

A krónikus stressz hatása patkányok limbikus központjaira: kísérletes kvantitatív elektronmikroszkópos vizsgálatok

Doktori (PhD) Értekezés Tézisei

Csabai Dávid

Klinikai Idegtudományok Doktori Iskola

Doktori Iskolavezető: Prof. Dr. Janszky József

Programvezető: Prof. Dr. Tényi Tamás

Témavezető:

Prof. Dr. Czéh Boldizsár



Pécsi Tudományegyetem

Általános Orvostudományi Kar

Laboratóriumi Medicina Intézet és

Szentágothai János Kutatóközpont

Pécs

2023.

1. Bevezetés

A környezeti és belső ingerekre adott stresszválasz célja a homeosztázis fenntartása, a szervezetet megóvása a negatív ingerektől és a hasonló jövőbeli behatások hatékonyabb elkerülése, kompenzációja. A krónikusan megjelenő stressz olyan, a fiziológiástól eltérő elváltozásokat okozhat különböző szervrendszerekben – így a központi idegrendszerben is – melyek számos mentális zavar kialakulásában játszhatnak szerepet.

A krónikus stressz több genetikai tényezővel közrejátszva hozzájárul a globálisan jelentős szociális, gazdasági és egészségügyi terhet jelentő major depresszió (Major Depressive Disorder, MDD) kialakulásához (Flint & Kendler, 2014; Shadrina et al., 2018). Ismert, hogy MDD-s betegek egyes agyi régióinak – köztük a prefrontális kéreg (prefrontal cortex, PFC) és a hippocampus (HC) – elváltozása közrejátszik a betegség kialakulásában (Duman & Aghajanian, 2012b; Phillips et al., 2015). A krónikus stressz a HPA-tengelyen (hipotalamusz-hipofízis-mellékvesekéreg tengely) is zavart okoz, mely szintén hozzájárulhat az MDD kialakulásához (Jacobson, 2014; Ross et al., 2017).

Bizonyos agyterületek hangsúlyosabb szerepet kapnak a stressz- és érzelemszabályozásban – többek közt a prefrontális kéreg, amygdala és hippocampus, melyekben a stressz funkcionális és morfológiai elváltozásokat okoz (Leuner & Shors, 2013). Krónikus enyhe stressz (chronic mild stress, CMS) hatására megváltozik többek közt a PFC citoarchitektúrája, csökken a dendritfa komplexitása és ezáltal a szinaptikus kapcsolatrendszer is redukálódik (Kolb & Gibb, 2015). A HC bizonyos GABAerg periszomatikus gátló interneuron-populációinak (parvalbumin pozitív kosársejtek, PV+) denzitása is lecsökken CMS-t követően (Czeh et al., 2005, 2015).

Az MDD egyik legjobban validált állatmodellje, a CMS hatására a HPA-tengelyen szisztémás stressz-válasz keletkezik (Willner, 2017). A stressznek kitett és arra érzékeny kísérleti állatok esetében könnyen számszerűsíthető az MDD-ben is fő tünetként jelentkező anhedónia erőssége, mely a jutalomra és örömszerzésre adott csökkent reakció (Willner, 2017). CMS során a folyamatosan variált mikrostresszorok által a HPA-tengely aktivitása és a stresszre adott válaszreakció erőssége fenntartható (Radley & Sawchenko, 2015).

A környezettel összehangolt fiziológiás és kognitív működést, a zsigeri folyamatok viselkedési mechanizmusokkal való összehangolását szabályozó régiók összefoglaló neve a limbikus rendszer (Mesulam, 2000). A limbikus rendszer legfőbb projekciós célpontja a prefrontális kéreg, a hipotalamusz, a hippocampus és azon kortikális régiók, melyek a viselkedés és motoros válaszreakciók irányításában játszanak szerepet (Herman et al., 2005).

A PFC szoros kapcsolatban áll más az érzelmeket, memóriát és kognitív folyamatokat vezérlő agyi központokkal is. Az infralimbikus kéreg (mPFC IL) egyik legfontosabb feladata a krónikus stresszre adott válaszok koordinálása (Flak et al., 2012). Az mPFC neuronok arborizációja stressz hatására redukálódik (Cook & Wellman, 2004; Liston et al., 2006; Liu & Aghajanian, 2008; Radley et al., 2004, 2006), így a dendritfa átrendeződés alapján a régióban található szinapszisok számának elváltozása is várható.

