

ELTE BTDK – Biológus Tudományos Diákköri Konferencia 2022

## *A colliculus superior multiszenzoros jelfeldolgozása*

A dolgozatot készítette:

**Bakacsi Anna Virág**

Biológus mesterszakos hallgató (II. évf.)

*Eötvös Loránd Tudományegyetem,*

*Természettudományi Kar,*

*Biológiai Intézet*



*Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet,*

*Hálózat és Viselkedés Neurobiológiai Kutatócsoport*



Témavezető:

**Dr. Mátyás Ferenc**

Kutatócsoport vezető

*Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet,*

*Hálózat és Viselkedés Neurobiológiai Kutatócsoport*

# Tartalomjegyzék

|                                                    |    |
|----------------------------------------------------|----|
| Tartalomjegyzék.....                               | 2  |
| Összefoglaló.....                                  | 3  |
| Rövidítésjegyzék.....                              | 4  |
| Bevezetés.....                                     | 5  |
| Multiszenzoros jelfeldolgozás .....                | 5  |
| A <i>colliculus superior</i> jelfeldolgozása.....  | 5  |
| A félelmi kondicionálásban betöltött szerep .....  | 7  |
| Célkitűzések.....                                  | 10 |
| Anyagok és módszerek.....                          | 11 |
| Kísérleti modell állatok.....                      | 11 |
| Sztereotaxiás műtétek .....                        | 11 |
| In vivo elektrofiziológiai elvezetések.....        | 11 |
| Perfúzió.....                                      | 11 |
| Metszet előkészítés.....                           | 11 |
| Mikroszkópia.....                                  | 11 |
| Eredmények.....                                    | 12 |
| Az SC glutamáterg sejtek sajátosságai .....        | 12 |
| Az SC -> PIL glutamáterg sejtek sajátosságai ..... | 12 |
| Az SC bemeneteinek eredete.....                    | 12 |
| Diskusszió.....                                    | 13 |
| Szerzői hozzájárulás .....                         | 14 |
| Irodalomjegyzék.....                               | 15 |
| Köszönetnyilvánítás .....                          | 16 |

## Összefoglaló

Egy különféle ingerekkel teli környezet megfelelő érzékeléséhez és az abban való biztonságos létezéshez agyunknak egyik alapvető feladata eldönteni, hogy a beérkező információk összetartoznak-e vagy külön forrásból érkeznek, továbbá megkülönböztetni a veszélyes ingereket a nem veszélyesektől. Mindez egy nagyon összetett folyamat, ugyanakkor az élőlény túlélése szempontjából elengedhetetlen, hogy a lehető legrövidebb idő alatt végbemenjen, és megfelelő viselkedésformát váltson ki az állatból. A *colliculus superior* (SC) egy igen ismert helyszíne a multiszenzoros jelintegrációnak, azonban az utóbbi években más, kognitív folyamatokkal, például a veleszületett félelmi viselkedések kiváltásával is kapcsolatba hozták. Azonban ezek az irodalmi adatok megosztóak a *colliculus* szerepével kapcsolatban. Dolgozatomban optogenetikai eszközök segítségével az SC potenciális szerepét vizsgálom egy már korábban beazonosított asszociációs félelmi tanulás során beaktiválódó pálya kapcsán. Extracelluláris soksejt aktivitás elvezetéseimmel bemutatom, hogy az SC glutamáterg sejtjei képesek lehetnek a félelmi tanuláshoz szükséges ingerek feldolgozására, továbbá ezek integrációjára és az információ megfelelő struktúrába való gyors továbbítására. Ezen kívül azt is megvizsgálom, hogy ezek, az SC glutamáterg sejtjeire érkező különböző ingerek milyen eredettel rendelkeznek. Mindezzel dolgozatom hozzájárul az SC jeltársító sajátosságának és a félelmi tanulás során betöltött szerepének pontosabb megismeréséhez.

