

HŐMÉRSÉKLETKAPCSOLT RITMUSKELTÉS ÉS AVERZÍV JELFELDOLGOZÁS AZ EGÉRTALAMUSZBAN

TÉZISFÜZET

KOCSIS KINGA

KONZULENSEK:

PROF. DR. ULBERT ISTVÁN
DR. MÁTYÁS FERENC



PÁZMÁNY PÉTER KATOLIKUS EGYETEM
INFORMÁCIÓS TECHNOLÓGIAI ÉS BIONIKAI KAR
ROSKA TAMÁS MŰSZAKI ÉS TERMÉSZETTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

BUDAPEST, 2021.

Doktori munkám azon kutatási irányvonalhoz szolgál eredményekkel, mely kiemeli, hogy a talamusz nem csupán az agykéreg passzív reléje; különböző afferensei és a helyi fiziológiai tényezők megváltoztathatják adaptív kommunikációját az előagyi struktúrákkal, így végső soron magát a tanulást és a viselkedésbeli plaszticitást.

Tanulmányaim első részének fókuszában egy elsődleges talamikus mechanizmus, az alvási orsó oszcilláció keltése áll, míg a második rész az amigdalavetítő talamikus magok affektív jelfeldolgozását tárgyalja.

1. RÉSZ Az alvási orsók hőmérsékletkapcsolt dinamikájának vizsgálata

1.1. A tanulmány háttere és céljai

Míg az alvás minősége nagymértékben függ a hőviszonyoktól, az alvás szabályozása pedig szorosan kapcsolódik a hőszabályozáshoz (Krauchi & Deboer, 2010), az alvás alapját képező ideghálózati aktivitás hőmérsékletfüggését szórványosan tárgyalja az irodalom.

Emlősfajokon végzett kísérletek kimutatták, hogy a test és az agy hőmérséklete még egyetlen alvási periódus alatt is változik. A NREM (non-rapid eye movement, nem gyors szemmozgásos) alvás az agy és a test hőmérsékletének csökkenésével jár, ám a REM során az agy hőmérséklete számos szárazföldi faj esetében paradox módon növekszik (Kawamura & Sawyer, 1965; Kovalzon, 1973; Lyamin és *mtsai*, 2018). Ezenkívül a maghőmérséklet egyénenként (Sund-Levander és *mtsai*, 2002), illetve a környezeti hőmérséklet változásával (Alföldi és *mtsai*, 1990) is eltérhet.

Jól ismert, hogy a hőmérséklet befolyásolja a biológiai folyamatok sebességi rátáját; az agyi hő folyamatos újraelosztása ellenére az idegsejtek aktivitása is a hőmérséklet függvénye. A testhőmérséklet változása magával vonhatja az agyi állapot fluktuációit (Whitten és *mtsai*, 2009); az agy hőmérsékletének 1 °C-os változása elegendő ahhoz, hogy az EEG frekvenciáit 10 Hz felett 1 Hz-cel elmozdítsa (Deboer & Tobler, 1995). A hőmérsékletfüggő változások az agyi oszcillációkban, melyek szinkronizált idegpopulációk aktivitását tükrözik, a hőmérséklet hálózati működésre kifejtett drasztikusabb következményeire mutathatnak.

A talamokortikális oszcillációk között az alvási orsók 7-15 Hz frekvenciájú, 1-3 s hosszúságú átmeneti ritmikus aktivitások az alvás korai szakaszaiban. A serkentő talamokortikális (TC) vetítő és a gátló retikuláris neuronok kölcsönös ritmikus interakciója révén lépnek fel, amely agykérgi hálózati tevékenységet is bevon (Steriade és *mtsai*, 1985). Az orsókról számos tanulmány született az alvás minőségével, a memóriakódolással és a mentális egészséggel kapcsolatban. Ugyanakkor ezek az átmeneti oszcillációk kifejezetten érzékenyek az emlős test hőváltozásaira. Az orsófrekvencia többek között erősen függ a menstruációs ciklus folyamán jelentkező fiziológias testhőmérséklet-változásoktól (Driver és *mtsai*, 1996). Az orsóaktivitás cirkadián modulációt is mutat: legnagyobb denzitását a szokásos lefekvésési időben, a maghőmérséklet maximális

csökkenésénél éri el (Dijk & Czeisler, 1995). Mindezek nyomán elengedhetetlen annak további tanulmányozása, hogy az orsók dinamikáját hogyan befolyásolják a test és az agy hőmérsékletének változásai.

Számos poikilotermikus állatfaj kompenzációs mechanizmusokat alkalmaz annak érdekében, hogy idegi oszcillátorai robusztusak legyenek a környezeti hőmérsékletváltozás kihívásaival szemben (Tang és *mtsai*, 2012). Az, hogy létezik-e hasonló mechanizmus az emlősök talamokortikális rendszerében, nem jól ismert.

Vizsgálataim ezen részében az alvási orsó oszcilláció és a változó mag-, illetve agyhőmérséklet közötti összefüggést vizsgáltam.

- Tanulmányoztam az orsók paramétereinek lehetséges változásait a mag, valamint az agy hőmérsékletének szelektív módosítása és mérése során (**1a cél**);
- Megvizsgáltam, hogy az orsóaktivitás hogyan viszonyul a spontán agyi hőmérsékletváltozások mikroarchitektúrájához (**1b cél**).

1.2. Kísérleti megközelítések

1a. Az első cél az orsó oszcillációk hőmérsékletfüggésének vizsgálata volt a globális hőszabályozás minimális interferenciájával. Ennek érdekében uretánaltatást alkalmaztunk, amelyről ismert, hogy rontja a hőszabályozási folyamatokat (Malkinson és *mtsai*, 1988), mégis mimikálja a természetes alvást (Clement és *mtsai*, 2008). Ily módon a maghőmérsékletet változtatni lehet külső melegítéssel közel fizioológiai határokra belül.

Lineáris, 16 csatornás NeuroNexus (Ann Arbor, MI, USA) szilíciumelektródokat használtunk szélessávú agyi aktivitás rögzítésére altatott C57BL/6 hím egerek ($n=8$) ventrális posteromediális (VPM) talamuszmagjából és az elsődleges szomatoszenzoros kéregből (**1.3.1.1/a** ábra). Az állatok testhőmérsékletét 34 és 39 °C között változtattuk (**1.3.1.1/b** ábra). Az agyhőmérséklet és a VPM aktivitás egyidejű méréséhez a kutatócsoportunkkal együttműködésben kifejlesztett ún. 'termoelektrodát' használtuk (Fekete és *mtsai*, 2017). Ez utóbbi rendelkezik elektrofiziológiai mérésre alkalmas kontaktokkal, valamint egy hőérzékeny platinaszállal, amely lehetőséget ad a környező szövet hőmérsékletének $<0,2$ °C abszolút pontossággal ($<0,002$ °C relatív pontossággal) történő mérésére. A felvételek 16 csatornás Intan RHD2132 erősítővel, s RHD2000 felvevőrendszerrel (Intan Technologies Llc.) készültek. Az agy hőmérsékletét kalibrálás után a termoelektrodában lévő platinaszál ellenállásának mérésével határoztuk meg (Fekete és *mtsai*, 2017) Keithley 6221 precíziós áramgenerátorral és Keithley 2000MM multiméterrel (Keithley Instruments Inc.). Az összes jelet 20 kHz-en mintavételeztük, kivéve az agy hőmérsékletét (5 kHz). Az elektrokardiogramot (EKG), valamint a végbél és az agy hőmérsékletét egyszerre rögzítettük az idegi aktivitással az Intan RHD2000 rendszer analóg bemeneteinek felhasználásával.

Az alvási orsókat félautomatikus műveletsorral detektáltuk a simított és szűrt (8-20 Hz), 1 kHz-re lemintavételezett talamik és kortikális soksejt-aktivitásból (multi-unit activity, MUA). Az orsók

frekvenciáját az automatikusan detektált cikluscsúcsok közötti átlagos intervallumból számoltuk. Az orsó prevalenciáját 2 perces időegységekben adtuk meg. A hőmérsékletet az adott orsó elején mértük. Az orsófrekvencia hőmérséklet-függésének megadásához a Q_{10} értékét számoltuk.

Az infralassú oszcillációk elemzése esetén a jelek egy 10 s hosszú ablakkal voltak simítva, s 10 Hz-re mintavételezve, míg az agyhőmérséklet 10 Hz-re volt interpolálva. A szigmateljesítményt a MUA-ból (6-18 Hz) határoztuk meg. A pulzusszámot az EKG jel detektált R-hullámai alapján számoltuk. A szigmaerő és a MUA az átlagértékekre volt normalizálva.

1b. Az agy hőmérséklete az összes állatban szorosan követte a maghőmérséklet változását (**1.3.1.1./c** ábra), s 2-3 °C-kal alacsonyabb volt annál, ahogyan ez altatott kisállatoknál várható (LaManna és *mtsai*, 1989). A termoelektrodban található platinafilamentumot ugyanakkor felhasználtuk a környező agyszövet szelektív felmelegítésére a négyvezetékes ellenállásmérő rendszer áramának növelésével (Fekete és *mtsai*, 2017).

Ezekben a kísérletekben a termoelektrodot a VPM-be vezettük le (n=7), miközben az állatok maghőmérsékletét stabilan ~36 °C-on tartottuk. Ezenkívül egy lineáris 16 csatornás elektrodot helyeztünk az ellenoldali VPM-be kontroll mérés céljából (**1.3.1.2./a** ábra). 2 perc mérőáramot (1 mA) és 2 perc melegítő áramot (4, 6, 8 mA) alkalmaztunk (**1.3.1.2./b** ábra) ciklikusan. Utóbbi fokozatosan növelte a helyi szöveti hőmérsékletet egészen 3 °C-ig, s ez a fűtő hatás viszonylag lokális maradt. A hőérzékelőn áthaladó egyenáram nem stimulálta a sejtaktivitást elektromosan (Fekete és *mtsai*, 2017), s nem zavarta meg az orsók előfordulását, valamint jellegüket sem (**1.3.1.2./c** ábra).

Minden elemzést saját felhasználásra írt MATLAB (MathWorks) kódokkal végeztünk.

1.3. Új tudományos eredmények

1.3.1. 1a tézis

Párhuzamos mélyagyi soksejtes elektrofiziológiai elvezetés, mag- és agyhőmérséklet-mérés segítségével uretánnal altatott egerekben kimutattam, hogy az alvási orsó frekvenciája növekszik, a hossza csökken a mag- és következőképpen az agyhőmérséklet emelkedésével. A helyi szövetmelegedés csak a fűtött oldalon reprodukálta a hatásokat, ami helyi, biofizikai mechanizmusra utal.

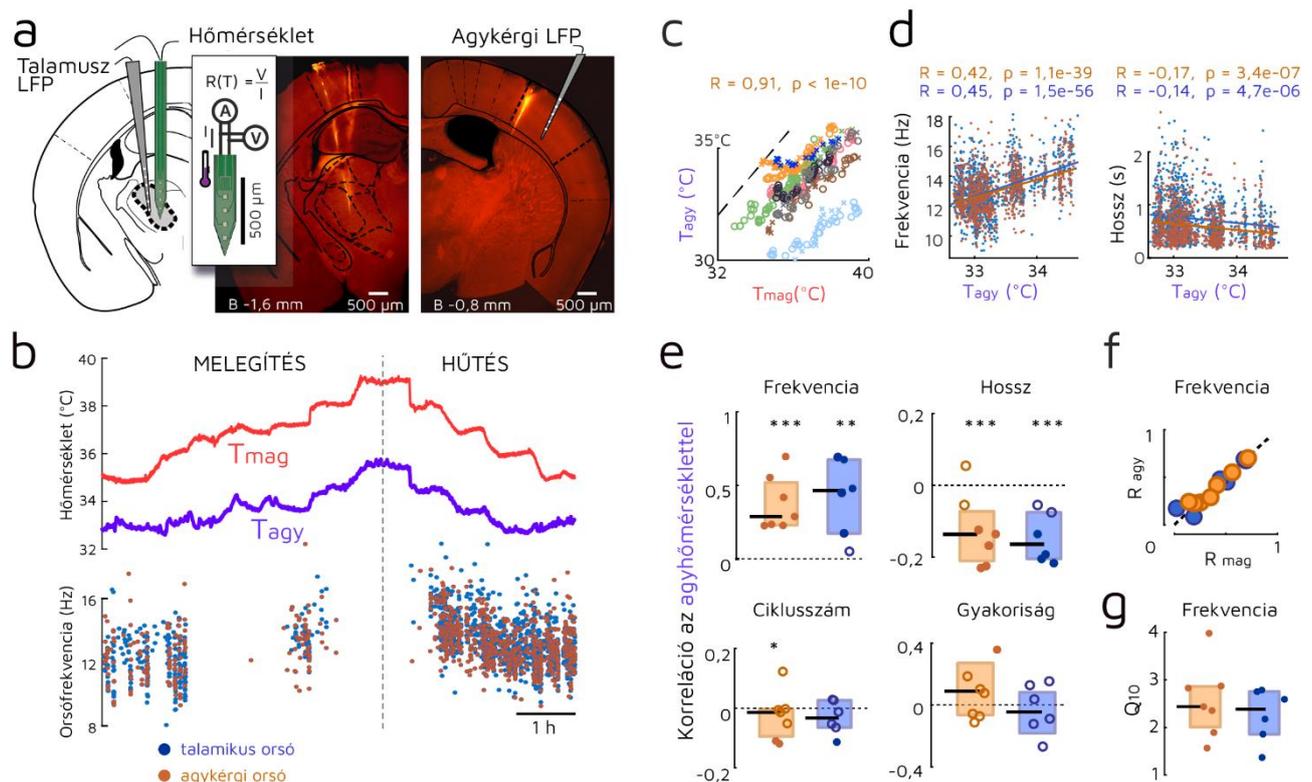
Kapcsolódó folyóirat-publikáció: [J1]

Részt vettem a kísérletek elméleti és módszertani megalapozásában, megtervezésében, valamint az akut elektrofiziológiai és hőmérsékletadatok gyűjtésében, elemzésében és értelmezésében. Részt vettem a kézirat kapcsolódó részének elkészítésében és revíziójában.

