából <sup>162–164</sup>. A CA1 piramis sejtek az érzékszervi kontextuális információk egy egységes reprezentációját kapják proximális dendritjeiken, melyek a CA3 piramis sejtjeitől érkezők <sup>165</sup>, míg az ártalmas inger sajátos tulajdonságai a CA1 piramis sejtek disztális dendritjeire érkezők közvetlenül az entorhinális kéregből <sup>166–168</sup>. Sejt-szinten ezek a jelek asszociálódhatnak, azaz dendritikus kölcsönhatásaik hosszú távú szinaptikus plaszticitást eredményezhetnek a CA1 piramis sejtekben <sup>169–171</sup>. A CA1 piramis sejtek néhány százaléka így u.n. memória engramot képezhet a kontextuális emlékek kódolására <sup>172</sup>. A pontos epizodikus memória kialakulásához mind az érintetlen kontextuális információfeldolgozás, mind a közvetlen érzékszervi információkhoz kapcsolódó bemenetek szükségesek <sup>173–175</sup>.

Az adott memória engram komponens kialakításában részt vevő piramis sejtek számának finoman kiegyensúlyozottnak kell lennie <sup>176</sup>. A piramis sejtek többségét gátolni kell, vagyis ki kell zárni a memória kódolásából a memória kialakulásának pillanatában, mert ha az ártalmas inger (azaz a feltétel nélküli inger) sajátos tulajdonságai túl sok piramis sejtben asszociálnának a kontextussal, akkor az engram nem lenne elég specifikus, és így az emléknem nem lenne felidézhető <sup>177,178</sup>. A feltétel nélküli inger kizárása a hippokampusz CA1-ben szomatosztatint (SOM) kifejező u.n. oriens-lacunosum moleculare (OLM) gátló interneuronok révén érhető el <sup>177</sup>. A OLM sejtek adják messze a legszerteágazóbb, legkiterjedtebb SOM-pozitív gátlósejt általi beidegzést a hippokampuszban <sup>177,179</sup>. Az OLM sejtek szelektíven gátolják a piramis sejtek disztális dendritjeit, amelyek az entorhinális kéregből érkező feltétel nélküli közvetlen érző bemenetet is kapják <sup>41,180–182</sup>. És valóban, a dorzális CA1 SOM-pozitív neuronjainak ártalmas inger során történő mesterséges gátlása jelentősen megzavarja a félelmi tanulást <sup>177,178</sup>. Ismert az is, hogy az OLM-sejtek aktivitását, az erősen figyelemfelkeltő pl. ártalmas ingerek, a bazális előagyi MS/VDB sejtjeinek aktivitásán keresztül fokozzák. Az itt található kolinerg sejtek megbízhatóan és azonnal aktiválódnak fontos környezeti ingerek hatására <sup>84,177</sup> és erősen beidegzik a hippokampusz OLM-sejteket <sup>164,177,182</sup>, míg az MS glutamaterg neuronjai az állat fontos ingerekre válaszul indított mozgásával korreláló aktivitás növekedést mutatnak, és szintén beidegzik a hippokampusz OLM sejtjeit <sup>41,183</sup>.

Azonban, ha a bazális előagyi MS/VDB sejtjei túl sok a OLM sejtet aktiválnak és így azok túl sok piramis sejtet gátolnak, akkor túl kevés piramis sejt fog részt venni az engramok általi memórianyom kódolásában, ami pontatlan emlékhöz, félelmi memória esetén generalizált félelemhez vezethet, mivel a félelem tárgyát nem sikerül pontosan rögzíteni <sup>184</sup>. Így a hippokampális engramok megfelelő egyensúlyához az OLM-sejtek aktiválását megfelelően szabályozni kell. Az OLM idegsejtek gátló szabályozása ideális esetben egy hippokampuszon kívüli kéreg alatti területéről kell származzon, amely már részben integrálta és feldolgozta a vonatkozó környezeti információkat, ám az OLM idegsejtekre érkező ilyen specifikus gátlás korábban nem volt ismert.



## Eredményeink

E tématerület vizsgálata során bizonyítottuk, hogy

- A nucleus incertus (NI) GABAerg neuronok szelektíven gátolják a hippocampusz SOM-pozitív interneuronjait. Kimutattuk, hogy a NI GABAergic neuronok nem használnak glutamátot, glicint, acetilkolint, szerotonint vagy más monoaminokat jelátvivő anyagként.
- A NI rostok elsődleges célpontja a hippocampuszban a dendriteket célzó SOM-pozitív interneuronok, melyek lokális hatása elsősorban az OLM sejtektől származik <sup>177,179,185</sup>.
- A NI rostok hippocampális szinapszisai szimmetrikusak, poszt-szinaptikusan tartalmaznak GABA<sub>A</sub> receptor  $\gamma 2$  alegységeket és a GABAerg szinapszis specifikus gephyrin állványfehérjét.
- A NI GABAerg rostjai gabazin (GABA antagonist)-érzékeny gátló poszt-szinaptikus válaszokat (IPSC-k) adnak, igazolva ezzel a GABA<sub>A</sub> receptor függő GABAerg jelátvitelt ezekben a szinapszisokban.
- Az NI GABAerg neuronok gátolják az OLM sejteket serkentő MS neuronokat is. A relaxin-3 pozitív NI GABAerg rostok erősen beidegzik az MS sejtjeit is, rajtuk is GABA<sub>A</sub> receptor  $\gamma 2$  alegység és gephyrin pozitív szimmetrikus szinapszisokat hoztak létre.
- A NI relaxin-3 pozitív terminálisai gyakran adnak gephyrin pozitív szinapszisokat közvetlenül a MS glutamaterg és a kolinerg sejtjeire, ezzel potenciálisan gátolva a OLM sejtek hippocampuszon kívüli fő serkentő sejtjeit.
- A hippocampuszt célzó egyes NI GABAerg neuronok jelentős része axon-kollaterálisokat küld a MS-ba is, biztosítva ezzel, hogy a NI GABAerg sejtek szinkron módon gátolhassák közvetlenül a hippocampális OLM sejteket és közvetetten azok serkentésének forrását a MS-ben.
- A NI GABAerg rostjai fontos környezeti ingerek hatására azonnal aktiválódnak. Az egerek különböző ingereket kaptak (zavaró levegő befújást, víz jutalmat, hangjeleket és fény felvillanásokat) véletlenszerűen, melyek mindegyikére egyértelmű aktivitás növekedést figyeltünk meg a NI GABAerg neuronok hippocampusz rostjaiban, és emellett láttuk, hogy az intenzívebb ingerek, mint például a zavaró levegő befújást vagy a víz jutalmazás, különösen erősen befolyásolták mind a NI GABAerg sejtek aktivitásának erősségét, mind pedig a hippocampuszban aktiválódott terminálisaik arányát.
- Az NI GABAerg sejtjei számos viselkedéssel és döntéshozattal összefüggő agyterületről kapnak jeleket. Ezen agyterületek alapvető szerepet játszanak a mozgásban, az értalmas vagy jutalmazó ingerek feldolgozásában és a memória kódolásában.
- Az NI GABAerg sejtek képesek szabályozni a hippocampusz hálózati aktivitását. A NI GABAerg neuronok stimulálása csökkentette és átrendezte a hippocampusz theta aktivitását. A hatás a magas theta tartományban (8-12 Hz) erősebb, az alacsony theta tartományban (5-8 Hz) gyengébb volt.
- Az NI GABAerg neuronok pontosan időzített serkentése gátolja félelmi memória kialakulását. Kondicionált félelmi kísérletek során, az ijesztő ingerlésre a kontrol egerek a várt erőteljes

