

Az affiliatív és agresszív viselkedés thalamo-preoptikus szabályozása rágcsálókban

Doktori értekezés

Láng Tamás

Semmelweis Egyetem
Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Tagozat



Témavezető: Dr. Dobolyi Árpád, az MTA doktora, tudományos tanácsadó

Hivatalos bírálók: Dr. Horváth András Attila, PhD, egyetemi adjunktus

Dr. Varga Viktor, PhD, csoportvezető

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Alpár Alán, az MTA doktora, egyetemi tanár

Tagok: Dr. Kovács Krisztina, az MTA doktora, csoportvezető

Dr. Kozsurek Márk, PhD, egyetemi adjunktus

Budapest
2025

1. Bevezetés

A szociális viselkedés az állat és egy vagy több fajtárs közötti interakcióként definiálható. Fajtárs jelenlétében az állat viselkedése megváltozik, és jellegzetes viselkedésmintázatok jelennek meg.

Rágcsálók esetében számos veleszületett szociális viselkedés figyelhető meg, amikor két fajtárs találkozik egymással. Ezek főbb kategóriái: affiliatív (barátságos) szociális viselkedés; a hímek közötti agresszív viselkedés; hím és nőstény közötti szexuális viselkedés; fiatal állatok közötti játékos szociális viselkedés; valamint anyaállat és kölykei közötti utódgondozó magatartás.

Az affiliatív szociális viselkedés egy proszociális viselkedésforma, amely gyakran figyelhető meg ismerős fajtársak között. Az affiliatív viselkedés barátságos interakcióként definiálható, amely jellemzően magában foglalja, hogy az állatok tisztogatják egymást (allogrooming), az oldalukkal érintkeznek, szaglásszák testüket és anogenitális testrészeiket. Bár a viselkedés szabályozásában részt vevő fő agyterületek nem teljesen ismertek, újabb tanulmányok a mediális preoptikus terület (MPOA) központi szerepére utaltak.

Az agresszív viselkedés az antiszociális viselkedés egyik formája, amelyet rágcsálóban elsősorban ismeretlen felnőtt hím állatok mutatnak egymás irányába. Az agresszió célja a források – például terület, táplálék, rangsor és nőstények – megszerzése a szaporodás érdekében. A leggyakrabban megfigyelhető viselkedéselemek közé tartozik a verekedés, valamint a felülre kerülés (dominant mounting) és a harapás.

A szociális viselkedés szabályozását több agyterület hangolja össze, amelyeket összefoglalóan szociális agyi hálózatnak (social brain network-nek) nevezünk. Bár a szabályozó mechanizmusok számos agyterületet érintenek, a dolgozatban elsősorban 3 agyterületre fókuszáltam: a posterior intralamináris thalamikus magra (PIL), a mediális preoptikus területre (MPOA) és a ventromediális hipotalamikus magra (VMH).

2. Célkitűzés

A PIL-neuronok anatómiai tulajdonságainak a jellemzése

- A PIL neuronok agyi projekcióinak feltérképezése.
- Az MPOA-ban található, PIL-neuronokkal közvetlen kapcsolatban álló neuronok jellemzése.

A PIL és a PIL–MPOA pálya funkcionális vizsgálata affiliatív viselkedés során

- A PIL-neuronok szerepének vizsgálata hím patkányok affiliatív viselkedésének szabályozásában.
- A PIL–MPOA pálya funkcionális jellemzése az affiliatív viselkedés során.
- A PIL-ből az MPOA-ba vetülő neuronok aktivitásának szálfotometriai mérése szociális interakciók során.

A PIL-neuronok és a PIL–MPOA pálya szerepének feltárása agresszív viselkedésben

- A krónikus szociális izoláció hatásának vizsgálata hím patkányok szociális viselkedésére.
- Az agresszív interakciók során aktiválódó PIL-neuronok manipulálása aktivitásfüggő jelölési technika alkalmazásával.
- A PIL és célterületeinek c-Fos aktivációjának vizsgálata a PIL-aktivitás közvetlen kemogenetikai manipulációjára adott válaszként.
- A PIL–MPOA pálya szerepének meghatározása az agresszív viselkedés szabályozásában.