Kapcsolódó konferenciaelőadások: [C1] - [C6]

Bár az EEG ritmusok hőmérsékletfüggését korábban tárgyalták, ez az első olyan *in vivo* tanulmány, amely az extracelluláris idegsejt-aktivitás elvezetésével egy eszközön integrálja az agy hőmérsékletének mérését, valamint a helyi szövethevítést a mögöttes mechanizmus kutatására.

Az orsó frekvenciáját és hosszát mind a mag-, mind az agyhőmérséklet konzisztensen és fordítottan módosította az állatok többségében, a talamuszban és az agykéregben egyaránt (1.3.1.1./d-e ábra). Mivel az agy hőmérsékletének változásai követték a testhőmérsékletet, a vizsgált paraméterek a test testhőmérsékletével szintén korreláltak (1.3.1.1./f ábra). Az orsó frekvenciájának modulációja Q_{10} koefficienssel megadható; ez kifejezi a változás rátáját, amikor a hőmérséklet 10 °C-kal emelkedik. A talamikus orsóknál 2,44 mediánértéket mértünk (1.3.1.1./g ábra). Ez illeszkedik az agyi oszcillációk hőmérsékletfüggésére megadott tartományba, amely 2,3–2,7 (Deboer & Tobler, 1995), arra mutatva, hogy ez a ráta általános jelenség lehet a központi idegrendszerben.



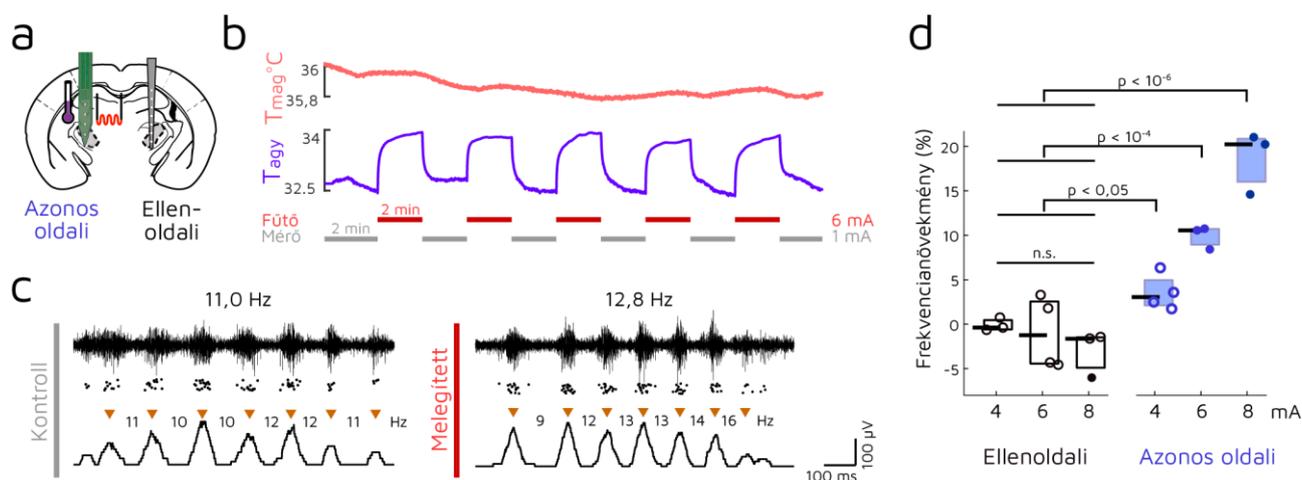
1.3.1.1. ábra: Az alvási orsó frekvenciája és hossza korrelál az agy- és testhőmérséklettel.

a/ Mezőpotenciál (LFP), soksejt-aktivitás (MUA) és hőmérséklet rögzítése a VPM talamuszmagból lineáris 16 csatornás elektróddal és a termoelektroddal (bal, fluoreszcens Dil festett elektródnymok). A hőmérsékletet a termoelektroddban lévő platinaszál négyvezetékes ellenállásmérésével határoztuk meg, 1mA mérőáramra kalibrálva (kiemelés). A kontroll LFP felvételeket az ellenoldali primer szomatoszenzoros kéregből (jobb elektródnym) vagy a VPM-ből lineáris 16 csatornás elektróddal vezettük el. **b/** Példa a test- (mag-) és az agyhőmérséklet változásaira melegítési és hűtési protokollok alatt. Az orsó frekvenciáját mind a mag-, mind az agyhőmérséklet modulálja a talamuszban és az agykéregben egyaránt. **c/** Mind a melegítési, mind a hűtési protokollok alatt a test testhőmérséklete szorosan korrelál az agy hőmérsékletével (n=8 egér). **d/** A talamikus és kortikális orsó frekvenciája (balra) korrelál az agy hőmérsékletével a **b** kísérletben. Az orsó hossza fordított összefüggésben áll az agyhőmérséklettel (jobbra). **e/** Az összesített korrelációs együtthatók azt mutatják, hogy az orsó frekvenciájának hőmérsékletfüggése szignifikáns hatás az állatok között. Az orsó időtartama negatívan modulált, míg az orsó ciklusainak száma és az orsó prevalenciája nem függ az agy hőmérsékletétől. *t*-teszt, *** p < 0,005, ** p < 0,01, * p < 0,05). **f/** Az orsó frekvenciájának modulációja konzisztens a mag- és az agyhőmérséklet esetén (a szaggatott vonal jelzi az egységességet). **g/** A Q_{10} középértéke az orsófrekvencia esetén illeszkedik a 2-3 biológiai tartományba.

Közzétett: (Csernai & Borbély & Kocsis és mtsai, 2019), 1. ábra / A, D-H panelein.

Amint az **1.3.1.2./d** ábrán látható, a növekvő fűtőáramok (4, 6 és 8 mA) alkalmazása a helyi orsófrekvencia fokozatos növekedését eredményezte a kontroll periódusokhoz képest. Az ellenoldali agyféltekén negatív hatás volt megfigyelhető, ami potenciálisan a hipotalamusz hőmérséklet-érzékeléséből vagy megváltozott vérellátottságból is származhat; ez azonban egy nagyságrenddel kisebb és nem szignifikáns változás volt a helyi szövethevülés hatásához képest. Az orsók időtartama szintén jelentősen (25.7 ± 3.8 %) csökkent a 8 mA-es áram esetében. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy az orsó frekvenciájának hőmérsékletfüggése nagyrészt lokális biofizikai folyamatoknak köszönhető, s nem globális modulációs mechanizmusoknak.

Az orsók frekvenciatartománya alkalmas LTP indukálására kortikális hálózatokban (Rosanova & Ulrich, 2005), így a frekvenciájában bekövetkező bármilyen változás valószínűsíthetően befolyásolja a szinaptikus potenciációt is. Abban az esetben, ha az orsók hozzájárulnak az ingerek időbeli "kötéséhez" (temporal binding), és ablakot hoznak létre szinkron tüzeléshez, az orsó frekvenciájának döntő szerepe van ebben. Alternatíva lehet, hogy az orsók által hordozott információt az egyes ciklusokban részt vevő idegsejtek különböző csoportjai határozzák meg. Az orsó frekvenciájának növekedését esetünkben az időtartam kisebb mérvű csökkenése kompenzálta: ez akár tükrözheti az orsókban kódolt információk robusztusságát az agy hőmérsékletével szemben.



1.3.1.2. ábra: A hőmérséklet helyi mechanizmussal befolyásolja az alvási orsókat.

a/ Az egyik féltekén a VPM/VPL talamuszt lokálisan melegítettük a termoelektóddal, míg az idegi aktivitást mind helyileg, mind az ellenoldali talamuszban rögzítettük (n=7 egér). Az ipsilaterális környező szövetek hőmérsékletét termisztorral is mértük. **b/** Az azonos oldali talamuszt 2 perc fűtési / 2 perc mérési ciklus révén melegítettük. **c/** Reprezentatív példák a talamikus orsókra melegítés hiányában és aközben (felső fekete folytonos jel: magas áteresztésű szűrt felvétel; pontok: detektált soksejt-aktivitás; háromszögek: detektált orsóciklusok a simított MUA felett). A soksejt-aktivitás és az orsó szerkezete zavartalan maradt fűtés hatására. **d/** 4 állat összesített eredményei a növekvő fűtőárammal fokozatos hatást mutatnak a talamikus orsó frekvenciáiban (üres körök: nem szignifikáns hatás; kitöltött körök: szignifikáns hatás; kétmintás t-próba $p < 0,01$ mellett; összesített szignifikancia: Mann-Whitney-Wilcoxon-teszt).

Közzétett: (Csernai & Borbély & Kocsis és mtsai, 2019), 2. ábra / A, C, D, F panelein.

1.3.2. Ib tézis

Uretánnal altatott egerekben kimutattam, hogy az agy hőmérsékletének mikrofluktuációi kapcsolnak az alvási orsó oszcillációkkal. Az agy hőmérsékletének nagyobb, REM-szerű periodikus emelkedése melletti kisebb hőmérséklet-változások az infralassú oszcillációnak (~0,02 Hz) felelnek meg.

Kapcsolódó folyóirat-publikáció: [J1]

Elvégeztem az első elemzéseket és összegyűjtöttem az előzetes bizonyítékokat az agy hőmérsékletének spontán mikrofluktuációival kapcsolatban, amelyeket az agy hőmérsékletének és az alvási orsóknak a komodulációja jellemez. Részt vettem az elemzés módszertani megalapozásában, valamint az akut elektrofiziológiai és hőmérsékleti adatok értelmezésében. Részt vettem a kézirat kapcsolódó részének elkészítésében és felülvizsgálatában.

Kapcsolódó konferenciaelőadások: [C1], [C2], [C5], [C6]

Az agyi hőmérséklet befolyásolja az agyhullámokat, ám az agyi állapotok spontán váltakozása is befolyásolhatja az agy hőmérsékletét. A fűtés és hűtés által kiváltott drasztikus változások mellett az agy hőmérséklete egy-két nagyságrenddel kisebb skálán spontán, periodikus fluktuációkat mutat (**1.3.2./a** ábra). Ezek az ingadozások az abszolút agyhőmérsékletre ülve, de attól függetlenül jelennek meg, és az orsózó periódusok kapcsolódnak ezekhez a megemelkedett agyhőmérsékleti szakaszokhoz. (ld. még: (Fekete és *mtsai*, 2017).