félelmi viselkedést mutatták, míg a NI GABAerg neuronok pontosan időzített serkentése után az egerek szinte semmilyen félelmet nem mutattak. Ezek az eredmények rámutattak arra, hogy a kontextuális félelmi memória kialakulása blokkolható, ha az NI GABAergic neuronokat pontosan félelem pillanatában aktiváljuk.

- Az NI GABAerg neuronok pontatlan serkentése nem befolyásolja a félelmi memóriát. A NI GABAergic neuronok aktiválásának pontos időzítése nélkülözhetetlen annak megfelelő működéséhez, azaz a NI GABAerg rostok hatása pillanatszerű gátló hatásukon alapul és nem a hálózati ritmusok általános megzavarásán vagy egyéb lassú jelátvitel hatásán.

- Az NI GABAerg neuronok pontosan időzített gátlása erősebb félelmi emléket alakít ki.

### Az NI GABAerg neuronok szerepének összefoglalása

Az epizodikus emlékek kódolása elengedhetetlen az állatok túléléséhez. A hippocampusz dorzális CA1 régiójának piramiseltjei kulcsszerepet játszanak ebben a folyamatban <sup>162,184,186</sup> azáltal, hogy a több érzékszervtől érkező kontextuális információkat összepárosítják a feltétlen inger közvetlen egyedi érzékszervi élményével, ami a sejtek szintjén hosszú távú szinaptikus plaszticitás révén valósul meg <sup>169,171,176</sup>. Ha azonban túl sok piramiselt kap ugyanolyan közvetlen érzékszervi információt, akkor az általuk létrehozott memórianyom kódja nem lesz elég specifikus és az emlék elveszik <sup>177</sup>. Ezért a piramiselteknek csak egy alpopulációja vesz részt az egyes memória nyomok létrehozásában. Az emlékek lenyomatát így u.n. memória engramok azaz összehangolódott piramiseltjek őrzik <sup>172,176</sup>. Ehhez azonban az entorhinális kéregből a piramiseltjek disztális dendritjeire érkező közvetlen érzékszervi feltétlen ingereket el kell zárni a legtöbb piramiselttől <sup>177</sup>.

A hippocampális SOM-pozitív OLM neuronok szelektíven gátolják a piramiseltjek disztális dendritjeit, hogy kiszűrjék az entorhinális kéregből érkező közvetlen érzékszervi feltétlen ingereket <sup>41,164,177</sup>. Az OLM sejteket, a fontos környezeti ingerek hatására, a MS glutamaterg és kolinerg sejtjei aktiválják <sup>41,164,177,180-182</sup>, így a disztális dendriteket célzó OLM sejtek hatékonyan blokkolhatják a legtöbb piramiselt közvetlen érzékszervi bemeneteit a memória formálódás pillanatában. Ez teszi lehetővé, hogy a piramiselteknek valóban csak egy alpopulációja tud asszociációt végezni és ezek fognak engramokat képezni.

Ezen piramiseltjek kiválasztásának azonban pontosan kiegyensúlyozottnak kell lennie, ugyanis ha az OLM sejtek minden piramiselt disztális dendritjét gátolnák akkor nem maradna engram alkotásra alkalmas piramiselt. Ezért feltételeztük, hogy az OLM interneuronokat szintén időben pontosan kell tudni gátolni, célszerűen kéreg alatti információk alapján <sup>178,184,186</sup>. Felfedeztük, hogy a NI GABAerg neuronok kitűnően alkalmasak erre időzítetten, külső ingertől függő módon.

Bebizonyítottuk, hogy az NI GABAerg neuronok számos agyterületről mono-szinaptikus bemenetet kapnak, amelyek előre feldolgozzák a fontos környezeti ingereket.

Kiderült, hogy a NI GABAerg neuronok szelektíven, közvetlenül gátolják a hippokampusz SOM-pozitív interneuronjait, amelyek messze túlnyomó többsége OLM interneuron <sup>177,179</sup>.