3. Módszerek

Idegpálya nyomjelző anyag beadása

Anterográd neuronális tracerként biotinilált dextrán-amin (BDA) oldatot injektáltunk a PIL-be. A PIL sztereotaktikus koordinátái a bregma ponthoz viszonyítva a következők voltak: anteroposterior (AP) = -5,2 mm, mediolaterális (ML) = +2,6 mm, dorsozentrális (DV) = -6,8 mm, az utóbbi a dura materhez mérve. A PIL eléréséhez ezen koordinátánál furatot készítettünk, majd egy mikropipettával 10%-os BDA-foszfát puffer oldatot juttattunk be iontoforézis segítségével. Az iontoforézis áramerősségét +6 μ A-ra állítottuk, 7 másodperces impulzusokkal, majd 7 másodperces szünetekkel, összesen 15 percig. Ezt követően a pipettát további 10 percig áram nélkül a helyén hagytuk, majd negatív áram alkalmazásával visszahúztuk. Azok az injekciók, amelyek nem a megfelelő helyre kerültek, kontrollként szolgáltak.

Immunhisztokémia

A transzkardiális perfúzió után az agyakat 40 μ m vastag koronális metszetekre vágtuk. A szabadon lebegő metszeteket először 3%-os hidrogén-peroxiddal kezeltük 15 percig. Ezt követően a metszeteket 0,5%-os Triton X-100-at és 3%-os marha szérum albumint tartalmazó foszfát pufferral (PB) kezeltük 1 órán keresztül. Ezután primer antitesteket alkalmaztunk 12 órán át, majd szekunder antitesttel inkubáltuk 60 percig. A következő lépésben az avidin-biotin komplex (ABC, 1:500) oldatában hagytuk 1 órán át a mintákat. A vírusinjekció helyének igazolására Ni-DAB vizualizációt végeztünk, csirke anti-mCherry antitesteket használva 1:1000-es hígításban. A PIL neuronok által megközelített MPOA neuronok jellemzéséhez PTH2 immunjelölést alkalmaztunk (nyúl anti-PTH2 antitestek 1:3000 hígításban) vGAT-ZsGreen egerek MPOA-szeletein. A PTH2 terminálok vizualizációját Alexa594-jelölt anti-nyúl IgG másodlagos antitesttel végeztük. Ezután a metszeteket DAPI-val (1:10 000) kezeltük 5 percig a magok DNS-ének megjelenítéséhez.

Kemogenetikai vizsgálatok

A PIL neuronok specifikus kemogenetikai manipulációjához AAV5-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry, AAV5-hSyn-hM4D(Gi)-mCherry vagy AAV5-hSyn-mCherry vírusokat injektáltunk be a PIL-be. A vírusvektorokat bilaterálisan fecskendeztük be

fejregített állatok PIL régiójába. A koordináták a bregmától mért távolságai a következők voltak: anteroposterior (AP) = -5,2 mm, mediolateralis (ML) = $\pm 2,6$ mm, dorsoventralis (DV) = -6,8 mm a dura materhez viszonyítva. A műtét után az állatok enrofloxacin (5 mg/ttkg) kaptak fertőzés megelőzésére.