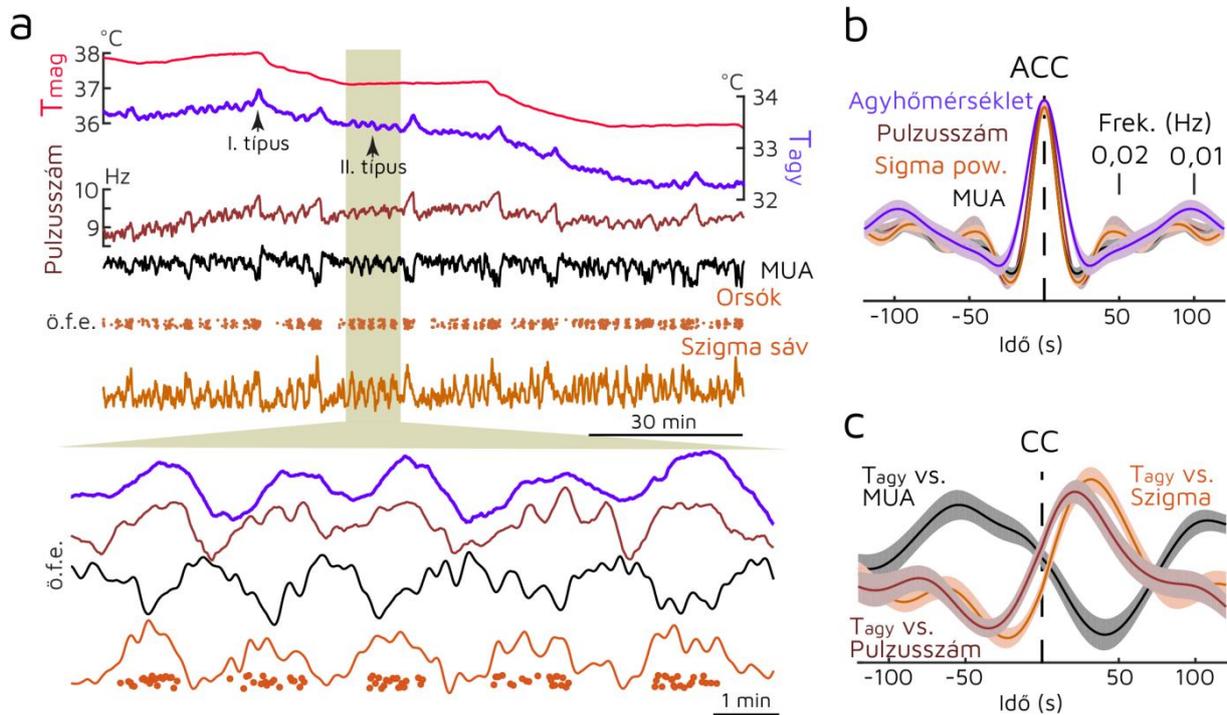
A nagyobb emelkedések (I. típus, 10^{-1} °C nagyságrend) megfelelhetnek a bizonyos emlősöknél megfigyelt REM-kapcsolt aktivitásnak (Hayward & Baker, 1969), miként a REM átmeneti kompenzációul szolgálhat a kétféltékés NREM alvás által kiváltott csökkent anyagcsere és agyhőmérséklet ellenében (Lyamin és *mtsai*, 2018). Kisebb léptékben (II. típus, 10^{-2} °C nagyságrend) az agy hőmérséklete szinkron ingadozik az infralassú oszcillációval (~0,02 Hz) (**1.3.2./b** ábra), beleértve a szigmaerőt, az egyedi orsó eseményeket, valamint a pulzusszámot. Fontos kiemelni, hogy a talamikus orsó az agy hőmérséklet-ingadozását megelőzi. (**1.3.2./c** ábra).

Ez utóbbi eredményeket (Fernandez & Lüthi, 2020) tárgyalta áttekintő cikkében, kiemelve az alvási orsók csoportosulását a 0,02 Hz-es infralassú időléptékben, amely az ún. 'fragilis' és folyamatos NREM periódusok váltakozását követi. Az infralassú oszcillációt korábban rágcsálónál, húsevőknél és emberben is megfigyelték (Steriade és *mtsai*, 1993; Lőrincz és *mtsai*, 2009; Lecci és *mtsai*, 2017); modulálja az LFP szigma frekvenciasávját, a pulzusszámot (Lecci és *mtsai*, 2017), a pupilla méretét (Blasiak és *mtsai*, 2013), valamint az fMRI BOLD jelét is (Mantini és *mtsai*, 2007). A TC populációs aktivitásban való kifejeződése helyi asztrociták működésének eredménye lehet (Lőrincz és *mtsai*, 2009), melyek egy alpopulációja jellemzően ~0.019 Hz 'pacemaker' kalciumoszcillációkat kelt (Parri & Crunelli, 2001).

Mi lehet ezeknek a hőmérsékletbeli mikrofluktuációknak az oka? Az agy fiziológiás és kóros hőmérsékleti változásai közvetlenül levezethetők a helyi anyagcsere, az agy vérperfúziója és a vér hőmérsékletének változásaiból (Hayward & Baker, 1969; Wang és *mtsai*, 2014). Esetünkben a hőmérsékletemelkedés korrelált a megnövekedett soksejt-aktivitással, amely a helyi asztrociták

működésével együtt az agyhőmérsékletet közvetlenül, vagy a helyi véráramlás fokozásával is növelheti.

Összességében ezek az oszcillatorikus jelenségek a metabolikus/hemodinamikai változások és az idegsejthálózati mechanizmusok szoros időbeli kapcsoltására utalnak, melyek több időskálán együtt modulálódnak.



1.3.2. ábra: Az agy hőmérsékletének mikrofluktuációi kísérik az orsózó szakaszokat uretánaltatásban.

a/ Példafelvétel, ahol az agy hőmérsékletének, a pulzusszámnak és az orsó (szigma) teljesítményének mikrofluktuációi szinkronban vannak. Finomabb időskálán (nagyítás) látható, hogy a szigmateljesítmény, a pulzus és az agy hőmérséklete látható sorrendben együtt oszcillál. **b/** Az összesített átlagolt autokorrelogramok azt mutatják, hogy ezek a mikrofluktuációk az infralassú frekvenciatartományban vannak (~0,02 Hz). **c/** Az összesített keresztkorrelációk (agyhőmérséklet vs. egyéb) azt mutatják, hogy a szigmaerő és a pulzusszám ingadozása megelőzi az agyhőmérsékletbelit, míg az általános talamikus MUA elmarad tőle. A **b** és **c** értékei normalizáltak. ö.f.e.: önkényes feszültségegység.

Közzétett: (Csernai & Borbély & Kocsis és mtsai, 2019), 4. ábra / A-D panelein.

1.3.3. Kitekintés: az eredmények lehetséges hasznosítása

Az idegsejtek ritmikus aktivitása és az alvás robusztussága nagymértékben függhet a külső és belső hőviszonyoktól. Ez egy adaptív kihívás számos, a változó éghajlatnak kitett vadon élő állatfaj, de azon emberek számára is, akiknek viselkedési hőszabályozása zavart, például mozgásfogyatékkal élőknek és az időseknek (Collins és *mtsai*, 1981), valamint neurológiai betegségekben szenvedőknek.

Az orsók csúcscsökkentését a maghőmérséklet maximális csökkenése során mérték (Dijk & Czeisler, 1995). Én is megfigyeltem megnövekedett orsóaktivitást a mag- és agyhőmérséklet lecsengő szakaszában, ugyanakkor ezen oszcillációk ritkábbak voltak az emelkedéskor (ld. **1.3.1.1./b** ábra). Ez jól mutatja, hogy a magasabb testhőmérséklet (pl. láz) megzavarhatja az agyi oszcillációkat.

Rendkívül elterjedtek az alvászavarok, amelyeket gyakran komorbiditásként diagnosztizálnak számos betegségben és mentális zavarban. A mag vagy a perifériás testhőmérséklet, az idegsejt-aktivitás és a vérkeringés összefüggésének vizsgálata tovább segítheti megértésünket számos súlyos állapotról és lehetséges kezelésükről. Azok a beavatkozások, amelyek a test és az agy hőmérséklet-ingadozásainak intenzitását, területét, időtartamát és időzítését célozzák, döntő jelentőségűek lehetnek az alvásminőség javításában egy jelentős populáció körében (Van Someren, 2000, 2004; Raymann és *mtsai*, 2008).

1.4. Kapcsolódó publikációk

1.4.1. Szakbíralt cikkek

A tézisek alapját képező közlemény

- [J1] Csernai M.*, Borbély S.*, Kocsis K., Burka D., Fekete Z., Balogh V., Káli Sz., Emri Zs., Barthó P. (2019): Dynamics of sleep oscillations is coupled to brain temperature on multiple scales. *Journal of Physiology*, 597(15), pp. 4069-4086.
<https://doi.org/10.1113/JP277664>

*megosztott elsőszerzőség

A téziseken kívüli, releváns tanulmányok

- [J2] Fekete Z., Csernai M., Kocsis K., Horváth Á.C., Pongrácz A., Barthó P. (2017): Simultaneous in vivo recording of local brain temperature and electrophysiological signals with a novel neural probe. *Journal of Neural Engineering*, Vol. 14, No.3. 034001
<https://doi.org/10.1088/1741-2552/aa60b1>
- [J3] Horváth Á.C., Kocsis K., Csernai M., Barthó P., Fekete Z. (2016): A Novel Neural Probe for Simultaneous Electrical Recording and Local Thermal Control in Sleep Spindle Oscillation Studies. *Procedia Engineering*, Vol. 168, pp.109-112.
<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2016.11.159>

1.4.2. Konferenciaelőadások

1.4.2.1. Elsőszerzős prezentációk

- [C1] Kocsis K., Csernai M., Horváth Á., Fekete Z., Barthó P. (2016): Body temperature modulates sleep spindle frequency. Poszter, IBRO Workshop, Budapest.
- [C2] Kocsis K., Csernai M., Horváth Á., Fekete Z., Barthó P. (2016): Body temperature modulates sleep spindle frequency. Poszter, HuNDoC, Budapest.
- [C3] Kocsis K. (2015): Effects of body temperature on the occurrence and parameters of sleep spindles. Előadás és konferenciakiadvány, *PhD Proceedings, Annual Issues of the Doctoral School, Faculty of Information technology and Bionics*, 10: pp. 65-68.
- [C4] Kocsis K., Csernai M., Barthó P. (2015): Spindle frequency is modulated by body temperature. Poszter, 15th Biannual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Budapest.

1.4.2.2. Társszerzős prezentációk

- [C5] Csernai M., Kocsis K., Burka D., Borbély S., Fekete Z., Balogh V., Káli Sz., Emri Zs., Barthó P. (2018): Sleep spindle frequency is modulated by temperature in vivo and in silico. Poszter, FENS Forum, Berlin, Németország.
- [C6] Csernai M., Kocsis K., Burka D., Borbély S., Fekete Z., Balogh V., Káli Sz., Emri Zs., Barthó P. (2017): Temperature modulates sleep spindle frequency in vivo and in silico. Poszter, Annual Meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2017), Washington DC, U.S.
- [C7] Fekete Z., Kocsis K., Horváth Á., Barthó P. (2016): A novel neural probe for simultaneous electrical recording and local thermal measurements in sleep spindle oscillation studies. Poszter, Biosensors 2016, Göteborg, Svédország.

2. RÉSZ Averzív ingerek megkülönböztetése a talamuszban

2.1. A tanulmány háttere és céljai

Sok égető kérdés merül fel a környezeti ingerek affektív értékelésével kapcsolatban. Az egyik az, hogy az agykéreg előtti idegi feldolgozás miként csatornázza az averzív jeleket úgy, hogy veszélyhelyzetben gyors diszkrimináció jöhessen létre, és végső soron a túlélést segítse. A külső ingerek kéreg alatti értékelése gyakran megelőzi fizikai tulajdonságaik kiterjedt és finom feldolgozását, elősegítve az adaptív viselkedés létrejöttét.

A hallási félelmi kondicionálás egy pavlovi (klasszikus) viselkedési paradigma, amely robusztus averzív tanulást tesz lehetővé. A laboratóriumi rágcsálót arra ösztönzi, hogy egy korábban semleges jelet (feltételes inger=conditioned stimulus, CS; pl. szinuszhang) egy averzív ingerhez (feltétel nélküli inger=unconditioned stimulus, US; pl. elektromos lábütés) társítsanak. Kiterjedt szakirodalom szerint ez a multiszenzoros integráció és memórianyom a laterális amigdala (LA) szinaptikus változásaival követhető nyomon (Nabavi és *mtsai*, 2014). Következésképpen a CS jövőbeli bemutatása megbízhatóan vált ki védekező reakciókat, így ledermedést vagy menekülést. Mindazonáltal felmerül a kérdés, hogy ez a plaszticitás milyen jellegű az amigdalába érkező bemenetek tekintetében.

A talamusz és az amigdala, két evolúciósan konzervált agyi struktúra közötti monoszinaptikus, agykéreg alatti kapcsolatokat kulcsfontosságú útként tartják számon a gyors (<20 ms) jelasszociációban. A 80-as években világítottak rá egy ilyen közvetlen talamikus útvonalra, amelyet a mediális térdestest (medial geniculate nucleus, MGN), a hallási feldolgozás elsődleges talamikus állomásának hátsó régiójában lévő sejtpopulációk hoznak létre. E laterális talamikus (LT) régiók, beleértve a hátsó (posterior) intralamináris (PIL) és szupragenikuláris (SG) magok, valamint az MGN mediális és dorzális részei (MGM és MGD) közvetlen kapcsolatot képeznek az LA-val (LeDoux és *mtsai*, 1990). Különösen az MGM-et hagyományosan a CS fő forrásaként tartják számon (LeDoux és *mtsai*, 1984).

Annak ellenére, hogy az asszociatív halló-fájdalmi CS-US konvergencia és válaszfacilitáció lehetőségét leírták a laterális talamuszban (ld. Weinberger, 2011), a CS-sel időben egyező US lehetséges forrása azóta is vitatott. Az LT magok diverzitása, a változó anatómiai felosztás és következetlen fajok közötti terminológia, valamint az egyes és tisztán szenzoros modalitásokra helyezett hangsúly miatt kisiklott a tendencia, amely kiemelte a talamusz integratív és operatív szerepét a tanult, veszély által kiváltott viselkedésekben.