A hippocampus a téri tájékozódásban, tanulásban és kognitív működésben nélkülözhetetlen agyi képlet (Sigurdsson & Duvarci, 2016), melyre a stressz is negatív hatással van (Lucassen et al., 2014; McEwen et al., 2015). A CMS a neuronális működés és struktúra malformációját okozza, mely leginkább a HC neuronok dendritfájának zsugorodásában, az arborizáció komplexitásának csökkenésében és a teljes HC térfogatcsökkenésében mutatkozik (Bessa et al., 2009). Immunhisztokémiai vizsgálatok által ismert, hogy a HC piramissejtek szómáján létrejövő szinaptikus kapcsolatok kizárólag GABAerg axo-szomatikus gátlást közvetítenek (Megias et al., 2001). A GABAerg inhibíció kritikus szerepet tölt be a HC piramissejtek tüzelési mintázatának szabályozásában (Buzsáki & Wang, 2012; Wang, 2010), melynek jelentős részét a HC parvalbumin pozitív (PV+) GABAerg interneuronjai biztosítják (Freund & Buzsáki, 1996; Markram et al., 2004; Ribak et al., 1990). A krónikus stressz képes befolyásolni a GABAerg interneuronok működését és az általuk képzett neuronális gátlást, így megváltoztatva a limbikus rendszer, főként a hippocampus rendszerszintű működését.

A neuronok egymás közötti kommunikációjának dedikált zónája a szinapszis. A csökkent szinaptikus plaszticitás hozzájárulhat funkcionális zavarokhoz, valamint depresszióban a hangulat és az érzelmeik normális kontrolljának elváltozásához (Liang et al., 2019). Elektronmikroszkópos vizsgálatokkal igazolt, hogy a krónikus stressz a szinapszisok számbeli csökkenéséhez, átrendeződéséhez és felépítésének elváltozásához vezethet a hippocampusban (Magariños et al., 1997).

Újabb elméletek szerint a stresszválasz kulcsfontosságú szereplői a mitokondriumok (MIT), melyek szerkezete és hálózata egyaránt sérül a krónikus stressz hatására (Allen et al., 2021; Picard et al., 2018). A mitokondriumok zavarai károsan befolyásolhatják a szinaptikus kommunikációt, a plaszticitást és a túlélést, és szerepet játszanak neurodegeneratív folyamatokban (Fischer et al., 2018). Feltételezhető, hogy a krónikus stresszben és MDD-ben megjelenő viselkedésbeli elváltozások megjelenésében a MIT ultrastrukturális elváltozásai is szerepet játszanak.

2. Célkitűzések

Kutatásaink során a CMS-re érzékeny agyi régiók (HC CA1, mPFC IL) elváltozásainak elektronmikroszkópos igazolása volt. A szinaptikus kapcsolatok feltételezett denzitás-, és struktúrabeli változásait vizsgáltuk és eredményeinket összevetettük az eddigi tanulmányok megfigyeléseivel. Célunk volt továbbá az mPFC IL neuronjaiban található mitokondriumok számának és morfológiájának analízise CMS-t követően.

A kontroll és kezelt csoportok összehasonlítása mellett továbbá szándékunkban állt kontroll adatok közlése, melyek új információkat szolgáltathatnak az egészséges patkány agy anatómiájának részletesebb megértéséhez.

Részletes céljaink az alábbiak voltak:

- 1. Meghatároztuk, hogy CMS hatására, az mPFC IL areájában bekövetkező strukturális elváltozások ultrastrukturálisan, a szinapszisok számában is tapasztalhatók-e.**
- 2. CMS kezelést követően vizsgáltuk a kontroll, és anhedóniás csoportok közt feltételezhető különbséget az mPFC IL neuropil axo-spinózus szinapszisainak morfológiájában.**
- 3. Megvizsgáltuk, hogy a CMS okoz-e elváltozást a mitokondriumok számában és morfológiájában az mPFC IL kéreg neuropiljében.**
- 4. Vizsgáltuk, hogy a CMS hatására mutatózó PV+ neuronszám csökkenést a HC CA1 piramissejtjein képzett periszomatikus gátló szinapszisok számbeli csökkenése is követi-e.**
- 5. Megvizsgáltuk, hogy a CMS-nek kitett csoport HC CA1 PV+ sejtszám csökkenését a terminálisok és szinapszisok morfológiájának elváltozása is követi-e.**

3. Anyag és módszer

3.1 Állatok

A CMS-paradigma kivitelezése és az állatok agyának kivétele a dániai Aarhus Egyetemen, Prof. Ove Wiborg munkacsoportja által történt. A vizsgálatainkhoz felnőtt hím Wistar patkányokat (Taconic, Dánia) használtunk fel. A kontrollcsoportban $n = 5$ patkány, míg a stresszelt csoportban $n = 4$ állat szerepelt. Az állatok *ad libitum* hozzáférhető tápját és vizét, és a cirkadián ritmust csak a stressznek kitett csoport esetében változtattuk a CMS protokollnak megfelelően.