Az aktivitásfüggő manipuláció érdekében a vGATE rendszert alkalmaztuk (Virus-delivered Genetic Activity-induced Tagging of Cell Ensembles), mely a PIL neuronok aktivitásfüggő jelölésére szolgált. Összesen 300 nanoliter víruskeveréket fecskendeztünk be a PIL-be, mely tartalmazta a következő vírusokat: rAAV-(tetO)7-Pfos-rtTA; rAAV-Ptetbi-Cre/YC3.60; és rAAV-PhSYN-DIO-hM3D(Gq)-mCherry vagy rAAV-PhSYN-DIO-hM4D(Gi)-mCherry. Három héttel a műtét után, a felépülést követően, intraperitoneálisan doxiciklint (5 mg/ttkg) adtunk az állatoknak, mely megnyitotta azt az időablakot, amikor a c-Fos expresszálo (aktivált) neuronokban Cre-rekombináz indukálódik. Másnap az állatok szociális ingert kaptak, ami c-Fos expressziót váltott ki a PIL neuronjaiban, melyek ennek hatására kifejezték az rtTA-t (reverse tetracycline transactivator). Doxiciklin jelenlétében az rtTA kötődött a második vírus (Ptetbi, bidirekcionális tetraciklin érzékeny promóter) promóter régiójához, ami lehetővé tette a Cre-rekombináz kifejeződését. A harmadik vírus Cre-dependensen expresszáta a gátló vagy stimuláló DREADD receptorokat. Így a szociális interakció során aktív PIL neuronok DREADD-del jelölődtek meg, melyek később kemo-genetikai manipuláción estek át.

A PIL-MPOA pálya szelektív manipulációjához a következő lépéseket hajtottuk végre: Először egy retrográd vírus (AAVrg-Ef1a-mCherry-IRES-Cre) került bilaterálisan az MPOA-ba (AP = -0,5 mm, ML = $\pm 0,6$ mm, DV = -6,7 és -7,7 mm a dura materhez viszonyítva), 100 nL mennyiségben mindkét szinten. Három hét felépülés után egy második vírus (pAAV-hSyn-DIO-HA-hM3D(Gq)-IRES-mCitrine vagy pAAV-hSyn-DIO-HA-hM4D(Gi)-IRES-mCitrine) került bilaterálisan a PIL-be.

A PIL neuronok axonterminálisainak MPOA-ban történő szelektív manipulációja érdekében stimuláló vagy gátló DREADD-expresszálo vírusvektorokat (AAV5-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry, AAV5-hSyn-hM4D(Gi)-mCherry) injektáltunk bilaterálisan a PIL-be (AP = -5,2 mm, ML = $\pm 2,6$ mm, DV = -6,8 mm). Ezt követően

bilaterális intracerebrális kannulákat ültettünk az MPOA fölé (AP = -0,5 mm, ML = ± 3 mm, DV = -7,2 mm), 16,5 fokos szögben. A kannulákat Duracryl fogászati resin segítségével rögzítettük a koponyához.

Szálfotometriai elemzés a MPOA-ba vetülő PIL neuronokon

Hím Wistar patkányokat altattunk, majd az MPOA egy oldalát (AP = -0,5 mm, ML = -0,6 mm, DV = -6,7 és -7,7 mm) céloztuk meg 100 nL retrográd AAV-vírussal (AAV-EF1a-jGCaMP8m-WPRE), mely mindkét szinten bejuttatásra került. Ezt követően egy optikai fiberkanült ültettünk be a PIL fölé (AP = -5,2 mm, ML = -2,6 mm, DV = -6,8 mm), ugyanazon oldalon, ahol a vírust az MPOA-ba injektáltuk. A kanüloket Duracryl segítségével rögzítettük.

Három héttel a műtét után az állatok felépültek, és viselkedési tesztnek vetettük alá őket. A PIL neuronok aktivitását R810 Dual Colour Multichannel Fiber Photometry System segítségével mértük. Az optikai fszál segítségével a kanült a fotometriás rendszerhez csatlakoztattuk, majd az állatt egy arénába helyeztük egy percig. Ezután egy ismeretlen hím Wistar patkányt engedtünk be az arénába. Az állatok öt percig szabadon interakciózhattak, miközben a PIL neuronok aktivitását rögzítettük. A viselkedést videóra vettük.

A 410 nm-es fényt használtuk, hogy mozgási zajt és műtermékeket rögzítsünk, míg a GCaMP 470 nm-es fény általi gerjesztésével mértük a PIL neuronok aktivitását.