A fentiek alapján felmerül az igény annak a talamikus populációnak a funkcionális elkülönítésére, amely az amigdalába vetít, és így megalapozza a fenyegető élmények robusztus és nem tudatos affektív feldolgozását. Tanulmányaim ezen részében céloom az volt, hogy új betekintést nyújtsak a laterális talamusz averzív tanulásban betöltött szerepére.

- Vizsgáltam a nem kanonikus hallótalamusz sejteinek válaszkésztségét semleges hangokra, valamint unimodális és társított averzív jelekre uretánnal altatott és szabadon mozgó éber egerekben (**Ila cél**);
- Tanulmányoztam, hogy a laterális talamusz idegsejtjei képesek-e közvetíteni egyedi és társított averzív jeleket az amigdala laterális régiójába (**Ilb cél**);
- Megvizsgáltam a közvetlen laterális talamo-amigdala útvonal időbeli aktivációjának és válaszkésztségének lehetséges kollikuláris (ikertest eredetű) alapjait (**IIc cél**).

2.2. Kísérleti megközelítések

Csoportunk retrográd jelölési technikával (koleratoxin B alegység injektálásával) sejtspecifikusan meghatározta az LA-ba vetítő talamikus idegsejteket: elsősorban az MGN közelében, a PIL-ben és az SG-ben helyezkednek el, s többségük (~94%) expresszálja a kalretinin (calretinin, CR) kalciumkötő fehérjét (Barsy & Kocsis és *mtsai*, 2020). CR+ laterális talamikus (CR+LT) együttesként nevezem őket; a kalretinin mint marker potenciálját teszteltem a közvetlen laterális talamo-amigdala útvonal funkcionális leválasztásában.

Akut extracelluláris elektrofiziológiai elvezetéseket végeztem uretánnal altatott, hím és nőstény (>3 hónapos) egerekben annak tanulmányozása érdekében, hogy a közvetlen talamo-amigdala útvonal képes-e kódolni és esetlegesen integrálni semleges és veleszületetten averzív szenzoros jeleket. Az LT-ből (n=16) Buzsáki32, az amigdalából (n=25) Buzsáki32, 64 vagy 256 elektródokkal (NeuroNexus Technologies) mértem. A szélessávú agyi jelek (0,1-7500 Hz) erősítését (192 vagy 400 V/V) és digitalizálását (20 kHz) RHD2132 vagy RHD2164 előerősítővel és Intan RDH2000 vagy Amplipex erősítő-felvevőrendszerrel végeztem. Az orto- és antidromikus optogenetikus aktiváció 473 nm-es kék fényimpulzusokból állt (Laserglow Technologies), és channelrodopszint kifejező adenoasszociált vírusvektorral (AAV) transzdukált neuronok azonosítását szolgálta. Az összes ingerlési protokollt egyedi MATLAB kódokkal hajtottam végre. Minden analóg trigger pulzust a felvevőrendszerbe vezettem adatszinkronizálás céljából.

Ila-b. Hang és elektromos, lábra kifejtett impulzus kiváltotta válaszokat vizsgáltam a talamuszban (**2.3.1.1/a** és **2.3.2/a,c** ábra) és az amigdalában, Cre-rekombinázfüggő vírussal (AAV-DIO-ChR2-eYFP vagy AAV-DIO-NpHR3.0-eYFP) injektált Calb2(CR)-Cre egerekben. Akusztikus ingerlés esetén az állatot egy fejlemezsel rögzítettem a sztereotaxiás apparátusban. A hanginger egy 7,5 kHz szinuszhang volt (1 s vagy 30 s, 75-85 dB). A lábsokkot egy végtag bipoláris elektromos ingerlésével (50/100 ms vagy 1 s, 1 mA) értem el, s fájdalomreflexet eredményezett. A lézereket és a hangszórót, valamint az áramgenerátort (Medicor vagy BioStim Bipolar Stimulus Isolator BSE-4x, Supertech Instruments vagy STG4008-1.6mA, Multi Channel Systems) egy National Instruments (NI USB-6353) eszközzel hajtottam meg.

Ila. Annak vizsgálata érdekében, hogy a CR+LT sejtek tapasztalatfüggő aktivitást mutatnak-e averzív tanulás során, Calb2-Cre egereket (n=33) injektáltunk AAV-DIO-ChR2-eYFP-vel az amigdalában vagy az LT-ben (**2.3.1.2./a** ábra). 4-6 héttel az AAV-injektálás után négy saját összeállítású volfrámtetródot (d=12,5 μ m, California Fine Wire) ültettem az LT-be, és egyes méréseknél az amigdalába is. Ezek egy optikai szállal (105 μ m belső átmérő, Thorlabs) együtt egy poliimid csőben (203 μ m belső átmérő, Neuralynx) lettek rögzítve. A tetródhuzalokat egy elektród interfész eszközhöz (EIB-16 és EIB-36 Narrow, Neuralynx) csatlakoztattam. A viselkedési protokoll során az EIB egy RHD2132 előerősítőn keresztül csatlakozott az Intan RHD2000 rendszerhez. Soksejt-aktivitást a félelmi kondicionálás és a memóriaelőhívás során, orto- és antidromikus optogenetikai azonosítás (473 nm) mellett vezettem el. A lábsokkot (Ionflow Bipolar vagy BioStim Bipolar Stimulus Isolator BSE-4x, Supertech Instruments) és a hangingerlést egy NI USB-6343 analóg jelei váltották ki, melyeket a neurális adatokkal párhuzamosan regisztráltam. A hangok 75 dB, 30 s (további esetekben 3 és 10 s) 7,5 kHz-es szinuszhullámok (CS+) és Gauss-féle fehér zajok (CS-) voltak. Az averzív viselkedést a ledermedés időszázalékában fejeztük ki manuális annotálást követően (H77 felvevő szoftver, Prof. Dr. Haller József jóvoltából), illetve további esetekben egy Bonsai (Lopes és mtsai, 2015) alapú lokomócióanalizáló programmal.

Ilb. A CR+LT beidegzés funkcionális hatását a laterális amigdalarégiókban, az LA-ban és az amigdalostriatális átmeneti területen (AStr) teszteltem. A CR+LT idegsejteket transzdukáltuk halorodopszint (NpHR3.0) kifejező vírusvektorral, és *in vivo* extracelluláris elektrofiziológiai felvételeket (n=11) végeztünk az amigdalából (**2.3.2./c** ábra). A közvetlen (szubkortikális) CR+LT bemenetek hozzájárulását az amigdaláris válaszokhoz a szenzoros ingereket átfedő, NpHR3.0 közvetítette CR+ axonális gátlással (532 nm) vizsgáltam.

Adatelemzés előtt a szélessávú elektrofiziológiai felvételeket megszűrtem (>500 Hz); az akcióspotenciálok (AP) detektálását és az automatikus klaszterezést a SpikeDetekt, illetve a KlustaKwik programmal végeztük (Rossant és mtsai, 2016). A sejtcsoportosítást a KlustaViewa felületen manuálisan finomítottuk. Minden további adatelemzést MATLAB alapú kódokkal végeztem. Az amigdalasejtek esetében feltételezett principális (PN) és interneuronokat (IN) különböztettem meg a csúcsok közötti és a fél amplitúdónál mért AP-szélesség bimodális eloszlása alapján.

A rövid látenciájú (≤ 10 ms) optogenetikai választ ($z > 3,3$) megbízhatónak tartottam a közvetlen és monoszinaptikus szomatikus vagy axonális aktiváció jelzésére. A szignifikáns szenzoroson kiváltott válaszokat Poisson-eloszláson alapuló konfidenciaintervallum ($p < 0,05$), valamint korai (<50 ms) válaszoknál az aktiváció jel-zaj aránya ($\mu/\sigma > 0,5$) alapján határoztam meg. A látenciákat a (2,5/5 ms egységekben) binelt tüzelési hisztogram stimulus utáni első, 3-nál nagyobb z-score értékéből becsültem. A multimodális válaszok fokozódását a hang és a sokk okozta tüzelési ráta összegéhez viszonyított növekedésként határoztam meg.

IIc. A kollikuláris bemenetek eloszlásának azonosítását a CR+LT régióban anterográd virális nyomkövetéssel végeztem. A CR+LT glutamaterg (serkentő, vGluT2+) és GABAerg (gátló, vGAT+) közepagi beidegződésének vizsgálatára Cre-függő, sárga fluoreszcens fehérjét (eYFP) expresszáló vírusvektort injektáltam vGluT2-Cre (n=3-3, **2.3.3./a-b** és **j-k** ábra), illetve vGAT-Cre egerek (n=2-2, **2.3.3./q-r** és **t-u** ábra) alsó (colliculus inferior, IC) és felső (colliculus superior, SC) ikertestébe. A virálisan expresszált fluorofor jel (eYFP) erősítése céljából fluoreszcens immunhisztokémiát végeztünk. A CR+LT és a serkentő ikertestbemenetek szinaptikus kontaktusait (n=3-3) elektronmikroszkópiával szemléltettük.

2.3. Új tudományos eredmények

2.3.1. IIa tézis

Extracelluláris elektrofiziológiai felvételekkel kimutattam uretánnal altatott és éber, szabadon mozgó egerekben, hogy a laterális talamusz kalretininpozitív idegsejtjei (CR+LT) semleges akusztikus és averzív (nociceptív vagy veszélyt jelentő akusztikus) jeleket is feldolgoznak. Multiszenzoros és asszociatív válaszfokozódást mutatnak egyedi sejtek szintjén.

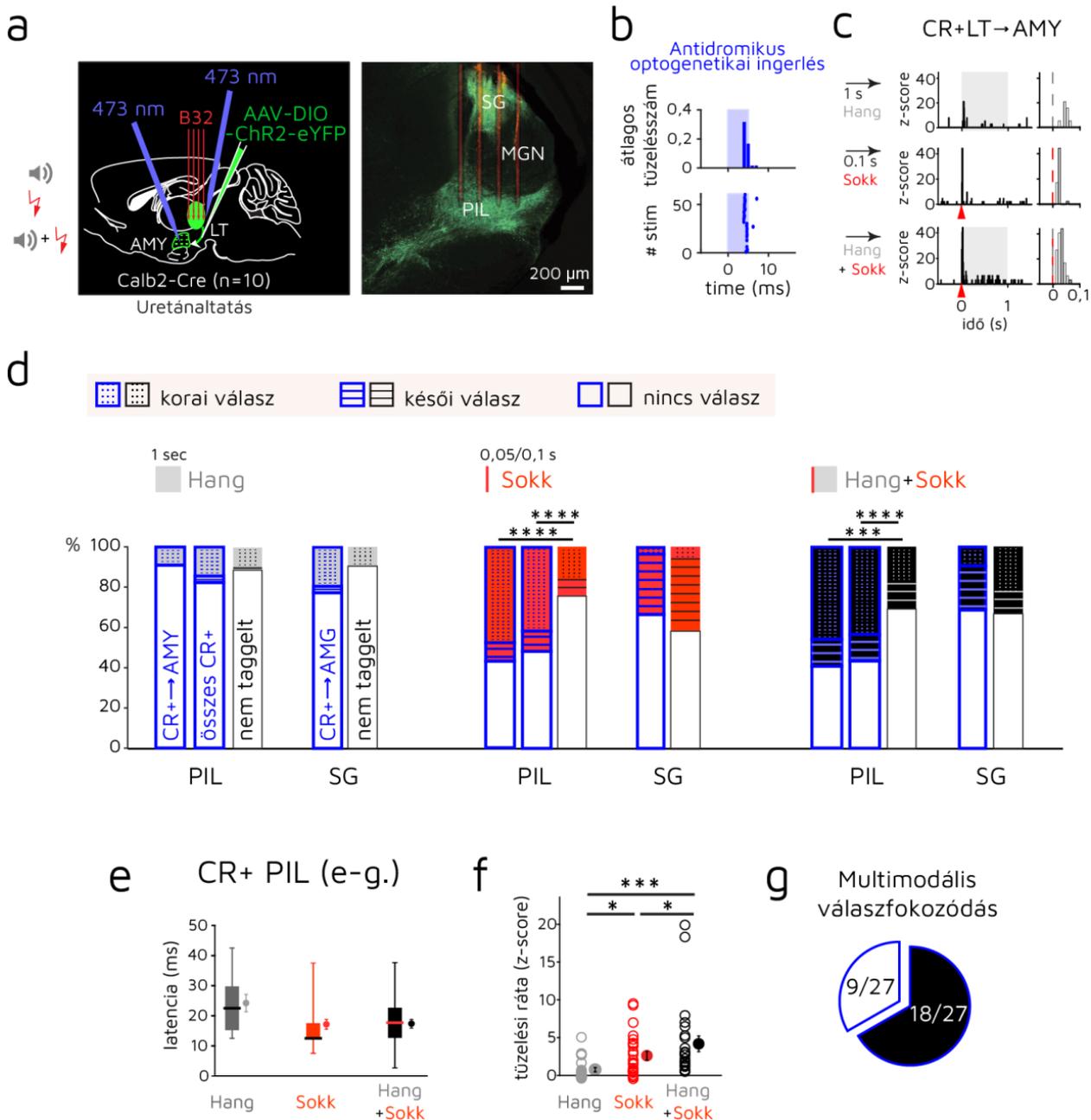
Kapcsolódó folyóirat-publikáció: [J4]

Részt vettem az elektrofiziológiai és viselkedéskísérletek koncepcionális kidolgozásában, tervezésében és módszertani megalapozásában. Vírusinjektálást és tetródbeültetéseket végeztem, viselkedési tesztek hajtottam végre. Elvégeztem az akut és krónikus elektrofiziológiai adatok gyűjtését, elemzését és értelmezését. Részt vettem a kézirat vonatkozó részének elkészítésében és felülvizsgálatában.