Bár a bazális előagyi kolinerg sejtek a fent leírt módon felszabadítanak GABA transzmittert is, ezt azonnal követi egy erős kolinerg serkentő komponens <sup>187</sup>, ami az OLM sejtek hatékony nettó aktiválását eredményezi <sup>177,187</sup>. A fenti eredményeinkből látható, hogy a hippokampális OLM sejtek, bazális előagyból eredő glutamáterg és kolinerg serkentéséért felelős sejtjeit a NI GABAergic neuronok szintén gátolják, ami megkönnyíti a hippokampusz OLM sejtek hatékony és pontosan időzített gátlását. Azt is bizonyítottuk, hogy ezeket a közvetlen (hippokampális) és közvetett (bazális előagyi) gátló rostokat sokszor ugyanazon NI GABAerg sejt axonjainak az elágazásai hozzák létre megkönnyítve ezáltal azok szinkron működését.

Korábbi tanulmányok alapján a dorzális CA1 OLM neuronok közvetlen gátlása gyengébb memória-formációt eredményezett <sup>177,178</sup>. És valóban, a dorzális CA1 OLM neuronok gátolhatók az agytörzs NI GABAerg neuronok aktiválásával, így pedig a NI GABAerg neuronok pontosan ütemezett aktiválása a kontextuális félelemi emlékek teljes gátláshoz vezethet, ahogyan azt kísérleteink is bizonyították.

Ezzel szemben az NI irtás után a patkányok patológiásan erős memóriaképződést mutatnak, amit a félelemi emlékek csökkent kioltódását és fokozott generalizált szorongás kialakulását jelzi <sup>188,189</sup>. És valóban, a NI GABAerg neuronok gátlása után mi is a kontextuális félelemi memória erőteljesebb megmaradását figyeltünk meg.

Leírtuk, hogy az NI GABAerg neuronok több olyan agyterületről kapnak mono-szinaptikus bemeneteket, amelyek fontos környezeti ingereket dolgoznak fel. Továbbá kiderült, hogy a különböző környezeti ingerek a NI rostok különböző részét aktiválták, így az érzelmileg jelentősebb bemenetek például hatékonyabbak voltak. Ezenkívül, elemzésünk arra utalt, hogy a különböző NI sejteket részben eltérő szenzoros ingerek aktiválhatják. Ezért feltételezhető, hogy az NI GABAergic neuronok különböző populációi, a piramisisejtek különböző alpopulációit válogatják ki a memória kódoláshoz szükséges engramok kódolásához.

Patkányban megfigyelték, hogy a kortikotropin-felszabadító hormon receptort (CRH-R1-et) kifejező NI GABAerg neuronokat különböző stresszorok aktiválhatják <sup>65,189–191</sup>. Eredményeink azt is mutatták, hogy az NI GABAerg neuronok több agyterületről kapnak stressz szabályozással kapcsolatos beidegzést, amelyek között a medián raphe régióból érkező CRH-t kifejező, általunk leírt idegsejtjeiről érkező beidegzés korábban még nem volt ismert. Ezért, a NI GABAerg neuronok CRH-függő modulációja hozzájárulhat a stresszes körülmények között megfigyelt kóros epizodikus memória rögzítéshez <sup>192,193</sup>.

### A NI GABAerg neuronok jelentősége

A NI GABAerg neuronok esetleges neurodegenerációja hypermnézia-szerű tüneteket eredményezhet, amelyekben a mindennapi élet szükségtelenül kódolt részletes emlékei kognitív problémákat okoznak a betegekben <sup>194,195</sup>. Az NI GABAerg sejtek működési hibái hozzájárulhatnak az általános szorongásos szindrómákhoz vagy poszt-traumás stressz rendellenességekhez is, melyek esetében a patológiásan erős epizodikus memória kialakulása jól ismert. Másrészt az NI GABAerg neuronok rendellenesen erős aktivitása kognitív problémákat eredményezhet.

Az NI GABAerg neuronoknak fontos szerepe lehet a memóriakódolásban résztvevő engram-képző piramissejtek kiválasztásában, melyet a környezeti ingerek fontossága és/vagy jellege alapján képes pontosan elvégezni. A NI GABAerg sejtek szintén segíthetnek kiszűrni az érdektelen mindennapi élményeket, amelyekhez az állatok már hozzászoktak vagy megjegyzésük szükségtelen. Eredményeink egy olyan váratlanul specifikus agytörzsből felszálló gátló pályát tártak fel, melynek alapvető szerepe van emlékeink raktározásában.

## Összefoglalás

A hippocampális formáció egy evolúciósan ősi, erősen specializálódott és egyik legjobban ismert agykéreg terület. Mégis, működésének teljes megismerése csak akkor lesz lehetséges, ha megismertük a vele összeköttetésben lévő agyterületek működését is, etc., míg el nem jutunk az agy működésének teljes modelljéhez. Azonban a hippocampus megértésében elért haladás már most is sok inspirációt szolgáltatott más agyrégiók tanulmányozásához is, amelyek pl. a hippocampusba vetítenek vagy melyek onnan kapnak beidegzést. A hippocampus fontos kiinduló pontként szolgál ahhoz is, hogy megértsük az agyterületek közötti kommunikációt lehetővé tevő neuronális kommunikáció alapelemeit, és hogy azok együttműködése hogyan vezet az állat viselkedéshez.

A hippocampus memóriában betöltött szerepe, nem jelenti, hogy a hippocampus önmagában képes lenne a valóság vagy a megtanulható információ „megértésére”. Működéséhez nem kell önmagában értelmeznie az elraktározandó memórianyomokat. Elsődleges feladata vélhetően az, hogy az ide érkező információk sorrendisége, tér és időbeli elrendeződése alapján lenyomatot képezzen azok információinak struktúrájáról, melyet fősejtjeik kisebb populációi segítségével egyfajta kódként képes tárolni majd a nagyagykéregbe továbbítani. A hippocampális információ feldolgozás leginkább tér és időbeli viszonyítási pontokat ad az információk tárolásához. Kiterjedt kapcsolatrendszere elősegíti, hogy a események lenyomata, az események minél több aspektusát, minél több modalitását tartalmazza, hogy azt a kód egyediségének segítségével minél pontosabban el tudja helyezni kiterjedt „kognitív térképén”. Ennek a térképnek a megrajzolásához szükségesek a kéreg alatti területek, a szeptum, a mediális raphe és a nucleus incertus által előre feldolgozott információk.