Az adatokat RWD szoftverrel elemeztük, először simítást és mozgáskorrekciót végeztünk a kontroll adatok alapján a mozgási artefaktumok kiszűrésére. A PIL aktivitását összevetettük az állatok viselkedésével. A peri-event analízis 2 másodperccel a viselkedési elem megjelenése előtt kezdődött, majd 6 másodpercig tartott az aktivitás mérése. Elemzéseket végeztünk az állatok közötti fizikai érintkezés és az egymástól való eltávolodás során. Összesen 47 érintkezési és 28 mozgási eseményt rögzítettünk. Az eseményekhez Z-pontszámokat számoltunk, és ennek terület alatti görbéjét (AUC) elemeztük a viselkedési elem megjelenése utáni 5 másodpercre, illetve az azt megelőző 2 másodpercre.

c-Fos kísérletek

Az állatok, melyek korábban stimuláló DREADD-okat kódoló AAV-val injektáltuk (n = 8), két csoportra oszlottuk: a fele CNO-t kapott, míg a másik fele kontrollként hordozóanyagot. Ezt követően az állatokat két órára izoláltuk, majd transzkardiális perfúzió estek át.

Azok az állatok, melyekben gátló DREADD-ek expresszódtak a PIL neuronjaiban (n = 8), szintén két csoportra osztottuk: fele CNO-t, másik fele hordozóanyagot kapott intraperitoneálisan. A CNO vagy a hordozóanyag beadása után a rezidens-betolakodó tesztet végeztük 30 percig.

Az agyakat összegyűjtöttük, és koronális metszetekre vágtuk 40 µm vastagságban. A c-Fos immunfestést nyúl anti-c-Fos ellenanyaggal végeztük 1:3000-es hígításban, majd azt immunperoxidáz reakcióval vizualizáltuk.

Kis nagyítású mikroszkópos képeket készítettünk a PIL-ről és annak összes célterületéről mindkét oldalon. A c-Fos-pozitív sejteket az ImageJ program segítségével számoltuk meg. A statisztikai elemzéshez mindkét agyi oldalt átlagoltuk. A statisztikai szignifikanciát kétutas varianciaanalízissel (ANOVA) vizsgáltuk, amelyet Šidák poszthoc teszt követett.

Viselkedési protokollok

Az állatok izolációja

A szociális izoláció hatásának vizsgálatához hím állatokat páros vagy egyéni elhelyezésben tartottunk 2 héten át. Ezt követően viselkedési teszteket végeztünk. Az állatokat szociális interakciónak vetettük alá nyitott arénában, valamint saját ketrecben rezidens-betolakodó tesztet hajtottunk végre az agresszió mérésére.

Clozapine-N-oxide kezelés

A Clozapine-N-oxide-ot (CNO) alkalmaztuk ligandumként a DREADD-et expresszáló neuronok manipulálására. Az állatoknak intraperitoneálisan adtuk be a CNO-t (0,3 mg/kg testsúly, 5%-os DMSO-ban oldva desztillált vízben, 1 ml/kg). Kontrollként 5%-os dimetil-szulfoxid (DMSO) oldatot alkalmaztunk desztillált

vízben (1 ml/kg). Lokális CNO-injekció intracerebrális kanülön keresztül történt, az előzőleg említett oldat 1:333-as hígításából 100 nl mennyiséget injektáltunk.

Affiliatív viselkedések tesztelése

Az affiliatív viselkedés vizsgálata párban tartott állatokon zajlott. A viselkedési teszt előtt 24 órával az állatokat izoláltuk, hogy elősegítsük a szociális interakciókat a teszt során. A kísérlet előtti napon az állatokat hozzászoktattuk az üres open-field arénához (40 × 80 cm). A kísérlet három napig tartott: az első napon a hordozóanyagot adtuk be; a második napon CNO-t alkalmaztunk a neuronok manipulálására, majd két napos pihenő következett. Majd a harmadik kísérleti napon megismételtük a tesztet kontroll injekció adásával. Az arénában az állatok szabadon interakcióba léphettek egymással, 10 perc videófelvétel készült, melyet később elemeztünk

A viselkedést manuálisan értékeltük a SOLOMON coder segítségével. Az elemzett viselkedéselemek a következők voltak: anogenitális szaglás (az állat partnerének anogenitális régiójának szaglása), nem-anogenitális szaglás (más testrész szaglása), szociális tisztogatás (orral finoman érintés és nyalogatás), üldözés (a partner követése), valamint mounting (mellső lábaikat a partnerre helyezték).