Kapcsolódó konferenciaelőadások: [C10] - [C16], [C21]

A lábsokk és a sokkal párosított hangingerék több LT sejtet aktiváltak, mint önmagában a hang. A rövid látenciájú (<50 ms) nociceptív válaszok elsősorban a CR+ PIL populációkra voltak jellemzőek, ami összhangban van az ebben a régióban korábban kimutatott averzív aktivitással (Bordi & LeDoux, 1994; Lipshetz és *mtsai*, 2018); a CR+ PIL sejtek nagyobb hányada volt receptív sokkra és páros ingerekre, mint a nem jelölteké. Az SG azonban késői (50-500 ms) averzív aktiválódást mutatott nagyobb arányban, s nem mutatkozott szignifikáns különbség két csoportjának válaszai között (**2.3.1.1./b-d** ábra).

A CR+ PIL uni- és multimodális averzív válaszlátenciái rövidebbek voltak, mint a csak hanginger által kiváltottaké, s a párosított jelek váltották ki a legerősebb korai aktivációt (~17 ms, **2.3.1.1./e-f** ábra) ebben a populációban. A fázikus aktivációk multiszenzoros válaszfokozódáson mentek keresztül, még unimodális akusztikus válaszok hiányában (83%) is (**2.3.1.1./g** ábra). Ez azt mutatja, hogy az akusztikus ingerlés küszöb alatti aktivációt is előidézhethet, ám ez még tovább fokozhatja a sokk okozta választ ezekben a sejtekben.



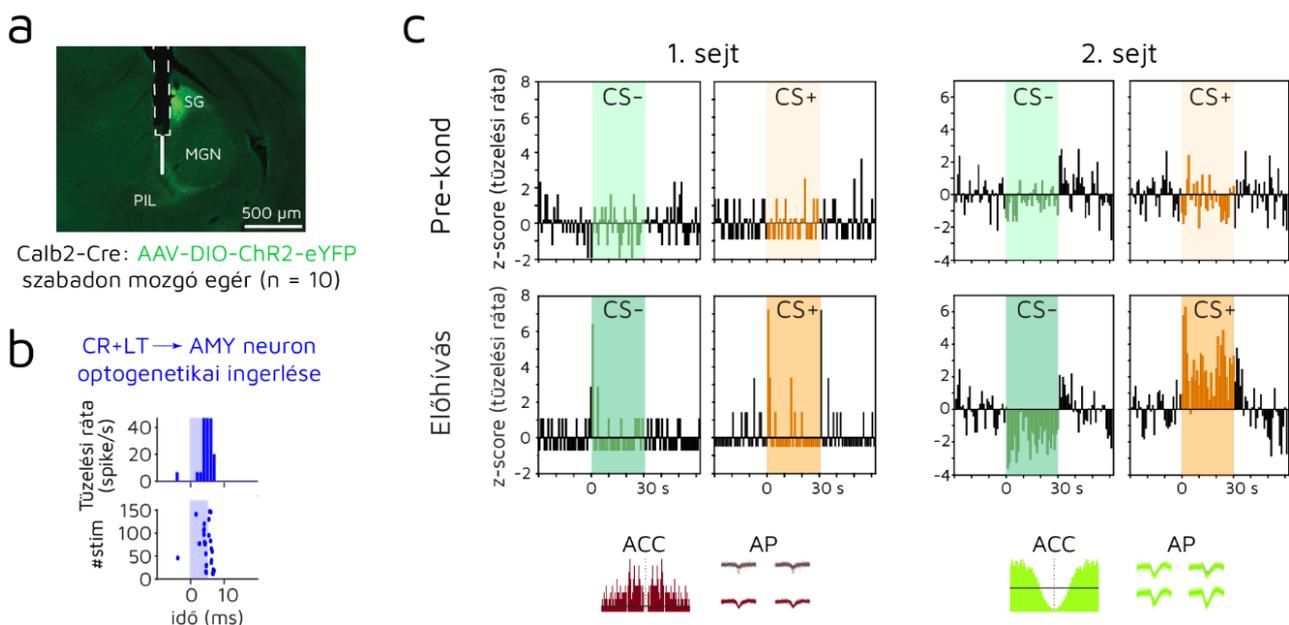
2.3.1.1. ábra: Szelektív és gyors averzív szenzoros jelátvitel a CR+LT-ben.

a/ Balra: séma LT sejtekből végzett akut *in vivo* elektrofiziológiai felvételekhez (n=10 egér) hang, lábsokk és kapcsolt hang+sokk jelek leadása, valamint orto- és antidromikus optogenetikai azonosítás mellett. Jobbra: koronális agyszelet AAV-DIO-ChR2-eYFP-transzdukált CR+ sejtekkel (zöld) és a négyszárú Buzsáki32 elektróda nyomával (B32, piros). **b/** Egy CR+LT→AMY sejt antidromikus optogenetikai jelölése. A binek mérete 1 ms. **c/** Egy CR+PIL→AMY sejt, amely rövid látenciájú hang (szürke árnyalat), sokk (piros nyílhegy) és fokozott hang+sokk kiváltotta aktivitást mutat. Jobbra: a bal oldali válaszok nagyítása. A binek mérete 10 ms. **d/** A korai (<50 ms, pontozott terület) és a késői (50-500 ms, csíkozott terület) hang (szürke), sokk (piros) és párosított hang+sokk (fekete) okozta válaszok arányai a CR+LT → AMY és a teljes CR+ (kék keretes dobozok), valamint a nem jelölt LT (fekete keretes dobozok) sejtpopulációban, PIL és SG sejtekre osztva. Kiemelendő, hogy a CR+ PIL válaszok többnyire rövid látenciájúak. χ^2 teszt. **e/** A CR+ PIL sejtek korai szenzoros aktivitásainak becslött látenciáját egy 50 ms-os, inger utáni időablakon belül bemutató boxplotok. A kitöltött körök az átlag±SEM értéket mutatják. **f/** Korai társított válaszú CR+ PIL unitok (N=27 sejt) tüzelésének átlagos z-score értéke szenzoros ingerlések esetén (<50 ms). Átlag ± SEM. *Friedman ANOVA Wilcoxon-féle előjeles rangpróbával (kétoldali)*. **g/** A multiszenzoros válaszfokozódás aránya az **f** panel CR+ PIL sejtei között.

Közzétett: (Barsy & Kocsis és mtsai, 2020), 2. ábra, kiegészítve SG/MGN felvételekkel.

A CR+LT szabadon viselkedő egerekben rövid látenciájú (<50 ms) hangválaszbéli modulációt mutatott az averzív memória kialakulásával párhuzamosan. A félelmi tanulás CR+LT→AMY idegsejteket toborzott az előzetesen veszélyt jelentő CS+ leadásakor (2.3.1.2./b-c ábra). Ez azt jelzi, hogy a CR+LT→AMY útvonal társított jeleket tud átadni viselkedő állatokban, miként szenzoros aktivitása megváltozik averzív jelasszociáció nyomán.

A CS és a US társulása tehát a talamusz szintjén, az amigdala előtt is történhet, és ezt a tulajdonságot meg lehet ragadni a CR+ PIL populáció tanulmányozásával. Ez nem egyszerűen az aktív idegsejtek toborzásában nyilvánul meg, hanem egyedi sejtek szintjén is. A társított aktivációkat ezután továbbítják az amigdalába, ami támogatja gyors védekező válaszok kiváltását. Ezek a megfigyelések tovább vitatják azt a széleskörben elfogadott elképzelést, miszerint az LA a CS-US integráció első helyszíne. Eredményeimet (Gründemann, 2021) tárgyalta, felhívva a figyelmet egy kiterjedt szubkortikális hálózati működésre a védekező viselkedésben.



2.3.1.2. ábra: A diszkriminatív akusztikus averzív tanulás megváltoztatja a CR+LT sejtek aktivitási mintázatát.

a/ Koronális metszet, amely retrográd úton jelölt CR+LT→AMY sejteket (zöld), valamint az optikai szál és a tetródok együttesének elhelyezkedését mutatja (fehér séma). **b/** Egy CR+PIL→AMY sejt (c, bal panel) optogenetikai jelölése (kék). A binek mérete 1 ms. **c/** Két CR+LT→AMY sejt hangválaszai (CS-: zöld, CS+: narancssárga árnyékolt területek) kondicionálás előtt (Pre-kond) és a félelem előhívása (Retr) során. Kiemelendő a CS+-ra adott fokozott kezdeti (1. és 2. sejt) és offset (1. sejt) válaszok jelenléte averzív tanulás után. A neuronok autokorrelogramjai (ACC; balra) és hullámalakjai (AP; jobbra) a különböző tetródcsatornákról alább láthatók. Az ACC vízszintes vonala az aszimptótát, a függőleges pontozott vonal a középpontot jelöli. A binek mérete 1 s.

Közzétett: (Barsy & Kocsis és mtsai, 2020), 7.ábra/h, j, k és a 8. kiegészítő ábra c-e panelein.

2.3.2. IIb tézis

Extracelluláris elektrofiziológiai felvételekkel, uretánnal altatott egerekben kimutattam, hogy a kalretininpozitív laterális talamusz (CR+LT) sejtjei közvetlenül továbbíthatnak uni- és multimodális averzív jeleket az amigdala laterális régiójába, ahol keskeny akcióspotenciálú neuronokat toboroznak.

Kapcsolódó folyóirat-publikáció: [J4]

Részt vettem az elektrofiziológiai kísérletek elméleti megalapozásában, tervezésében és módszertani megalapozásában. Vírusinjektálást, valamint akut elektrofiziológiai adatok gyűjtését, elemzését és értelmezését végeztem. Részt vettem a kézirat kapcsolódó részének elkészítésében és revíziójában.

Kapcsolódó konferenciaelőadások: [C8], [C10] - [C14], [C20], [C21], [C27], [C28]

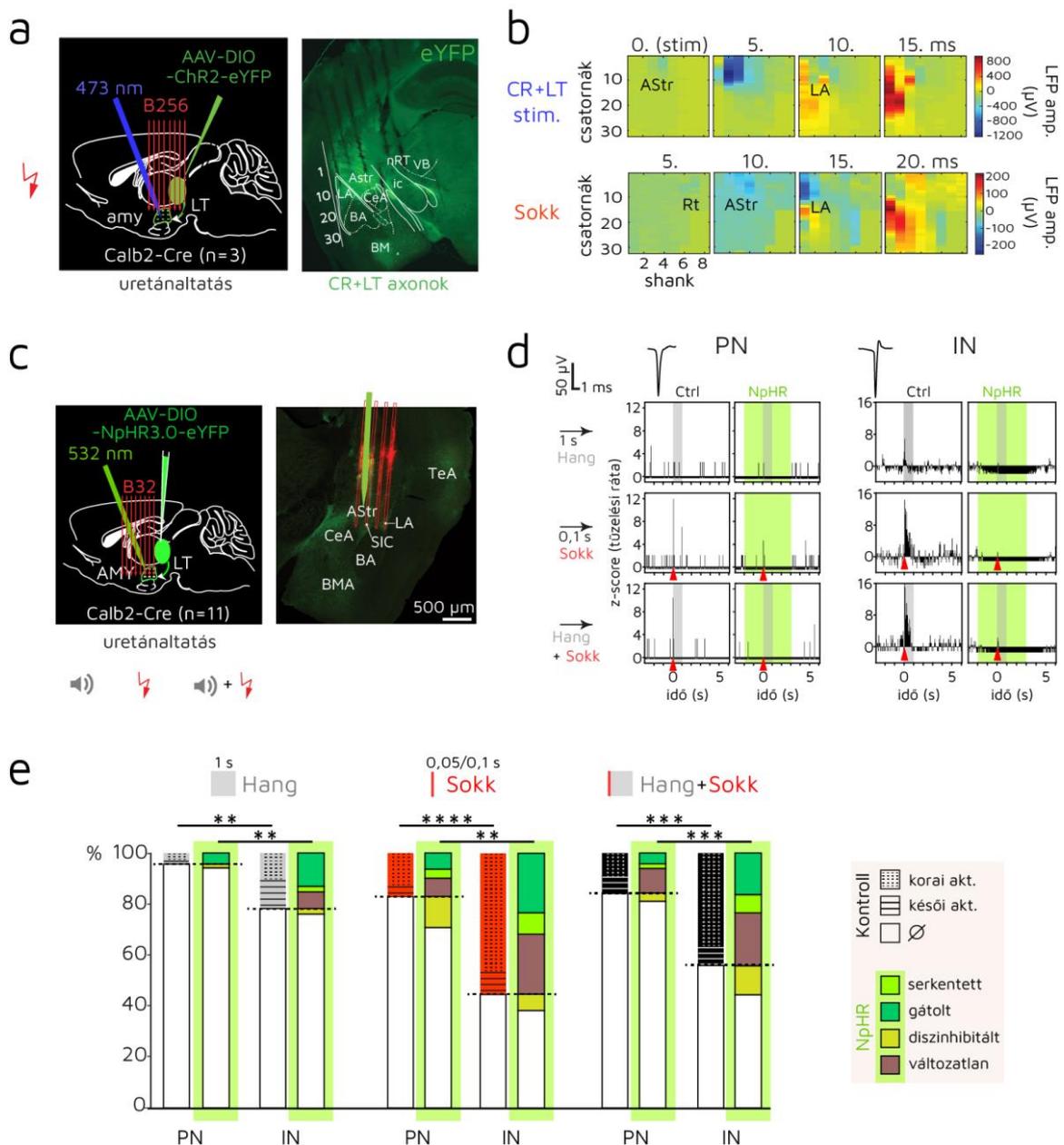
Megerősítettem, hogy a laterális talamusz kalretininpozitív (CR+) neuronjai teljesítik a direkt talamo-amigdala pálya funkciójának követelményeit akusztikus averzív kondicionálás során: hanginformáció mellett közvetlenül továbbíthatnak rövid látenciájú nociceptív jeleket az averzív tanulás fő kéreg alatti területére, az amigdala laterális régiójába.