Miközben évtizedekig az agytörzset főként az autonóm funkciókban és a ritmus generálásában tartották csak fontosnak, munkáink megmutatták hogy az agytörzsi NI és MRR pontosan időzített módon, gyorsan, közvetett pályákon és közvetlen hippocampális beidegzéssel is képes vezérelni a kontextuális memória nyomok kialakítását. Továbbá bemutattuk, hogy a kolinerg rendszer, mely a hippocampus egyik legintenzívebb beidegzését adja, egy pontosan időzített GABAerg gátlással is ellátja a hippocampust, mely GABA felszabadulás önmagában is képes a memória nyomok raktározása szempontjából kulcsfontosságú hippocampális ritmusok koordinálására.

Új sejtpopulációk vagy jelátvivő rendszerek felfedezése kapcsán mindig felmerül, ezek esetleges gyógyászati felhasználása. A modern gyógyászati és géntechnológiák ígéretével, szerencsére valóban elérhető távolságba kerülhetnek majd új megoldások. Ezek segítségével reméljük képesek leszünk a jelátvivő rendszerek módosításának vagy bizonyos specifikus sejtpopulációk aktiválásának vagy gátlásának segítségével, a szükséges minimális beavatkozás mellett kezelni, vagy akár meggyógyítani az idegrendszeri eredetű megbetegedéseket.

## Köszönetnyilvánítás

Mindenekelőtt szeretném megköszönni tanítványaimnak és munkacsoportom minden korábbi és jelenlegi tagjának munkájukat és az általuk nyújtott inspiráló légkört. Mindennapi hatékony kísérletes kutatómunkájuk nélkül nem tehattünk volna ennyi izgalmas felfedezést és ez az értekezés nem születhetett volna meg. Így külön is köszönöm asszisztenseink Arszovszki Antónia, Goda Győző, Hajós Zsuzsanna, Iványi Katalin, Kriczky Andrea, Lengyel Katalin, Szépné Simon Emőke segítségét, valamint külön köszönöm közvetlen munkatársaim és diákjaim, Cserép Csaba, Bardóczi Zsuzsanna, Gönczi Roland, Hegedüs Panna, Major Ábel, Mayer Márton, Orosz Áron, Papp Péter, Pósfai Balázs, Sós Katalin Eszter, Szőnyi András, Takács Virág, Zádori Dénes, Zichó Krisztián kitűnő kutatómunkáját.

Hálás vagyok Freund Tamás akadémikus csoportvezetőnknek, hogy munkájával és folyamatos támogatásával olyan tudományos közösséget és légkört hozott létre mind a kutatóintézet, mind pedig kutatócsoportunk szorosán együttműködő munkacsoportjai számára, ami inspiráló és termékeny kereteket adott a kutatómunkának. Továbbá hálás vagyok egykori mentoraimnak Halasy Katalinnak (Állatorvostudományi Egyetem, Budapest) és Somogyi Péternek (Oxfordi Egyetem, Egyesült Királyság) is korábbi támogatásukért.

Itt bemutatott munkákhoz számos hazai és külföldi kollégám nyújtott kísérleti vagy egyéb szakmai segítséget, akik nélkül ezek a munkák nem készülhettek volna el. Ezért köszönetet szeretnék mondani Balázsfői Diána, Barth Albert, Bodor Ágnes, Borhegyi Zsolt, Dénes Ádám, Demeter Kornél, Domonkos Andor, Gulyás Attila, Haller József, Hájos Norbert, Jelitai Márta, Katona István, Káli Szabolcs, Környei Zsuzsanna, Nyilas Rita, Schlingloff Dániel, Sipos Eszter, Török Bibiána, Varga Viktor, Zelena, Dóra munkatársaimnak a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézetben, illetve Watanabe Masahiko (Hokkaido University, Japan), Ken P. MacKie (Indiana University Bloomington, USA), Shigemoto Ryuichi (National Institute for Physiological Sciences, Okazaki, Japan), Jan de Vente (Maastricht University, Netherlands), Losonczy Attila (Columbia University, New York, USA), James Benjamin Priestley (Columbia University, New York, USA), Andrew Gundlach (Florey Institute of Neuroscience, Melbourne, Auszália) külföldi kollégáimnak. Továbbá szeretném megköszönni a Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet valamennyi központi és többi laboratóriumának munkatársainak és állatgondozói szakembereinek sokféle formában nyújtott a segítségüket.

Nem utolsósorban szeretném megköszönni szüleimnek, valamint páromnak Boglárkának és kisfiamnak Barnabásnak kitartó támogatásukat és segítőt szeretetüket.