Az agresszió tesztelése

Az agresszió mérésére rezidens-betolakodó tesztet alkalmaztunk. A szociális interakciós teszthez hasonlóan a kísérlet három napos volt: az első napon kontroll oldatot kaptak az állatok, majd egy hasonló méretű ismeretlen hím patkányt helyeztünk a ketrecbe, ami agresszív reakciót váltott ki. Másnap CNO-t kaptak az állatok, és a teszt megismétlődött. Két nap pihenő után a kontroll injekció is megismétlődött. A viselkedésről 30 perc videófelvétel készült, amit később elemeztünk.

A viselkedési mintázatokat manuálisan értékeltük a SOLOMON coder segítségével, beleértve az anogenitális szaglást, nem-anogenitális szaglást, pozitív érzelmi töltetű közvetlen érintkezést (pl. szociális tisztogatás, barátságos mounting, side-to-side kontaktus) és agresszív viselkedést. Az agresszív viselkedést tovább bontottuk domináns mountingra (felülkerekedés, amikor az állat leteperi a partnerét), verekedésre és harapásra.

4. Eredmények

A PIL-neuronok agyi kivetülési mintázata

A PIL projekcióinak vizsgálatához anterográd nyomjelző anyagot (BDA) injektáltunk a PIL-be, amit a PIL-neuronok felvették, majd axonterminálisaik felé továbbították, ezáltal megjelölve azokat. Ezt követően a BDA-t peroxidáz eljárással detektáltuk. A PIL-ből kiinduló rostok legnagyobb sűrűségét a mediális preoptikus területen (MPOA) találtuk. Ezen kívül rostterminálok jelenlétét figyeltük meg az infralimbikus kéregben (ILC), a laterális septumban (LS), a mediális preoptikus területen (MPOA), a hipotalamikus paraventrikuláris magban (PVN), a mediális amygdala területén (MeA), a dorsomedialis hipotalamikus magban (DMH), a periaqueductalis szürkeállomány ventrolaterális részében (VLPAG), valamint a laterális parabrachialis magban (PBL).

A PIL-neuronok szerepe az affiliatív viselkedésben

Annak érdekében, hogy meghatározzuk a PIL-neuronok hatását az affiliatív viselkedésre hím patkányokban, stimuláló vagy gátló DREADD-expresszálo adeno-asszociált vírust (AAV), illetve kontroll vírust (pAAV-hSyn-hM3D(Gq)-mCherry, pAAV-hSyn-hM4D(Gi)-mCherry vagy pAAV-hSyn-mCherry) injektáltunk a PIL-be. A viselkedési tesztek során tíz perc viselkedést rögzítettünk, és különálló szociális viselkedési elemeket elemeztünk. A PIL-neuronok kemogenetikai stimulációja megnövelte a szociális tisztogatás (social grooming) időtartamát a kontroll napokhoz képest, amikor csak a kontroll oldatot injektáltuk míg a PIL-neuronok kemogenetikai gátlása jelentősen csökkentette a szociális tisztogatás időtartamát a kontroll napokhoz viszonyítva. Kontrollként olyan vírust is injektáltunk, amely nem expresszált DREADD-et, hogy ellenőrizzük, hogy a CNO injekció önmagában befolyásolja-e a viselkedést. A CNO injekció DREADD-expresszió nélkül nem okozott változást az állatok viselkedésében.