Mind a CR+LT→AMY optogenetikus serkentése, mind a sokkingerlés esetében a kiváltott aktiváció térbeli-időbeli térképei a legkorábbi amigdalaaktivációt a laterális amigdalában (LA) és a szomszédos amygdalostriatalis átmeneti áréában (AStr) helyezték el (**2.3.2./b** ábra). Ez megerősíti, hogy a megnevezett területek együttesen biztosítanak az LT-nek szenzoros interfészt (LeDoux és *mtsai*, 1990) az averzív tanulás során.

A nociceptív uni- és a multimodális kiváltott válaszok a legrövidebb látenciájú (~20 ms) és legerősebb aktivitásnak bizonyultak a vizsgált amigdaláris (LA/AStr) populációban, hasonlóan a CR+LT idegsejteknel leírtakhoz. Az averzív aktiváció időbeli lefolyása a CR+ PIL-ben és az amigdalában (átlagosan 2-3 ms különbséggel) azt is sugallja, hogy az averzív rövid késleltetésű amigdalaaktiváció közvetlenül levezethető a CR+LT-ből.

Averzív válasz különösen nagy arányban volt jelen a keskeny tüskés (feltételezett gátló) neuronok között. Sőt, a közvetlen CR+LT axonális optogenetikai moduláció, legyen az serkentő vagy gátló, nagyobb mértékben befolyásolta ezek aktivitását (**2.3.2./d-e** ábra). A gátolt válaszok mellett számos idegsejt fokozta szenzorosan kiváltott aktivációját, vagy csak a CR+LT→AMY optogenetikai csendesítés során mutatott választ, ami talamusz vezérelte gátló/diszinhibitorikus mechanizmusra utal az amigdala oldalsó régiójában.

A talamikus bemenetek tehát, kielégítve a fenyegető jelek elsőbbségi feldolgozásának szükségességét, közvetlenül támogathatják a populációszelekciót az amigdalainterneuronok megcélzásával, melyek: (1) időablakot hozhatnak létre a tüzelés fázikus megemelésére (Pouille & Scanziani, 2001), valamint a lehetséges szinkronizációra, (2) elnyomhatják azokat a hálózati tevékenységeket, amelyek nem szolgálják a szálens jelek feldolgozását, (3) szabályozhatják a plaszticitást a principális neuronok szomatodendritikus tengelye mentén.



2.3.2. ábra: A CR+LT idegsejtek közvetlenül irányítják az amigdalasejtek szenzoros aktivációját.

a/ Séma (balra) akut *in vivo* amigdaláris elektrofiziológiai felvételekhez sokk és AAV-DIO-ChR2-eYFP-transzdukált CR+LT→AMY bemenetek optogenetikai aktivációja mellett. Koronális metszet (jobbra), amely a bejövő transzdukált CR+LT axonokat (eYFP, zöld) és az elektród szárának nyomait mutatja az amigdalában. **b/** Az amigdala területét lefedő 256 csatornán (32 csatorna 8 száron) átlagolt szélessávú kiváltott válaszok reprezentatív pillanatképei (ms-ban). Az optogenetikai és a sokk által kiváltott válaszokat két sorban mutatom be, összehasonlítás célból eltolva 5 ms-mal. **c/** Séma (balra) akut *in vivo* amigdaláris elektrofiziológiai felvételekhez szenzoros (hang, sokk és kapcsolt hang+sokk) stimulációval és az AAV-DIO-NpHR-eYFP-jelölt CR+LT→AMY végződés optogenetikai gátlásával. Reprezentatív koronális metszet (jobbra), amely az optikai szál (zöld) és egy négyszárú Dil festett Buzsáki32 elektród (piros) beillesztési nyomait mutatja az amigdalában. **d/** Egy feltételezett principális (PN) és interneuron (IN) szenzoros válaszai kontroll körülmények között és a CR+LT bemenetek optogenetikai gátlása során (zöld). A szürke árnyalatok a hang, a piros nyílhegyek a sokkingerek leadását jelzik. A binek mérete 50 ms. Az átlagos akcióspotenciál-hullámformák a hisztogramok felett láthatók. **e/** A principális sejtekre (PN) és interneuronokra (IN) osztott amigdalaneuronok hang, sokk és hang+sokk kiváltotta aktivitásának populációs adatai. A kontroll körülmények között kiváltott válaszok és az NpHR által közvetített CR+LT→AMY axonális gátlás során (grafikonok zöld kerettel) bekövetkező válaszmodulációk láthatók. χ^2 teszt.

c-d. panelek közöttéve: (Barsy & Kocsis és mtsai, 2020), 5.ábra/a, b, d panelein.

2.3.3. Ilc tézis

Anterográd víruskövetéssel igazoltam egerekben, hogy a kalretininpozitív laterális talamikus (CR+LT) populáció egy nem primer, multimodális közepagi beidegzéssel rendelkezik az alsó (IC) és felső (SC) ikertestekből. A felső ikertest kizárólag a CR+LT régiót célozza meg.

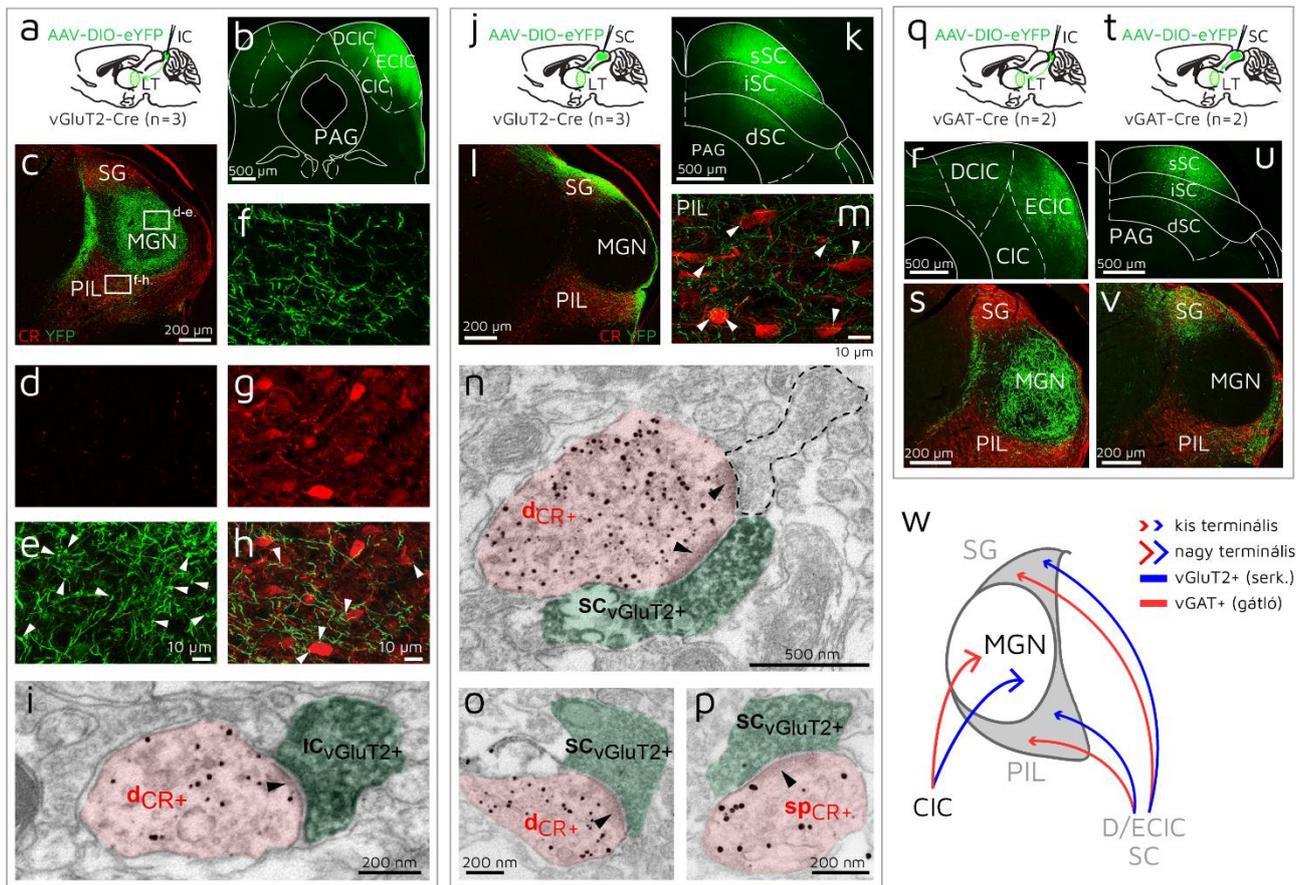
Kapcsolódó folyóirat-publikáció: [J4]

Részt vettem az anatómiai vizsgálat elméleti megalapozásában és tervezésében. Elvégeztem a vírusinjektálást, részt vettem az anatómiai feldolgozásban és az eredmények értelmezésében. Részt vettem a kézirat kapcsolódó részének elkészítésében és revíziójában.

Kapcsolódó konferenciaelőadások: [C9] - [C13], [C21]

A korábbi tézisekben kifejtettek számos bizonyítékot adtak a CR+LT jelfeldolgozás multiszenzoros aspektusára, és rávilágítottak a kollotalamikus feldolgozás potenciális fontosságára, amely a párhuzamos szenzoros átvitelen túl végezhet jelintegrációt / diszkriminációt az amigdaláris komputáció előtt. Ennek potenciális funkcionális anatómiai alapját egy nem elsődleges és multimodális jellegű közepagi beidegzés teremti meg, amely különbözik a szomszédos elsődleges hallótalamuszban (MGN) megfigyelhetőtől. Megmutattam, hogy a CR+LT sejteket ritka és kicsi (<1 µm) serkentő (vGluT2+) axonvégződéses célzózzák meg az azonos oldali alsó ikertestből (*colliculus inferior*, IC), szemben az MGN-t beidegző nagy (d~3-5 µm) IC boutonokkal (**2.3.3./c-h** ábra); a felső ikertest (*colliculus superior*, SC) csak a CR+ PIL/SG régiót célozza meg (**2.3.3./l-m** ábra). Az IC/SC bemenetek és a CR+LT közötti aszimmetrikus (serkentő) szinaptikus kapcsolatok jelenlétét igazoltuk elektronmikroszkópiával (**2.3.3./i**, és az **n-p**. ábra). A vGAT+ (gátló) IC és SC neuronok a serkentőkhöz hasonló vetítési mintázatot hoznak létre (**2.3.3./s**, és **v** ábra).

Ez a jellegű kollikuláris beidegzés elősegítheti a CR+LT idegsejtekben a gyors, az amigdala és az agykéreg előtti jelintegrációt, mind semleges szenzoros, mind etológiai releváns, már integrált információkból, ami a finom primer szenzoros folyamatok kéreg alatti megkerülését biztosíthatja. A feltárt, CR+LT-ba vetítő agytörzsi régiók nem primer, s multimodális szenzoros jellemzőkkel bírnak, és potenciálisan átadhatnak rövid látenciájú halló (IC), vizuális (SC), nociceptív (SC) (Stein & Dixon, 1978) és multimodális (SC/IC) (Hayashi és *mtsai*, 1984; Linke és *mtsai*, 1999) információt is. Ezenkívül, mivel az egér talamuszában jellemzően hiányzik a helyi gátló kontroll, a serkentő és gátló közepagi afferensek közötti kölcsönhatás a retikuláris gátlás mellett tovább fokozhatja a talamusz számítási kapacitását, növelve az averzív feldolgozás jel-zaj arányát a CR+LT-ben (**2.3.3./w** ábra).