## Rövidítésjegyzék

|    |                                            |
|----|--------------------------------------------|
| SC | <i>culliculus superior</i> /felső ikertest |
|    |                                            |
|    |                                            |
|    |                                            |
|    |                                            |
|    |                                            |
|    |                                            |
|    |                                            |

## Bevezetés

### Multiszenzoros jelfeldolgozás

A minket körülvevő, hangokkal, vizuális ingerekkel, illatokkal és más érzetekkel teli, multimodális környezet érzékelése idegrendszerünk egyik igen fontos feladata. A technológia (különösen a telekommunikáció) gyors fejlődésével egy egyre stimulálóbb környezetet teremtünk magunk köré. Egy ilyen inger-gazdag világban való biztonságos létezéshez pedig elengedhetetlen, hogy ismerjük az egyes modalitások egymásra és a figyelemre gyakorolt hatását, illetve az azok feldolgozását végző agyi hálózatok működését. Agyunknak képesnek kell lennie felismerni a fontos ingereket, elkülöníteni azokat a kevésbé lényegesektől, megkülönböztetni a veszélyeseket a motiválótól és/vagy párosítani az összetartozóakat. Ezek a folyamatok a szenzoros feldolgozás fontos részét képezik és jelen lehetnek minden olyan élőlényben, amely egynél több érzékszervvel képes a környezete észlelésére. Azt a jelenséget, amikor az agyunk a különböző modalitású szenzoros ingereket egyesíti multiszenzoros jelintegrációnak nevezzük. Korábban a jelenséget automatikus és különálló folyamatnak hitték, azonban az utóbbi évtizedekben egyre több kutatás mutat rá arra, hogy a multiszenzoros jelintegráció a jelfeldolgozás különböző szintjein is megjelenhet (Stein, 2012). Az is kiderült, hogy a folyamat modulálható a figyelmi állapot függvényében, a különböző modalitások egymásra is hatással lehetnek, erősíthetik vagy gyengíthetik is egymást (Choi és mtsai, 2018; Talsma és mtsai, 2010).

Predictive coding and multisensory integration: an attentional account of the multisensory mind:

Thus, it appears that the automaticity of multisensory integration depends on a variety of factors: If the individual stimuli in this bottom-up stream are in themselves salient enough, they can be integrated; specifically when they are approximately matched in time and location with a stimulus processed in another modality. If they are not salient enough, additional prioritizing by an attentional mechanism may be needed (Talsma et al., 2010), suggesting that multisensory integration involves both top-down and bottom-up processes.

If multisensory integration is the result of a complex interaction between top-down and bottom-up processes, then it should take place at multiple stages of processing.

### A *colliculus superior* jelfeldolgozása

A multiszenzoros jelintegráció egyik legkutatottabb helyszíne – az agykéreg alatti területek közül – a *colliculus superior* (SC) vagy magyarul a felső ikertest. Az SC egy evolúciósan konzervált struktúra, mely minden emlős agyában megtalálható. Ezen felül egy hasonló felépítésű és funkciójú terület a többi gerinces élőlény agyában is jelen van, azonban ezeknél

a fajoknál a struktúrát a „*colliculus superior*” helyett a „*tectum opticum*” (OT) névvel illetik (Suzuki és mtsai, 2019).