A PIL–MPOA pálya szerepe az affiliatív viselkedésben:

A PIL–MPOA pálya vizsgálatához először a MPOA-ba egy retrográd módon terjedő, Cre-rekombinázt expresszáló víruskonstruktumot injektáltunk. Ezt követően a PIL-be egy második vírusinjekciót adtunk, amely lehetővé tette, hogy a MPOA-ba kivételül PIL-neuronokat DREADD-expresszióval megjelöljünk. Ezután kemogenetikai manipulációval vizsgáltuk a megjelölt PIL-neuronok MPOA-ba vetülő axonjainak szerepét. A kemogenetikai gátlása jelentősen csökkentette a szociális tisztogató időtartamát a két kontrollcsoporthoz képest.

Egy másik megközelítéssel anterográd módon terjedő, stimuláló DREADD-et expresszáló vírust injektáltunk a PIL-be, és intracerebrális kanült ültettünk a MPOA fölé. Ez lehetővé tette, hogy szelektíven stimuláljuk a PIL-ből kiinduló és a mediális preoptikus neuronokhoz futó rostterminálokat. A PIL–MPOA pálya stimulálása jelentősen növelte a szociális tisztogató időtartamát.

A PTH2-t tartalmazó rostterminálok a PIL-ből szorosan kapcsolódnak a GABAerg MPOA-projekciós neuronokhoz

A MPOA GABAerg neuronjainak vizsgálatához egy transzgénikus egérvonalat alkalmaztunk, amelyben a fluoreszcens ZsGreen fehérje expresszálódik a GABAerg, vezikuláris GABA-transzporter (VGAT) pozitív sejtekben. A MPOA-ban jelentős mennyiségű PTH2-pozitív rostterminált azonosítottunk, továbbá, leírtuk a PTH2-immunoreaktív terminálisok szoros kapcsolódását a VGAT-pozitív GABAerg neuronokhoz. Eredményeink szerint a szociális interakciókra aktiválódó MPOA neuronok PTH2 receptor (PTH2R) expresszióját is mutatják. Ez a megfigyelés funkcionális kapcsolatokat jelez a PTH2 neuronok és a GABAerg MPOA neuronok között.

A szociális izoláció hatása a hím patkányok viselkedésére

A szociális izoláció hatásainak vizsgálatára felnőtt hím patkányokat 2 hétig izoláltunk. Ezt követően közvetlen szociális interakciós tesztet végeztünk, amely során egy ismerős hím patkányt helyeztünk be partnerként az arénába az affiliatív viselkedés

mérésére. Az agresszív viselkedést az állatok saját ketrecében értékeltük, amikor ebben helyezett ismeretlen hím fajtárral történő interakciókat vizsgáltunk két hét szociális izolációt követően. A szociális izoláció agressziót indukált, jelentős növekedést figyeltünk meg az agresszív viselkedés mértékében, ismerős állat esetében pedig az affiliatív viselkedések növekedését idézte elő az izoláció.

A szociális aktivitás alapján megjelölt PIL neuronok szerepe az agresszióban

Elsőként megállapítottuk, hogy a PIL neuronok c-Fos expressziót mutatnak, miután hím patkányok ismeretlen hím fajtárral lépnek interakcióba. Az agresszióban betöltött szerepük vizsgálatához szükséges volt kizárólag azoknak a PIL neuronoknak a szelektív megjelölése, amelyek szociális interakciókra aktiválódnak. Ezt a célt a vGATE rendszer PIL-be történő integrálásával értük el, amely lehetővé tette a rezidens-betolakodó teszt során c-Fos-t kifejező PIL neuronok aktivitásfüggő megjelölését stimuláló vagy gátló DREADD-ekkel.

A szociális aktivitás alapján megjelölt PIL neuronok gátlása jelentősen megnövelte az agresszió időtartamát a két kontrollnaphoz képest, miközben csökkentette a pozitív valenciájú közvetlen érintkezések időtartamát. Az agresszió kontextusában további elemzést végeztünk annak érdekében, hogy azonosítsuk, mely agresszív viselkedési formák változtak. A domináns mounting és a verekedés jelentős növekedést mutatott a PIL neuronok kemogenetikai gátlását követően, ezzel szemben az agresszív viselkedés jelentősen csökkent azoknál az állatoknál, akiknél a szociális aktivitás alapján megjelölt PIL neuronokat kemogenetikailag stimuláltuk.