## Referenciák

1. Farr, S. a, Flood, J.F. & Morley, J.E. *Neurobiol. Learn. Mem.* **73**, 150–167 (2000).
2. Morgado-Bernal, I. *Neuroscience* **176**, 12–19 (2011).
3. Nazari-Serenjeh, F., Rezayof, A. & Zarrindast, M.R. *Neuroscience* **196**, 104–114 (2011).
4. Ohno, M. & Watanabe, S. *Neuroscience* **70**, 303–311 (1996).
5. Bacciottini, L., Passani, M.B., Mannaioni, P.F. & Blandina, P. *Behav. Brain Res.* **124**, 183–194 (2001).
6. Watson, D.J. & Stanton, M.E. *Neurobiol. Learn. Mem.* **92**, 89–98 (2009).
7. Okada, K. & Okaichi, H. *Behav. Brain Res.* **200**, 181–191 (2009).
8. Zoladz, P.R. et al. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **85**, 298–306 (2006).
9. Izquierdo, I. et al. *Behav. Neural Biol.* **58**, 16–26 (1992).
10. Axmacher, N., Mormann, F., Fernández, G., Elger, C.E. & Fell, J. *Brain Res. Rev.* **52**, 170–182 (2006).
11. Khan, Z.U. & Muly, E.C. *Behav. Brain Res.* **219**, 329–341 (2011).
12. Lee, I., Jerman, T.S. & Kesner, R.P. *Neurobiol. Learn. Mem.* **84**, 138–147 (2005).
13. Kirby, B.P. & Rawlins, J.N.P. *Behav. Brain Res.* **143**, 41–48 (2003).
14. Ridley, R.M., Timothy, C.J., MacLean, C.J. & Baker, H.F. *Neuroscience* **67**, 263–275 (1995).
15. Riedel, G. & Micheau, J. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* **25**, 835–853 (2001).
16. Gessa, G.L., Mascia, M.S., Casu, M.A. & Carta, G. *Eur. J. Pharmacol.* **327**, (1997).
17. File, S.E., Kenny, P.J. & Cheeta, S. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **66**, 65–72 (2000).
18. Balazsa, T., Bíró, J., Gullai, N., Ledent, C. & Sperlágh, B. *Neurochem. Int.* **52**, 95–102 (2008).
19. Drago, A., Crisafulli, C., Sidoti, A. & Serretti, A. *Prog. Neurobiol.* **94**, 418–460 (2011).
20. Gulyás, A.I., Acsády, L. & Freund, T.F. *Neurochem. Int.* **34**, 359–372 (1999).
21. Li, H. et al. *Neurosci. Res.* **52**, 287–294 (2005).
22. Picciotto, M.R., Higley, M.J. & Mineur, Y.S. *Neuron* **76**, 116–129 (2012).
23. Dani, J. a & Bertrand, D. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **47**, 699–729 (2007).
24. Calfa, G., Bussolino, D. & Molina, V.A. *Behav. Brain Res.* **181**, 23–34 (2007).
25. Adams, B.W. & Moghaddam, B. *Brain Res.* **858**, 177–180 (2000).
26. Lamprea, M.R., Garcia, A.M.B. & Morato, S. *Behav. Brain Res.* **210**, 67–73 (2010).
27. Flood, J.F., Farr, S.A., Uezu, K. & Morley, J.E. *Eur. J. Pharmacol.* **350**, 31–38 (1998).
28. McNay, E.C., Canal, C.E., Sherwin, R.S. & Gold, P.E. *Physiol. Behav.* **87**, 298–303 (2006).
29. Mamad, O., McNamara, H.M., Reilly, R.B. & Tsanov, M. *Front. Behav. Neurosci.* **9**, 166 (2015).
30. Rashidy-Pour, A., Motamedi, F. & Motahed-Larjani, Z. *Brain Res.* **709**, 131–140 (1996).
31. Degroot, A. & Treit, D. *Neuroscience* **117**, 493–501 (2003).
32. Furini, C., Myskiw, J. & Izquierdo, I. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **47**, 670–683 (2014).
33. de Paula, D.C., Torricelli, A.S., Lopreato, M.R., Nascimento, J.O.G. & Viana, M.B. *Behav. Brain Res.* **226**, 50–55 (2012).
34. Ashabi, G., Oryan, S., Ahmadi, R. & Valizadegan, F. *Life Sci.* **89**, 821–826 (2011).
35. de Almeida, R.M.M., Giovenardi, M., da Silva, S.P., de Oliveira, V.P. & Stein, D.J. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* **38**, 597–602 (2005).
36. Khakpai, F., Nasehi, M., Haeri-Rohani, A., Eidi, A. & Zarrindast, M.R. *Basic Clin. Neurosci.* **4**, 5–23 (2013).
37. Arnolds, D.E.A.T., Lopes Da Silva, F.H., Aitink, J.W., Kamp, A. & Boeijinga, P. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* **50**, 324–328 (1980).
38. Kahana, M.J., Sekuler, R., Caplan, J.B., Kirschen, M. & Madsen, J.R. *Nature* **399**, 781–784 (1999).
39. Bódizs, R. et al. *Hippocampus* **11**, 747–753 (2001).
40. Sotty, F. et al. *J. Physiol.* **551**, 927–943 (2003).
41. Fuhrmann, F. et al. *Neuron* **86**, 1253–1264 (2015).
42. Szőnyi, A. et al. *Brain Struct. Funct.* **221**, 735–751 (2016).
43. Varga, V. et al. *Science (80-. )* **326**, 449–453 (2009).
44. Bohut, M.-C. *Cogn. Behav.* 243–254 (1997).
45. Vertes, R.P., Fortin, W.J. & Crane, A.M. *J. Comp. Neurol.* (1999).doi:10.1002/(SICI)1096-9861(19990517)407:4<555::AID-CNE7>3.3.CO;2-5
46. Avanzi, V. & Brandão, M.L. *Behav. Brain Res.* (2001).doi:10.1016/S0166-4328(01)00254-6
47. Avanzi, V., Silva, R.C.B., Macedo, C.E. & Brandão, M.L. *Physiol. Behav.* (2003).doi:10.1016/S0031-9384(03)00029-5
48. Borelli, K.G., Gárgaro, A.C., Dos Santos, J.M. & Brandão, M.L. *Neurosci. Lett.* (2005).doi:10.1016/j.neulet.2005.07.031
49. Dos Santos, L., De Andrade, T.G.C.S. & Zangrossi, H. *Psychopharmacology (Berl.)* **179**, 733–741 (2005).
50. Ohmura, Y. et al. *Neuropsychopharmacology* **35**, 1271–1278 (2010).
51. Peters, S., Slattery, D.A., Uschold-Schmidt, N., Reber, S.O. & Neumann, I.D. *Psychoneuroendocrinology* **42**, 225–236 (2014).
52. Zangrossi, H.H. & Graeff, F.G. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **46**, 397–406 (2014).
53. Fremeau, R.T. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (2002).doi:10.1073/pnas.222546799
54. Stamp, J.A. & Semba, K. *BRAIN Res. ELSEVIER Brain Res.* **677**, 39–49 (1995).
55. Gras, C. et al. *J. Neurosci.* (2002).doi:20026583
56. Jackson, J., Bland, B.H. & Antle, M.C. *Synapse* **63**, 31–41 (2009).
57. Azmitia, C. S.M. *J Comp Neurol.* **3**, 641–667 (1978).
58. Kinney, G.G., Kocsis, B. & Vertes, R.P. *Brain Res.* **708**, 116–122 (1996).
59. Wang DV, Yau HJ, Broker CJ, Tsou JH, Bonci A, I.S. et al. *Nat. Neurosci.* **18**, 728–735 (2015).
60. Cervera-Ferri, A., Rahmani, Y., Martínez-Bellver, S., Teruel-Martí, V. & Martínez-Ricós, J. *Neurosci. Lett.* **517**, 71–76 (2012).
61. Ma, S. et al. *Neuroscience* **144**, 165–190 (2007).
62. Olucha-Bordonau, F.E. et al. *J. Comp.*