Maga az SC egy rétegekre bontható magpár, mely az emlős középagy boltozatos tetejét képezi. A rétegek mind humán, mind pedig rágcsálókban függőlegesen egymáson fekvé helyezkednek el és mindkét fajban nagyjából hetet különíthetünk el belőlük (May, 2006). A rétegek nemcsak sejttípus, de funkció és sejttípus szerint is elkülöníthetőek egymástól. A felsőbb rétegek sejteire közvetlenül a retinából érkezik vizuális információ, melyet aztán a talamuszba, majd az agykéregbe és különböző kéreg alatti struktúrákba kapcsolnak tovább. Ezzel szemben a mélyebb rétegekben található sejtekre többféle agyterület küld multimodális eredetű információt. Ezek három fő csoportba sorolhatóak be; egy felső, egy közbelső és egy alsó rétegeket magába foglaló csoportba. Ezek közül mindhárom rendelkezik egy sejttestekből álló és egy főként axonkötegekkel jellemezhető alrégióval is. A fő rétegek száma fajonként változhat, de a felső és alsóbb rétegek általánosan jól elkülöníthetőek, funkció és működés szerint is. A felső réteg szállítja a látással kapcsolatos ingereket, itt futnak a vizuális pálya rostjai. A réteg tartalmaz úgynevezett „wild field” vagyis széles receptív mezővel rendelkező idegsejteket, amelyek funkcióját a gyorsan mozgó préda detektálásával hozták kapcsolatba (Hoy és mtsai, 2019). Az alsóbb rétegek funkciója kevésbé inger specifikus, ezek sejteire már nem csak vizuális információ érkezik, hanem más modalitásból származó, például auditoros vagy szomatoszenzoros inger is (Cang és mtsai, 2018). Ugyancsak ezek a mélyebb rétegek tartalmazznak olyan „narrow field” vagyis szűk receptív mezőjű sejteket is amelyek képesek befolyásolni a vizuális információn alapuló motoros kimeneteket (Hoy és mtsai, 2019). Ezek a sejtek irányíthatják a szemek orientációját főemlősökben, de kisebb emlősökben, például rágcsálókban, akár a fej vagy az egész test helyzetére is befolyással lehetnek (Gandhi és Katnani, 2011). De ezen kívül a SC szerepét megemlíti még magasabb mentális folyamatokkal, például döntéshozatallal kapcsolatban is (Crapse és mtsai, 2018). A SC sejteiről minden réteg kapcsán elmondható, hogy a serkentő, glutamaterg típusú idegsejtek mellett gátló, GABAerg típusúak is lehetnek, melyek szintén részt vehetnek a colliculáris kapcsolatok felépítésében (Gale és Murphy, 2014).

A SC felszálló (afferens), vagyis a gerincvelő felől érkező bemeneteit az agytörzsből és közvetlenül a retinából, továbbá a IC-ből kapja, melyeket a megfelelő TH magokra és az agykéregbe továbbít. Leszálló (efferens), tehát a gerincvelői magok irányába futó rostjai pedig legnagyobb részben az elsődleges és másodlagos hallókéregből és a TH-ból erednek. Ezen felül a szimmetrikusan elhelyezkedő magpár két tagja egymás területét is, tehát az ellenoldali SC-t is úgyszint innerválja.

### A félelmi kondicionálásban betöltött szerep

A félelmi asszociációs tanulás során bekövetkező asszociáció is egy fajta jelintegráció, mely a feltétlen és

feltételes ingerek társítása révén alakít ki emlényomokat. Az ehhez szükséges jelasszociáció színterének

korábban az amygdala (AMY) területét tartották, azonban 2020-ban Barsy, Kocsis és munkatársaik(2)

bemutatták, hogy a jeltársítás szinaptikusan akár már az AMY-t megelőző állomásokon is megtörténhet, a

poszterior intralamináris talamikus mag (PIL) calretinin-t expresszáló (CR+) sejtjeinek szintjén. Ezen

sejtek szenzoros bemeneteit a colliculus superior (SC) illetve inferior biztosíthatja. A SC a retinából

érkező vizuális információ egyik elsődleges célpontja, de ezen túlmenően képes másfajta modalitásokat is

átkapcsolni sejtjein. Az ide érkező ingerek pedig egy a külvilágról alkotott többdimenziós térkép alapján

idegzik be a SC sejtjeit(3). Mindez lehetővé teszi, hogy a SC ne csak, mint jelátkapcsoló struktúraként

létezzen, hanem részt vállaljon magasabb kognitív folyamatok

kivitelezésében is. Ezt támasztja alá az a számos funkció, amivel a SC sejtjeit és egyes területeit

kapcsolatba hozták. Ilyen például a szem és fej vagy akár az egész test orientációja(4), a figyelem

irányítása(5), döntéshozatal(6), továbbá a félelmi viselkedések kivitelezése is(7).