A c-Fos módszert használtuk a neuronális aktivitás felmérésére a szociális aktivitás alapján megjelölt PIL neuronok kemogenetikai manipulációját követően. Az első kísérletben a neuronális aktivációt CNO injekció hatására mértük szociális interakció hiányában. Az állatokat korábban olyan DREADD-del injektáltuk, amely stimuláló receptorokat expresszál. Ezt követően az állatok CNO-t vagy kontroll oldatot kaptak, majd kétórás izolációt követően perfundáltuk őket. A vizsgálathoz c-Fos immunfestést végeztünk az agytörzsi szakaszokon, hogy megjelenítsük a neuronális aktivitást a PIL-ben és a céltérségekben. A PIL-ben fokozott c-Fos

expressziót találtunk a PIL neuronok kemogenetikai stimulációját követően, továbbá a PIL serkentése kiváltotta az egyik legfontosabb célterületének, az MPOA-nak az aktiválódását is.

Egy külön kísérletben azt vizsgáltuk, hogy a PIL neuronok kemogenetikai gátlása képes-e csökkenteni a c-Fos expressziót a PIL célterületein. Azon állatokban, amelyek gátló DREADD-eket expresszáltak, CNO-t vagy kontroll oldatot injektáltunk, majd rezidens-betolakodó tesztnek vetettük alá őket. A PIL neuronok gátlása a PIL és az MPOA neuronok c-Fos expressziójának csökkenéséhez vezetett szociális interakció mellett is. Ez az eredmény arra utal, hogy a PIL neuronok funkcionális bemenetet biztosíthatnak a MPOA neuronjainak a számára a szociális interakciók során.

A PIL–MPOA pálya szerepe az agresszióban

Vizsgáltuk a PIL–MPOA pálya szerepét az agresszív viselkedés szabályozásában felnőtt hím patkányok közötti interakciók során. A korábbi kísérlethez hasonlóan a PIL-t olyan AAV-vel céloztuk meg, amely stimuláló vagy gátló DREADD-eket expresszált (pAAV-hSyn-hM3D-mCherry vagy pAAV-hSyn-hM4D-mCherry). Az MPOA fölé intracerebrális kanülöket ültettünk be, lehetővé téve a CNO lokális adagolását, így kizárólag a PIL-ből a MPOA-ba futó rostvégeket manipulálva.

A PIL–MPOA pálya kemogenetikai manipulációját követően rezidens-betolakodó tesztet végeztünk az állatokon. A pálya gátlása az agresszív viselkedés fokozódásához és a pozitív valenciájú kontaktusok időtartamának csökkenéséhez vezetett. Ezzel ellentétesen, a PIL–MPOA pálya stimulációja a pozitív valencia időtartamának növekedését, valamint az agresszió jelentős csökkenését eredményezte.

A MPOA-ba vetülő PIL-neuronok aktivációja szálfotometriás mérése szociális interakció során

Először egy retrográd AAV-t fecskendeztünk be az MPOA-ba, ahol a vírus a rostokon visszafelé haladva kifejezte a kalciumszenzort (gCAMP8). Ezt követően egy optikai kanült ültettünk a PIL fölé, hogy mérni tudjuk a PIL–MPOA pálya aktivációját a szociális viselkedés során.

A vizsgálat során közvetlen szociális tesztet alkalmaztunk, amelyben a kísérleti állat szabadon mozoghatott és interakcióba léphetett egy társal öt percen keresztül. A PIL aktivitását folyamatosan rögzítettük a viselkedési teszt alatt. Jelentős aktivitásnövekedést tapasztaltunk, amikor az állatok érintkeztek egymással, míg az aktivitás szignifikánsan csökkent, amikor az állatok eltávolodtak egymástól. Eredményeink arra utalnak, hogy a MPOA-ba vetülő PIL neuronok aktivációját a társállattal való érintkezésből eredő szomatoszenzoros bemenetek váltják ki.