- Neurol.* **464**, 62–97 (2003).
63. Stefanelli, T. et al. *1–12* (2016).doi:10.1016/j.neuron.2016.01.024
  64. Goto, M., Swanson, L.W. & Canteras, N.S. *J. Comp. Neurol.* **438**, 86–122 (2001).
  65. Ma, S., Blasiak, A., Olucha-Bordonau, F.E., Verberne, A.J.M. & Gundlach, A.L. *J. Physiol.* **591**, 3981–4001 (2013).
  66. Ma, S. et al. *Learn. Mem.* **16**, 730–742 (2009).
  67. Sánchez-Pérez, A.M. et al. *J. Comp. Neurol.* **523**, 565–588 (2015).
  68. Mesulam, M.M., Mufson, E.J., Wainer, B.H. & Levey, A.I. *Neuroscience* **10**, 1185–1201 (1983).
  69. Eckenstein, F., Baughman, R. & Quinn, J. *Neuroscience* **25**, 457–474 (1988).
  70. Rye, D.B., Wainer, B.H., Mesulam, M.M., Mufson, E.J. & Saper, C.B. *Neuroscience* **13**, 627–643 (1984).
  71. Yu, A.J. & Dayan, P. *Neuron* **46**, 681–692 (2005).
  72. Hasselmo, M.E. & Bower, J.M. *Trends Neurosci.* **16**, 218–222 (1993).
  73. Rasmusson, D.D. & Dykes, R.W. *Exp. Brain Res.* **70**, 276–286 (1988).
  74. Jones, B.E. *Prog Brain Res* **98**, 61–71 (1993).
  75. Tata, A.M., Velluto, L., D’Angelo, C. & Reale, M. *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets* **13**, 1996–3181 (2014).
  76. Descarries, L., Gisiger, V. & Steriade, M. *Prog. Neurobiol.* **53**, 603–625 (1997).
  77. Lendvai, B. & Vizi, E.S. *Physiol. Rev.* **88**, 333–349 (2008).
  78. Sarter, M., Parikh, V. & Howe, W.M. *Nat. Rev. Neurosci.* **10**, 383–390 (2009).
  79. Arroyo, S., Bennett, C. & Hestrin, S. *Front. Neural Circuits* **8**, 1–6 (2014).
  80. Zoli, M., Jansson, A., Syková, E., Agnati, L.F. & Fuxe, K. *Trends Pharmacol. Sci.* **20**, 142–150 (1999).
  81. Teles-Grilo Ruivo, L.M. & Mellor, J.R. *Front. Synaptic Neurosci.* **5**, 1–15 (2013).
  82. Umbriaco, D., Watkins, K.C., Descarries, L., Cozzari, C. & Hartman, B.K. *J. Comp. Neurol.* **348**, 351–373 (1994).
  83. Umbriaco, D., Garcia, S., Beaulieu, C. & Descarries, L. *Hippocampus* **5**, 605–620 (1995).
  84. Hangya, B., Ranade, S.P., Lorenc, M. & Kepecs, A. *Cell* **162**, 1155–1168 (2015).
  85. Muñoz, W. & Rudy, B. *Curr. Opin. Neurobiol.* **26**, 149–160 (2014).
  86. Teles-Grilo Ruivo, L.M. et al. *Cell Rep.* **18**, 905–917 (2017).
  87. Gu, Z. & Yakel, J.L. *Neuron* **71**, 155–165 (2011).
  88. Hasselmo, M.E. & McGaughy, J. *Prog. Brain Res.* **145**, 207–231 (2004).
  89. Lee, S. & Dan, Y. *Neuron* **76**, 209–222 (2012).
  90. Vandecasteele, M. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **111**, 13535–13540 (2014).
  91. Agnati, L.F. et al. *Acta Physiol.* **187**, 329–344 (2006).
  92. Marrosu, F. et al. *Brain Res.* **671**, 329–332 (1995).
  93. Gais, S. & Born, J. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **101**, 2140–2144 (2004).
  94. Girardeau, G., Benchenane, K., Wiener, S.I., Buzsáki, G. & Zugaro, M.B. *Nat. Neurosci.* **12**, 1222–1223 (2009).
  95. Buzsáki, G. *Hippocampus* **25**, 1073–1188 (2015).
  96. Schlingloff, D., Kali, S., Freund, T.F., Hajos, N. & Gulyas, A.I. *J. Neurosci.* **34**, 11385–11398 (2014).
  97. Amatniek, J.C. et al. *Epilepsia* **47**, 867–872 (2006).