A multiszenzoros jelintegráció egyik legismertebb helyszíne az SC, azonban a struktúra retinális beidegzése miatt leginkább az audio-vizuális jelintegráló tulajdonsága kutatott. Azonban az utóbbi években gyűlemlő irodalmi adatok arra is rámutattak, hogy a struktúra

szerepe nem csak jelátkapcsolásra korlátozódik, hanem magasabb rendű folyamatok végrehajtásában is közre játszhat. Ilyenek például bizonyos félelmi viselkedésformák. Egy folyamatosan változó környezetben az adaptív tanulás képessége az egyik legalapvetőbb az élőlények számára. Azonban a tanulás egy időigényes folyamat, egy veszélyes környezetben pedig nem adaptív teljesen a nulláról kezdeni azt. Ezért az élőlény biztosabb túlélése és időtakarosság érdekében a szervezet bizonyos viselkedésformák (például!!) velünk születettek.

\*\*\*\*A félelmi tanulással kapcsolatban két SC-t érintő pálya lett azonosítva az elmúlt években, az SC-PIL-BLA, illetve az SC-PBGN-CeA pályák. Az irodalmi adatok azonban azt mutatják hogy az SC-PBGN-CeA pálya.....Így dolgozatomban az SC-PIL-BLA pályára összpontosítok.  
\*\*\*\*\* Ebben a cikkben mindkét pályát a looming-fear reactionnal hozták kapcsolatba!!!!\*\*\*\*\*Ezen belül is megoszlóak a szakirodalmi vélemények, hogy a pálya az SC melyik rétegéből érkezik. Egyes adatok szerint az SC felső rétege, annak is parvalbumin pozitív sejtjei biztosítják a bemenetek nagy részét, mások szerint a mélyebb rétegek felelősek a félelmi viselkedésformák (egér modellben freezing és menekülés) kiváltásáért. Illetve egy frissen megjelent tanulmány azt is bemutatta, hogy mindkét réteg sejtjei képesek ezen félelmi viselkedésformák megnyilvánulását okozni, de míg a felsőbb rétegek aktiválása az állat ledermedését eredményezi addig a mélyebb rétegek aktiválása menekülési viselkedést váltottak ki az állatban ().

A 2020-as BTDK-n, majd 2021-es OTDK-n bemutatott tudományos diákköri dolgozatomban, melyben az *inferior* és a *superior colliculus*-ok illetve a talamusz kapcsolatát vizsgáltam viriális és immunhisztokémiai módszerekkel arra a megállapításra jutottam, hogy az SC mélyebb rétegei nagyobb axonhálózattal látják el a poszterior intralamináris talamikus magot (PIL).itív, amigdalába vetítő sejtjei bizonyítottan szerepet játszanak az asszociációs félelmi tanulás során (Barsy és kocsis et al.). A dolgozatomban azt is bemutattam, hogy a mind az IC mind pedig az SC PIL CR+ sejtjeit behálózó idegsejtek lehetnek 2-es típusú veziikuláris glutamát transzportert kifejező (vGluT2), illetve GABAerg sejtjei is képesek lehetnek axonokat küldeni a PIL CR+ sejtjeire.

Az SC hatalmas mérete és a struktúra sokszínűsége, illetve a róla szóló irodalom megosztottsága miatt fontosnak találtuk, hogy tovább vizsgáljuk ennek az SC<sub>mély rétegi sejt</sub>-PIL<sub>CR+</sub> pályának az információtartalmát, illetve hogy megfigyeljük milyen módon képes modulálni a rajta átkapcsoló ingereket.