5. Következtetések

Azonosítottunk egy új, a posterior intralaminaris thalamikus magból (PIL) a mediális preoptikus területre (MPOA) futó idegpályát, amely szomatoszenzoros szociális információt közvetít, és az affiliatív, valamint agresszív viselkedések szabályozásában játszik szerepet. Feltérképeztük a PIL efferens kapcsolatait, és jelentős vetületet találtunk az MPOA-ban. Kimutattuk, hogy a PTH2-t tartalmazó PIL-neuronok közvetlenül érintkeznek a vGAT-pozitív, GABAerg MPOA-neuronokkal. A szociális interakciók során jelölt PIL-neuronok kemogenetikai stimulációja az MPOA-neuronok aktivációját eredményezte, ami arra utal, hogy a PIL–MPOA projekció képesek aktiválni MPOA-célsejtjeiket. Funkcionális kísérleteket is végeztünk annak vizsgálatára, hogy a PIL–MPOA pálya milyen hatást gyakorol az affiliatív és az agresszív viselkedésre. A PIL-neuronok kemogenetikai úton történő stimulálása fokozta az affiliatív viselkedést (social grooming), míg gátlásuk ellentétes hatást váltott ki. Továbbá kimutattuk, hogy a szociális izoláció agresszív viselkedést idéz elő a szomatoszenzoros szociális bemenetek hiányán keresztül. Aktivitásfüggő jelölést végezve agresszív hím patkányok PIL-neuronjain, ezen neuronok szelektív gátlása az agresszió időtartamának növekedését eredményezte. A PIL–MPOA pálya agresszióra gyakorolt szabályozó hatását kemogenetikai eszköztárral is vizsgáltuk: a pálya stimulálása csökkentette, míg gátlása növelte az agresszió mértékét. Emellett a PIL-neuronok gátlása agresszív viselkedés közben az MPOA-ban a c-Fos expresszió csökkenéséhez vezetett. A PIL-ből az MPOA-ba vetülő neuronok fiziológias körülmények közötti aktivitásának vizsgálatára rost-fotometriás méréseket végeztünk, amelyek kimutatták, hogy ezen PIL-neuronok aktiválódnak, amikor az állatok közvetlen fizikai kontaktusba kerülnek egymással. Eredményeink összességében azt jelzik, hogy a PIL–MPOA pálya a pozitív érzelmi töltetű szociális interakciókat fokozza.

6. Saját publikációk jegyzéke

A disszertációhoz kapcsolódó közlemények:

1. **Láng T.**, Dimén S, Oláh S, Puska G, Dobolyi A. (2024) Medial preoptic circuits governing instinctive social behaviours, *iScience* 27:110296. Doi: 10.1016/j.isci.2024.110296. (Q1, D1)
2. Csikós V†, Dóra F†, **Láng T†**, Darai L, Szendi V, Tóth A, Cservenák M, Dobolyi A. (2024) Social isolation induces changes in the monoaminergic signalling in the rat medial prefrontal cortex. *Cells* 13(12):1043. [Doi: 10.3390/cells13121043](https://doi.org/10.3390/cells13121043). †: **azonos hozzájárulás.** (Q1)
3. Keller D, **Lang T.**, Cservenák M, Puska G, Barna J, Csillag V, Farkas I, Zelena D, Dóra F, Küppers S, Barteczko L, Usdin TB, Palkovits M, Hasan MT, Grinevich V, Dobolyi A. (2022) A thalamo-preoptic pathway promotes social grooming in rodents. *Current Biology* 32:4593-4606. Doi: 10.1016/j.cub.2022.08.062. (Q1, D1)

ΣIF:18,5

Benyújtott kézirat a disszertáció témájában:

Tamás Láng. Botond B. Drahos, Fanni Dóra, Dávid Keller, Ingrid Csordás, Vivien Szendi, Gina Puska, Valery Grinevich, Árpád Dobolyi (2025) Social Touch Suppresses Aggression via Thalamic Mechanisms bioRxiv 2025.08.23.670446; doi: <https://doi.org/10.1101/2025.08.23.670446>