2.3.3. ábra: A CR+LT régió kollikuláris beidegzése nem primer, s multimodális jellegű.

a/ vGluT2-Cre egerek alsó ikertestébe (IC) történő AAV-DIO-eYFP injektálás vázlata. **b/** Vírusbeadás helye az IC-ben. **c/** vGluT2+ IC-bemenetek (eYFP, zöld) az LT-ben, kalretinin (CR)-festés mellett (piros). A fehéren keretezett területek nagyítva láthatók **d-e**-ben és **f-h**-ban **d-e/** z-stack konfokális kép (7 μ m teljes mélységgel) az MGN-ből (CR- terület a **d**-ben), amely nagyméretű IC axonvégződéseket mutat (fehér nyílhegyek az **e**-ben). **f-h/** z-stack konfokális kép (7 μ m teljes mélység) a PIL-ből (piros CR-festődés a **g**-ben), amely kisméretű IC axonterminálisokat (**f**; fehér nyílhegyek **h**-ban) mutat a CR+PIL sejtek közelében. **i/** Elektronmikroszkópos felvétel, amely a PIL-ben egy immunarannyal jelölt CR+ dendritet ábrázol (dCR+; kis fekete részecskékkel, rózsaszínnel árnyékolva) aszimmetrikus szinaptikus kontaktussal (fekete nyílhegy), amelyet egy DAB-jelölt (diffúz fekete csapadék) vGluT2+ IC-bouton képez (ICvGluT2+; zölddel árnyékolva). **j/** vGluT2-Cre egerek felső ikertestébe (SC) történő AAV-DIO-eYFP injektálás vázlata. **k/** Vírusbeadás helye az SC-ben. **l/** vGluT2+ SC-bemenetek (eYFP, zöld) az LT-ben, CR-festés (piros) mellett. **m/** z-stack konfokális kép (7 μ m teljes mélység) vGluT2+ SC axonterminálisokkal (fehér nyílhegyek) a CR+ PIL neuronok közvetlen közelében (piros). **n-p/** Elektronmikroszkópos felvételek, amelyek immunarannyal jelölt CR+ dendriteket (dCR+; **n-o**) és egy dendrittűskét (spCR+; **p**) mutatnak a PIL-ben, valamint aszimmetrikus szinaptikus kontaktusukat (fekete nyílhegyek) DAB-jelölt, vGluT2+ SC boutonokkal (SCvGluT2+). Egy nem festett axonterminális szaggatott vonallal (**n**) szintén szinaptikus bemenetet ad a CR+ dendrithez. **q/** vGAT-Cre egerek alsó ikertestébe történő injektálás vázlata. **r/** Injektálás helye az IC-ben. **s/** vGAT+ IC-bemenetek az LT-ben, CR-festés mellett. **t/** vGAT-Cre egerek felső ikertestébe történő injektálás vázlata. **u/** Injektálás helye az SC-ben. **v/** vGAT+ SC-afferensek (YFP, zöld) az LT-ben, CR-festés (piros) mellett. **w/** A CR+LT területek (PIL/SG) kollikuláris bemeneteinek sematikus rajza, ellenpontozva az elsődleges hallómagával (MGN).

a-b panelek közöttéve: (Barsy & Kocsis és mtsai, 2020), 3. ábra / h-w panelein.

2.3.4. Kitekintés: a tanulmány jövőbeli irányai és hasznosítási lehetőségei

A következő lépés lehet annak feltárása, hogy a CR+LT bemenetek miként hangolják az amigdalahálózatot, hogy az etológiailag releváns jelek robusztus feldolgozását biztosítsák sejtegyüttesek toborzása és/vagy szinkronizálása révén. A CR+LT erősen alakítja az interneuronok aktivitását, amelyek képesek meghatározni a funkcionális hálózat konfigurációját: kiválaszthatják a kódolásban részt vevő principális sejteket, valamint oszcillatorikus tevékenységet képesek kelteni.

Az LT egyedülálló kapcsolattal bír neuroendokrin hálózatokkal is. (Barsy & Kocsis és *mtsai*, 2020) kimutatták, hogy a CR+LT a ventromediális hipotalamuszba vetít. (Cservenák és *mtsai*, 2017) leírták a PIL-ből a paraventrikuláris hipotalamuszba vezető pályát egerekben, amely oxitocinfelszabadulást válthat ki szoptató anyákban a kölykök szomatoszenzoros ingereinek feldolgozásával. (Tasaka és *mtsai*, 2020) szerint továbbá a temporális asszociatív kéreg – CR+LT célterület (Barsy & Kocsis és *mtsai*, 2020) – kulcsfontosságú szerepet játszik az ultrahang kölyökkvészelzések megkülönböztetésében anyákban. Ezek a tanulmányok azt sugallják, hogy a CR+LT viselkedés szempontjából releváns jelfeldolgozása potenciálisan hormonális változásokat idézhet elő, amelyek tovább fokozhatják a jelszelekciót cél régióiban. Sőt, mivel az „öv” LT régiók integrálnak vizuális és jutalmi jeleket is (Komura és *mtsai*, 2005), a CR+LT populáció hozzájárulhat az affektív tartalom kivonásához is a vokális viselkedéshez kapcsolódó mozdulatokból (Bartlett, 2013).

Összességében olyan lehetséges kutatásokat emeltem ki, melyek középpontjában a CR+LT nem tudatos affektív jelfeldolgozásban betöltött szerepe áll. Ez a populáció potenciális célpontja lehet modulációnak vagy molekuláris genetikai karakterizálásnak olyan affektív rendellenességekben, amelyek fokozott vagy gyengült affektív feldolgozással járnak. Az implicit asszociatív folyamatok kezelésére irányuló terápiás stratégiák a jövőben fontolóra vehetik ezen idegsejtcsoport jelintegrációjának módosítását.

2.4. Kapcsolódó publikációk

2.4.1. Szakbírált folyóiratcikkek

A tézisek alapját képező közlemény

- [J4] Barsy B.*, Kocsis K.*, Magyar A., Babiczky Á., Szabó M., Veres M. J., Hillier D., Ulbert I., Yizhar O., Mátyás F. (2020): Associative and plastic thalamic signaling to the lateral amygdala controls fear behavior. *Nature Neuroscience*, 23(5): pp. 625-637.
<https://doi.org/10.1038/s41593-020-0620-z>

*megosztott elsőszereplőség

A téziseken kívüli, releváns közlemény

- [J5] Mátyás F.*, Komlósi G.*, Babiczky Á., Kocsis K., Barthó P., Barsy B., Dávid Cs., Kanti V., Porrero C., Magyar A., Szűcs I., Clascá F., Acsády L. (2018): A highly collaterized thalamic cell type with arousal predicting activity serves as a key hub for graded state transitions in the forebrain. *Nature Neuroscience*, 21(11): pp. 1551-1562.
<https://doi.org/10.1038/s41593-018-0251-9>

2.4.2. Konferenciaprezentációk

2.4.2.1. Elsőszerzős prezentációk

- [C8] Kocsis K. (2020): The role of thalamic inputs in amygdala oscillation generation. Előadás, 'Subcortical neural processing of saliency' online minisymposium, University of Veterinary Medicine.
- [C9] Kocsis K., Jártó F., Zsoldos R., Zsebők S., Mátyás F. (2020): Ultrasonic adult distress vocalizations and their subcortical neural processing in laboratory mice. Előadás, 2nd African Bioacoustics Community Conference.
- [C10] Kocsis K., Magyar A., Barsy B., Babiczky Á., Mátyás F. (2019): Cell-type-specific interrogation of the mouse thalamus in aversive cue processing. Poszter, Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen.
- [C11] Kocsis K., Magyar A., Barsy B., Babiczky Á., Jártó F., Váncsodi M., Berényi A., Mátyás F. (2019): The role of thalamic cells in amygdala-related processes. Poszter, FENS-Hertie Winter School 2018 – Neural control of innate and instinctive behaviour, Obergurgl, Ausztria.
- [C12] Kocsis K., Magyar A., Barsy B., Babiczky Á., Kanti V., Truka L., Szabó M., Jártó F., Váncsodi M., Berényi A., Mátyás F. (2018): Nucleus-specific interrogation of the mouse thalamus in aversive cue-processing. Poszter, Annual meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2018), San Diego, CA, U.S.
- [C13] Kocsis K., Magyar A., Barsy B., Babiczky Á., Jártó F., Váncsodi M., Berényi A., Mátyás F. (2018) Calretinin-positive thalamic neurons convey distinct information in aversive learning. Poszter, FENS Forum, Berlin, Németország.
- [C14] Kocsis K., Barsy B., Magyar A., Babiczky Á., Kanti V., Horváth M., Varga K., Földes T. A., Mátyás F. (2017): Pathway-specific thalamic modulation of amygdalar circuits. Poszter, Annual meeting of the Society for Neuroscience (Neuroscience 2017), Washington DC, U.S.
- [C15] Kocsis K.*, Magyar A.*, Barsy B., Kanti V., Babiczky Á., Varga K., Földes T. A., Mátyás F. (2017): Functional investigation of thalamoamygdalar circuits in freely behaving mice. Poszter, FENS Regional Meeting, Pécs.
- [C16] Kocsis K.*, Magyar A.*, Barsy B., Kanti V., Babiczky Á., Varga K., Földes T. A., Mátyás F. (2017): Functional investigation of thalamoamygdalar circuits in freely behaving mice. Poszter, HunDoc, Pécs.
- [C17] Kocsis K., Barsy B., Babiczky Á., Magyar A., Kanti V., Ulbert I., Mátyás F. (2016): Role of the thalamoamygdalar circuitry in fear behavior. Poszter, From Bionics to Medicine – 3rd European PhD Conference, Budapest.
- [C18] Kocsis K., Barsy B., Ulbert I., Mátyás F. (2016): Cell-type specific investigation of the thalamo-amygdala network in associative learning. Poszter, FENS Forum, Kopenhága, Dánia.
- [C19] Kocsis K. (2016): Functional investigation of non-canonical pathways originating from the auditory thalamus. Előadás és konferenciakiadvány, *PhD Proceedings, Annual Issues of the Doctoral School, Faculty of Information technology and Bionics*, 11: pp. 59-6.