Az SC működésének összetettségéből adódó másik probléma hogy az SC nemcsak a retina és az agytörzsi magok által kap szenzoros információkat, hanem rendelkezik agykérgi visszacsatolással is (). Ez abban bonyolítja az SC vizsgálatát, hogy a kísérletek során képesnek kell legyünk elkülöníteni ezt a két külön pályáról érkező aktivitást és meghatározni, hogy melyik lehet képes információt közvetíteni a PIL CR+ sejtjeire az asszociációs félelmi tanulás során.

Idei dolgozatomban ezeknek a kérdéseknek a megválaszolására törekedtem.

Ennek érdekében génmódosított egerek superior colliculusát vizsgáltuk szilikon elektródákkal in vivo különböző stimulusok hatására.

## Célkitűzések

- Megvizsgálni a colliculus superior glutamáterg sejtjeinek különböző modalitásokra, továbbá azok szimultán jelenlétére adott válaszát és jelintegráló sajátosságait
- Meghatározni a colliculus superior szenzoros bemeneteinek eredetét (agykérgi vagy agytörzsi)
- Megvizsgálni, hogy a megfigyelt sejtek milyen információtartalommal képesek ellátni az asszociációs félelmi tanulásban résztvevő PIL sejteket, illetve szintén meghatározni, hogy ez az információ agykérgi vagy agytörzsi eredetű-e.

## Anyagok és módszerek

Kísérleti modell állatok

Sztereotaxiás műtétek

In vivo elektrofiziológiai elvezetések

Perfúzió

Metszet előkészítés

Mikroszkópia

## Eredmények

Az SC glutamáterg sejtek sajátosságai

Az SC -> PIL glutamáterg sejtek sajátosságai

Az SC bemeneteinek eredete

sc mérés -> vglut sejtek multiszenzoros jellege (lehetne nézni vizuális ingert is)

ha elég nagy volt a beadási hely -> lehet azt mondani hogy a többi vGAT sejt -> különbségek a két sejttípus között (ehhez vírus titer számítás és GABA festés kell)

PAIN pathways!! -> substrateP!!! (szállíthat-e egyáltalán fájdalomi infót az SC???)

## Diszkusszió

## Szerzői hozzájárulás

## Irodalomjegyzék

GALE, S. D. & MURPHY, G. J. (2014): Distinct representation and distribution of visual information by specific cell types in mouse superficial superior colliculus. *Journal of Neuroscience* **34**(40): 13458–13471. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2768-14.2014>

## Köszönetnyilvánítás

### Felmerülő kérdések

- lehet-e alvó állatból is ugyan olyan infókat (valósághű, életszerű a adatokat) kinyerni?
- Mennyire optimális alvó állatból vizuális infót elvezetni?

### Amire a méréseknél figyelni kellene:

- egy helyről jöjjön a hang!!!
- fülbedugás!! – headplate kéne
- két tag! – egy a pilből vissza, egy pedig lokálisan – ha lehet (van két kék lézer!!)

### Amire a dolgozat írásánál figyelni kellene:

- képek beillesztése a szövegbe -> egyrészt hogy ne töredezzon szét (vagyis inkább pdf.), másrészt hogy legyen is képenként legalább egy hivatkozás is rájuk!!
- 27.000 karakter szóközökkel együtt (A címdal, a tartalom- és rövidítésjegyzék, az összefoglaló, a szerzői hozzájárulás, az irodalomjegyzék és a köszönetnyilvánítás, illetve az ábrák és táblázatok tartalma nem számítanak bele a limitbe, minden egyéb igen (ábrafeliratok, függelék és szövegdozok tartalma is))
- Az ábrák és táblázatok együttes száma legfeljebb 12 lehet.
- régebbi saját munkára érthetően utalni kell!!!!
- A dolgozat fogalmazásánál törekedjenek arra, hogy a szerző(k) egyéni kutatómunkája egyértelműen azonosítható legyen, világosan különüljön el a kutatást végző csoport többi tagjának munkájától. Ahol csak lehet, használjanak egyes szám első személyű megfogalmazást, illetve több szerző esetén a szövegben jelöljék az egy-egy szerző által elvégzett munkát.