  98. Buzsáki, G., Ponomareff, G.L., Bayardo, F., Ruiz, R. & Gage, F.H. *Neuroscience* **28**, 527–538 (1989).
  99. Silveira, D.C., Holmes, G.L., Schachter, S.C., Geula, C. & Schomer, D.L. *Brain Res.* **878**, 223–7 (2000).
  100. Ferencz, I. et al. *Neuroscience* **102**, 819–832 (2001).
  101. Zhang, H., Lin, S.-C. & Nicoletis, M.A.L. *J. Neurophysiol.* **106**, 2749–2763 (2011).
  102. Crespel, A., Baldy-Moulinier, M. & Coubes, P. *Epilepsia* **39**, 150–157 (1998).
  103. Minecan, D., Natarajan, A., Marzec, M. & Malow, B. *Sleep* **25**, 899–904 (2002).
  104. Turski, L., Ikonomidou, C., Turski, W.A., Bortolotto, Z.A. & Cavalheiro, E.A. *Synapse* **3**, 154–171 (1989).
  105. Bromberg-Martin, E.S., Matsumoto, M., Nakahara, H. & Hikosaka, O. *Neuron* **67**, 499–510 (2010).
  106. Bromberg-Martin, E.S. & Hikosaka, O. *Nat. Neurosci.* **14**, 1209–1218 (2011).
  107. Bromberg-Martin, E.S., Matsumoto, M. & Hikosaka, O. *Neuron* **67**, 144–155 (2010).
  108. Orsini, C.A., Moorman, D.E., Young, J.W., Setlow, B. & Floresco, S.B. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **58**, 147–167 (2015).
  109. Stopper, C.M. & Floresco, S.B. *Nat. Neurosci.* **17**, 33–35 (2014).
  110. Stopper, C.M., Tse, M.T.L., Montes, D.R., Wiedman, C.R. & Floresco, S.B. *Neuron* **84**, 177–189 (2014).
  111. Baker, P.M., Oh, S.E., Kidder, K.S. & Mizumori, S.J.Y. *Front. Behav. Neurosci.* **9**, 295 (2015).
  112. Goutagny, R. et al. *Neuropsychopharmacology* **38**, 2418–2426 (2013).
  113. Crooks, R., Jackson, J. & Bland, B.H. *Hippocampus* **22**, 1567–1576 (2012).
  114. Domonkos, A. et al. *J. Physiol.* **594**, 3775–3790 (2016).
  115. Jackson, J., Dickson, C.T. & Bland, B.H. *J. Neurophysiol.* **99**, 3009–3026 (2008).
  116. Di Prisco, G.V., Albo, Z., Vertes, R.P. & Kocsis, B. *Exp. Brain Res.* **145**, 383–394 (2002).
  117. Aizawa, H. et al. *J. Neurosci.* **33**, 8909–8921 (2013).
  118. Andrade, T.G.C.S., Zangrossi, H. & Graeff, F.G. *J. Psychopharmacol.* **27**, 1107–1115 (2013).
  119. Balázsfi, D.G.D.G. et al. *PLoS One* **12**, e0181264 (2017).
  120. Freund, T.F. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **87**, 8501–8505 (1990).
  121. Bang, S.J., Jensen, P., Dymecki, S.M. & Commons, K.G. *Eur. J. Neurosci.* **35**, 85–96 (2012).
  122. Leranthe, C. & Vertes, R.P. *J. Comp. Neurol.* **410**, 586–98 (1999).
  123. Barker, D.J. et al. *Cell Rep.* **21**, 1757–1769 (2017).
  124. Lammel, S. et al. *Nature* **491**, 212–217 (2012).
  125. Lammel, S., Lim, B.K. & Malenka, R.C. *Neuropharmacology* **76 Pt B**, 351–9 (2014).
  126. Stephenson-Jones, M. et al. *Nature* **539**, 289–293 (2016).
  127. de Jong, J.W. et al. *Neuron* **101**, 133–151.e7 (2019).
  128. Brinshaw, K. et al. *Neuroscience* **168**, 463–476 (2010).
  129. Quina, L.A. et al. *J. Comp. Neurol.* **523**, 32–60 (2015).
  130. Jhou, T.C., Geisler, S., Marinelli, M., Degarmo, B.A. & Zahm, D.S. *J. Comp. Neurol.* **513**, 566–596 (2009).
  131. Hong, S., Jhou, T.C., Smith, M., Saleem, K.S. & Hikosaka, O. *J. Neurosci.* **31**, 11457–11471 (2011).