2.4.2.2. Társszerzős prezentációk

- [C20] Jártó F., Váncsodi M., Magyar A., Berényi A., Mátyás F., Kocsis K. (2020): Closed-loop optogenetic manipulation of amygdalar network activity based on local gamma band oscillations. Poszter, IBRO Workshop, Szeged.
- [C21] Kocsis K.*, Barsy B.*, Babiczky Á., Szabó M., Magyar A., Váncsodi M., Jártó F., Berczik J., Fehér A., Hillier D., Yizhar O., Berényi A., Mátyás F. (2019): Thalamic control over amygdala function. Előadás, Gordon Research Conference, 2019, Easton, MA, U.S.
- [C22] Jártó F., Kocsis K., Barsy B., Váncsodi M., Magyar A., Szabó M., Kanti V., Mátyás F. (2019): Automated monitoring and closed loop modulation of affective behavior-related parameters in mice. Poszter, FENS-SfN Summer School – Brain reading and writing: new perspectives of neurotechnology. Bertinoro, Olaszország.
- [C23] Nagy G. A., Magyar D., Kocsis K., Veres J. M., Pardo-Bellver C., Reéb Zs., Földi P., Mátyás F., Hájos N. (2019): Parallel processing of noxious stimuli in the basolateral amygdala circuits. Előadás, KOKI Napok 2019.
- [C24] Jártó F., Kocsis K., Barsy B., Magyar A., Szabó M., Kanti V., Mátyás F. (2019): A modular, automated closed loop stimulation system for acquisition and evaluation of behavioral experiments. Poszter, Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen.
- [C25] Szabó M., Barsy B., Kocsis K., Jártó F., Magyar A., Mátyás F. (2019): Essential role of the lateral thalamoamygdalar pathway in fear learning. Poszter, Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen.
- [C26] Szabó M., Barsy B., Kocsis K., Jártó F., Magyar A., Mátyás F. (2019): Essential role of the lateral thalamoamygdalar pathway in fear learning. Poszter, HuNDoc, Debrecen.
- [C27] Váncsodi M., Kocsis K., Babiczky Á., Szabó M., Berényi A., Mátyás F. (2019): Electrophysiological characterization of the cell-type specific thalamic effects on the amygdalar microcircuit, Poszter, Annual Meeting of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen.
- [C28] Váncsodi M., Kocsis K., Babiczky Á., Szabó M., Berényi A., Mátyás F. (2019): Electrophysiological characterization of the cell-type specific thalamic effects on the amygdalar microcircuit, Poszter, HunDoc, Debrecen.
- [C29] Babiczky Á., Kanti V., Barsy B., Magyar A., Horváth M., Szabó M., Truka L., Kocsis K., Hillier D., Yizhar O., Mátyás F. (2018): Nucleus-specific connectivity of the fear-related auditory thalamus. Poszter, FENS Forum, Berlin, Németország.
- [C30] Barsy B.*, Kocsis K.*, Babiczky Á., Magyar A., Szabó M., Kanti V., Horváth M., Váncsodi M., Jártó F., Pinke D., Hillier D., Yizhar O., Acsády L., Berényi A., Mátyás F. (2018): Szenzoros információk által kiváltott viselkedés-válaszreakciók komplex mechanizmusa. Poszter, Magyar Tudomány Ünnepe, Budapest.
- [C31] Szabó M., Barsy B., Kocsis K., Jártó F., Mátyás F. (2018): Asszociatív félelmi tanulás különböző fázisainak thalamikus szabályozása. Poszter, Magyar Tudomány Ünnepe, Budapest.
- [C32] Magyar A.*, Kocsis K.*, Kanti V., Babiczky Á., Varga K., Mátyás F. (2017): Electrophysiological characterization of the lateral thalamoamygdalar pathway in a cell-type specific manner. Poszter, Aspects of Neuroscience, Varsó, Lengyelország.
- [C33] Barsy B.*, Kocsis K.*, Magyar A., Babiczky Á., Kanti V., Varga K., Hillier D., Yizhar O., Acsády L., Mátyás F. (2017): Anatomical and functional dissection of the thalamic amygdalar networks. Poszter, Amygdala Function in Emotion, Cognition & Disease Gordon Research Conference, Easton, MA, U.S.
- [C34] Babiczky Á., Kanti V., Magyar A., Porrero C., Kocsis K., García-Amado M., Hillier D., Yizhar O., Clascá F., Mátyás F. (2017): The forebrain circuits of auditory fear conditioning: diversity and specificity of thalamo-amygdaloid pathways in the mouse. Poszter, FENS Regional Meeting, Pécs.
- [C35] Barsy B.*, Kocsis K.*, Magyar A., Kanti V., Babiczky Á., Földes T. A., Varga K., Mátyás F. (2017): Anatomical and functional dissection of the thalamo-amygdala circuitry underlying associative learning. Poszter, FENS Regional Meeting, Pécs.
- [C36] Magyar A.*, Kocsis K.*, Kanti V., Babiczky Á., Varga K., Mátyás F. (2017): Electrophysiological characterization of the lateral thalamoamygdalar pathway in a cell-type specific manner. Poszter, FENS Regional Meeting, Pécs.
- [C37] Magyar A.*, Kocsis K.*, Kanti V., Babiczky Á., Varga K., Mátyás F. (2017): Electrophysiological characterization of the lateral thalamoamygdalar pathway in a cell-type specific manner. Poszter, HuNDoc, Pécs.

Válogatott hivatkozások

- Alföldi P, Rubicsek G, Cserni G & Obál F (1990). Brain and core temperatures and peripheral vasomotion during sleep and wakefulness at various ambient temperatures in the rat. *Pflugers Arch* **417**, 336–341.
- Barsy B, Kocsis K, Magyar A, Babiczky Á, Szabó M, Veres JM, Hillier D, Ulbert I, Yizhar O & Mátyás F (2020). Associative and plastic thalamic signaling to the lateral amygdala controls fear behavior. *Nat Neurosci* **23**, 625–637.
- Bartlett EL (2013). The organization and physiology of the auditory thalamus and its role in processing acoustic features important for speech perception. *Brain Lang* **126**, 29–48.
- Blasiak T, Zawadzki A & Lewandowski MH (2013). Infra-Slow Oscillation (ISO) of the Pupil Size of Urethane-Anaesthetised Rats ed. Dickson CT. *PLoS One* **8**, e62430.
- Bordi F & LeDoux JE (1994). Response properties of single units in areas of rat auditory thalamus that project to the amygdala - I. Acoustic discharge patterns and frequency receptive fields. *Exp Brain Res* **98**, 261–274.
- Clement EA, Richard A, Thwaites M, Ailon J, Peters S & Dickson CT (2008). Cyclic and sleep-like spontaneous alternations of brain state under urethane anaesthesia. *PLoS One* **3**, e2004.
- Collins KJ, Exton-Smith AN & Dore C (1981). Urban hypothermia: preferred temperature and thermal perception in old age. *BMJ* **282**, 175–177.
- Csernai M, Borbély S, Kocsis K, Burka D, Fekete Z, Balogh V, Káli S, Emri Z & Barthó P (2019). Dynamics of sleep oscillations is coupled to brain temperature on multiple scales. *J Physiol* **597**, 4069–4086.
- Cservenak M, Keller D, Kis V, Fazekas EA, Ollos H, Leko AH, Szabo ER, Renner E, Usdin TB, Palkovits M & Dobolyi A (2017). A thalamo-hypothalamic pathway that activates oxytocin neurons in social contexts in female rats. *Endocrinology* **158**, 335–348.
- Deboer T & Tobler I (1995). Temperature dependence of EEG frequencies during natural hypothermia. *Brain Res* **670**, 153–156.
- Dijk DJ & Czeisler C a (1995). Contribution of the circadian pacemaker and the sleep homeostat to sleep propensity, sleep structure, electroencephalographic slow waves, and sleep spindle activity in humans. *J Neurosci* **15**, 3526–3538.
- Driver HS, Dijk DJ, Werth E, Biedermann K & Borbely AA (1996). Sleep and the sleep electroencephalogram across the menstrual cycle in young healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* **81**, 728–735.
- Fekete Z, Csernai M, Kocsis K, Horváth ÁC, Pongrácz A & Barthó P (2017). Simultaneous in vivo recording of local brain temperature and electrophysiological signals with a novel neural probe. *J Neural Eng* **14**, 034001.
- Fernandez LMJ & Lüthi A (2020). Sleep spindles: Mechanisms and functions. *Physiol Rev* **100**, 805–868.
- Gründemann J (2021). Distributed coding in auditory thalamus and basolateral amygdala upon associative fear learning. *Curr Opin Neurobiol* **67**, 183–189.
- Hayashi H, Sumino R & Sessle BJ (1984). Functional organization of trigeminal subnucleus interpolaris: nociceptive and innocuous afferent inputs, projections to thalamus, cerebellum, and spinal cord, and descending modulation from periaqueductal gray. *J Neurophysiol* **51**, 890–905.
- Hayward J & Baker M (1969). A comparative study of the role of the cerebral arterial blood in the regulation of brain temperature in five mammals. *Brain Res* **16**, 417–440.
- Kawamura H & Sawyer CH (1965). Elevation in brain temperature during paradoxical sleep. *Science* **150**, 912–913.
- Komura Y, Tamura R, Uwano T, Nishijo H & Ono T (2005). Auditory thalamus integrates visual inputs into behavioral gains. *Nat Neurosci* **8**, 1203–1209.
- Kovalzon VM (1973). Brain temperature variations during natural sleep and arousal in white rats. *Physiol Behav* **10**, 667–670.
- Krauchi K & Deboer T (2010). The interrelationship between sleep regulation and thermoregulation. *Front Biosci (Landmark Ed)* **15**, 604–625.
- LaManna JC, McCracken KA, Patil M & Prohaska OJ (1989). Stimulus-activated changes in brain tissue temperature in the anesthetized rat. *Metab Brain Dis* **4**, 225–237.
- Lecci S, Fernandez LMJ, Weber FD, Cardis R, Chatton J-Y, Born J & Lüthi A (2017). Coordinated infraslow neural and cardiac oscillations mark fragility and offline periods in mammalian sleep. *Sci Adv* **3**, e1602026.
- LeDoux JE, Farb C & Ruggiero D a (1990). Topographic organization of neurons in the acoustic thalamus that project to the amygdala. *J Neurosci* **10**, 1043–1054.
- LeDoux JE, Sakaguchi A & Reis DJ (1984). Subcortical efferent projections of the medial geniculate nucleus mediate emotional responses conditioned to acoustic stimuli. *J Neurosci* **4**, 683–698.
- Linke R, De Lima AD, Schwegler H & Pape HC (1999). Direct synaptic connections of axons from superior colliculus with identified thalamo-amygdaloid projection neurons in the rat: possible substrates of a subcortical visual pathway to the amygdala. *J Comp Neurol* **403**, 158–170.
- Lipshetz B, Khasabov SG, Truong H, Netoff TI, Simone DA & Giesler GJ (2018). Responses of thalamic

- neurons to itch- and pain-producing stimuli in rats. *J Neurophysiol* **120**, 1119–1134.
- Lopes G, Bonacchi N, Frazão J, Neto JP, Atallah B V., Soares S, Moreira L, Matias S, Itskov PM, Correia PA, Medina RE, Calcaterra L, Dreosti E, Paton JJ & Kampff AR (2015). Bonsai: an event-based framework for processing and controlling data streams. *Front Neuroinform* **9**, 7.
- Lőrincz ML, Geall F, Bao Y, Crunelli V & Hughes SW (2009). ATP-dependent infra-slow (<0.1 Hz) oscillations in thalamic networks. *PLoS One* **4**, e4447.
- Lyamin OI, Kosenko PO, Korneva SM, Vyssotski AL, Mukhametov LM & Siegel JM (2018). Fur Seals Suppress REM Sleep for Very Long Periods without Subsequent Rebound. *Curr Biol* **1–6**.
- Malkinson TJ, Cooper KE & Veale WL (1988). Physiological changes during thermoregulation and fever in urethane-anesthetized rats. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* **255**, R73–R81.
- Mantini D, Perrucci MG, Del Gratta C, Romani GL & Corbetta M (2007). Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain. *Proc Natl Acad Sci* **104**, 13170–13175.
- Nabavi S, Fox R, Proulx CD, Lin JY, Tsien RY & Malinow R (2014). Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* **511**, 348–352.
- Parri HR & Crunelli V (2001). Pacemaker calcium oscillations in thalamic astrocytes *in situ*. *Neuroreport* **12**, 3897–3900.
- Pouille F & Scanziani M (2001). Enforcement of temporal fidelity in pyramidal cells by somatic feed-forward inhibition. *Science (80-)* **293**, 1159–1163.
- Raymann RJEM, Swaab DF & Van Someren EJW (2008). Skin deep: Enhanced sleep depth by cutaneous temperature manipulation. *Brain* **131**, 500–513.
- Rosanova M & Ulrich D (2005). Pattern-specific associative long-term potentiation induced by a sleep spindle-related spike train. *J Neurosci* **25**, 9398–9405.
- Rossant C, Kadir SN, Goodman DFM, Schulman J, Hunter MLD, Saleem AB, Grosmark A, Belluscio M, Denfield GH, Ecker AS, Tolias AS, Solomon S, Buzsáki G, Carandini M & Harris KD (2016). Spike sorting for large, dense electrode arrays. *Nat Neurosci* **19**, 634–641.
- Van Someren EJW (2000). More Than a Marker: Interaction Between the Circadian Regulation of Temperature and Sleep, Age-Related Changes, and Treatment Possibilities. *Chronobiol Int* **17**, 313–354.
- Van Someren EJW (2004). Sleep propensity is modulated by circadian and behavior-induced changes in cutaneous temperature. *J Therm Biol* **29**, 437–444.
- Stein BE & Dixon JP (1978). Superior colliculus cells respond to noxious stimuli. *Brain Res* **158**, 65–73.
- Steriade M, Deschenes M, Domich L & Mulle C (1985). Abolition of spindle oscillations in thalamic neurons disconnected from nucleus reticularis thalami. *J Neurophysiol* **54**, 1473–1497.
- Steriade M, McCormick DA & Sejnowski TJ (1993). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* **262**, 679–685.
- Sund-Levander M, Forsberg C & Wahren LK (2002). Normal oral, rectal, tympanic and axillary body temperature in adult men and women: a systematic literature review. *Scand J Caring Sci* **16**, 122–128.
- Tang LS, Taylor AL, Rinberg A & Marder E (2012). Robustness of a Rhythmic Circuit to Short- and Long-Term Temperature Changes. *J Neurosci* **32**, 10075–10085.
- Tasaka G ichi, Feigin L, Maor I, Groysman M, DeNardo LA, Schiavo JK, Froemke RC, Luo L & Mizrahi A (2020). The Temporal Association Cortex Plays a Key Role in Auditory-Driven Maternal Plasticity. *Neuron* **107**, 566-579.e7.
- Wang H, Wang B, Normoyle KP, Jackson K, Spitler K, Sharrock M, Miller CM, Best C, Llano D & Du R (2014). Brain temperature and its fundamental properties: A review for clinical neuroscientists. *Front Neurosci* **8**, 1–17.
- Weinberger NM (2011). The medial geniculate, not the amygdala, as the root of auditory fear conditioning. *Hear Res* **274**, 61–74.
- Whitten T a, Martz LJ, Guico A, Gervais N & Dickson CT (2009). Heat synch: inter- and independence of body-temperature fluctuations and brain-state alternations in urethane-anesthetized rats. *J Neurophysiol* **102**, 1647–1656.