132. Stamatakis, A.M. & Stuber, G.D. *Nat. Neurosci.* **15**, 1105–1107 (2012).
133. Tian, J. & Uchida, N. *Neuron* **87**, 1304–1316 (2015).
134. Matsumoto, M. & Hikosaka, O. *Nature* **447**, 1111–1115 (2007).
135. Li, H., Pullmann, D. & Jhou, T.C. *Elife* **8**, 1–17 (2019).
136. Meye, F.J. et al. *Nat. Neurosci.* **18**, 376–380 (2015).
137. Proulx, C.D., Hikosaka, O. & Malinow, R. *Nat. Neurosci.* **17**, 1146–52 (2014).
138. Trusel, M. et al. *Neuron* **102**, 120–127.e4 (2019).
139. Wang, D. et al. *Elife* **6**, 1–20 (2017).
140. Sos, K.E.K.E. et al. *Brain Struct. Funct.* **222**, 287–299 (2017).
141. Root, D.H., Mejias-Aponte, C.A., Qi, J. & Morales, M. *J. Neurosci.* **34**, 13906–10 (2014).
142. Zahm, D.S. & Root, D.H. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **162**, 3–21 (2017).
143. Kim, U. *J. Comp. Neurol.* **513**, 173–187 (2009).
144. Tooley, J. et al. *Biol. Psychiatry* (2018).doi:10.1016/j.biopsych.2018.01.003
145. Stamatakis, A.M. et al. *J. Neurosci.* (2016).doi:10.1523/jneurosci.1202-15.2016
146. Kaufling, J. *Cell Tissue Res.* (2019).doi:10.1007/s00441-019-03007-9
147. Maier, S.F. & Seligman, M.E.P. **123**, 349–67 (2016).
148. Lazaridis, I. et al. *Mol. Psychiatry* (2019).doi:10.1038/s41380-019-0369-5
149. Cui, Y. et al. *Nature* **554**, 323–327 (2018).
150. Li, K. et al. *Science (80-. )*. **341**, 1016–1020 (2013).
151. Knowland, D. et al. *Cell* (2017).doi:10.1016/j.cell.2017.06.015
152. Friedman, A. et al. *Neuropharmacology* (2011).doi:10.1016/j.neuropharm.2010.10.006
153. Yang, Y. et al. *Nature* **554**, 317–322 (2018).
154. Martin, L.A., Neighbors, H.W. & Griffith, D.M. *JAMA Psychiatry* **70**, 1100–1106 (2013).
155. Verdolini, N. et al. *Acta Psychiatr. Scand.* **136**, 362–372 (2017).
156. Yang, C.R. et al. *Neurotox. Res.* **27**, 129–142 (2014).
157. Golden, S.A. et al. *Nature* **534**, 688–692 (2016).
158. Hangya, B., Borhegyi, Z., Szilágyi, N., Freund, T.F. & Varga, V. *J. Neurosci.* **29**, 8094–8102 (2009).
159. Borhegyi, Z., Varga, V., Szilágyi, N., Fabo, D. & Freund, T.F. *J. Neurosci.* **24**, 8470–9 (2004).
160. Gangadharan, G. et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **113**, 6550–6555 (2016).
161. Aznar, S., Qian, Z.X. & Knudsen, G.M. *Neuroscience* (2004).doi:10.1016/j.neuroscience.2003.12.020
162. Eichenbaum, H.B. *Behav. Brain Res.* **127**, 199–207 (2001).
163. Andersen P. *Oxford* (Oxford University Press: 2007).doi:10.1093/acprof:oso/9780195100273.001.0001
164. Haam, J., Zhou, J., Cui, G. & Yakel, J.L. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **115**, 1886–1895 (2018).
165. Kitamura, T. et al. *Neuron* **87**, 1317–1331 (2015).
166. Lisman, J.E. *Neuron* **22**, 233–242 (1999).
167. Suh, J., Rivest, A.J., Nakashiba, T., Tominaga, T. & Tonegawa, S. *Science (80-. )*. **1415**, 1415–1421 (2013).
168. Kitamura, T. et al. *Science (80-. )*. **343**, 896–901 (2014).
169. Bittner, K.C. et al. *Nat. Neurosci.* **18**, 1133–1142 (2015).
170. Bittner, K.C., Milstein, A.D., Grienberger, C., Romani, S. & Magee, J.C. *Science (80-. )*. **357**, 1033–1036 (2017).
171. Dudman, J.T., Tsay, D. & Siegelbaum, S.A. *Neuron* **56**, 866–879 (2007).
172. Roy, D.S. et al. *Cell* **170**, 1000–1012.e19 (2017).
173. Maren, S. & Fanselow, M.S. *Neurobiol. Learn. Mem.* **67**, 142–149 (1997).
174. Kesner, R.P. *Learn. Mem.* **14**, 771–781 (2007).
175. Maren, S., Phan, K.L. & Liberzon, I. *Nat. Rev. Neurosci.* **14**, 417–428 (2013).
176. Tanaka, K.Z. et al. *Science (80-. )*. **361**, 392–397 (2018).
177. Lovett-Barron, M. et al. *Science (80-. )*. **1**, 857–864 (2014).
178. Siwani, S. et al. *Neuron* **99**, 404–412 (2018).
179. Royer, S. et al. *Nat. Neurosci.* **15**, 769–775 (2012).
180. Nakauchi, S., Brennan, R.J., Boulter, J. & Sumikawa, K. *Eur. J. Neurosci.* **25**, 2666–2681 (2007).
181. Jia, Y., Yamazaki, Y., Nakauchi, S. & Sumikawa, K. *Eur. J. Neurosci.* **29**, 1588–1603 (2009).
182. Leão, R.N. et al. *Nat. Neurosci.* **15**, 1524–1530 (2012).
183. Justus, D. et al. *Nat. Publ. Gr.* (2016).doi:10.1038/nn.4447
184. Misane, I., Krus, A., Pieneman, A.W., Ögren, S.O. & Stiedl, O. *Behav. Brain Res.* **238**, 160–169 (2013).
185. Yanovsky, Y., Sergeeva, O.A., Freund, T.F. & Haas, H.L. *Neuroscience* **77**, 87–96 (1997).
186. Drieskens, D.C. et al. *Neurobiol. Learn. Mem.* **145**, 28–33 (2017).
187. Takács, V.T.V.T. et al. *Nat. Commun.* **9**, 2848 (2018).
188. Pereira, C.W. et al. *Behav. Brain Res.* **247**, 201–210 (2013).
189. Lee, L.C., Rajkumar, R. & Dawe, G.S. *Brain Res.* **1543**, 179–190 (2014).
190. Tanaka, M. et al. *Eur. J. Neurosci.* **21**, 1659–1670 (2005).
191. Ma, S. et al. *Brain Struct. Funct.* **222**, 515–537 (2017).
192. Darcet, F. et al. *Front. Behav. Neurosci.* **8**, 1–13 (2014).
193. Eskildsen, A., Andersen, L.P., Pedersen, A.D., Vandborg, S.K. & Andersen, J.H. *Stress* **18**, 198–207 (2015).
194. Parker, E.S., Cahill, L. & McGaugh, J.L. *Neurocase* **12**, 35–49 (2006).
195. Kamiya, S. *Memory* **22**, 839–851 (2014).