3.2 Depresszió állatmodell

A CMS protokoll során a kezelt, stresszre érzékeny patkányokban anhedóniás állapot alakul ki. Az állatokat két homológ csoportba osztották baseline szacharózfelvételük alapján, majd a kezelt patkányokat 9 héten át mikrostresszoroknak tették ki. A kontroll csoport egyedeit zavartalanul, standard körülmények között tartották. A stressz procedúra hét különböző stresszort tartalmazott: egy periódus váltakozó világítás, stroboszkóp, páros elhelyezés, táp-, vagy vízmegvonás, két periódus nedves alom és három periódus 45°-ban megdőntött ketrec.

Az állatok viselkedését szacharóz fogyasztási teszttel (sucrose consumption test, SCT) kategorizálták. A CMS-re érzékeny állatok szacharózfelvele csökkent a baseline-hoz képest, amely a depresszióhoz hasonló anhedóniás viselkedésre utal. Kutatásunkhoz a kontroll állatok mellett erősen anhedóniás állatokat alkalmaztunk.

3.3 Perfúzió, Agyszövet Preparáció és Immunhisztokémiai Jelölés

Az állatok túlalatatása nátrium pentobarbitállal (200 mg/ml feloldva 10%-os etanolban) történt, ezt követően jéghideg 0.9%-os fiziológiás sóoldattal, majd 0.1 M foszfátpufferben (PB, pH 7.4) oldott 0.2% glutáraldehidet tartalmazó 4%-os paraformaldehiddel (PFA) transzkardiális perfúziót hajtottunk végre. Az agyakat egy éjszakán át posztfixáltuk 4°C-on glutáraldehid nélküli PFA-ban. A szepto-temporális tengely mentén az egész PFC-ből és hippocampális formációból 80 μ m vastag koronális sorozatmetszeteket készítettünk vibratóm használatával. Minden állatból két IL-t tartalmazó metszetet választottunk ki a Bregma 3.20 és 2.20 közötti sorozatmetszetek közül, majd ozmifikációt (1% OsO₄ oldva PB-ben 30 percig) követően felszálló alkoholsorban víztelenítettük azokat (a 70%-os etanol 1% uranil-

acetátot tartalmazott). A teljes dehidratációt követően a metszeteket propilén-oxidban, majd propilén-oxid és Durcupan gyanta keverékében inkubáltuk, a kiválasztott metszeteket „flat-embedding” eljárással Durcupan gyantába ágyasztuk (Fluka-Sigma-Aldrich, Magyarország). A polimerizálódott (56°C-on, 48 órán át) mintákat fénymikroszkóp alatt ellenőriztük, majd a vizsgálat szempontjából releváns areákat (region of interest, ROI) kiválasztottuk újra-beágyazáshoz és az azt követő ultravékony metszetek készítéséhez. Az IL régiók azonosítását toluidine-vel festett félvékony (500 nm) metszeteken végeztük. Az ultravékony (60 nm) metszeteket Leica Ultracut UCT mikrotómmal készítettük, majd Formvar-bevonatú egylyukú réz gridekre gyűjtöttük őket. A minták kontrasztosítását uranil-acetáttal (Electron Microscopy Sciences, USA) és ólom-citráttal (Fluka-Sigma-Aldrich, Magyarország) végeztük.

A HC metszeteken anti-PV immunhisztokémiai jelölést alkalmaztunk (Czéh et al., 2015). A protokoll összefoglalva: endogén peroxidáz gátlás 1% H₂O₂ előkezeléssel; aspecifikus kötőhely blokkolás 5% normál kecske szérummal (Vector Laboratories); egy éjszakán át tartó inkubáció monoklonális anti-parvalbumin antitesttel (1:10 000, Swant, Cat #: 235). Az antigén-antitest reakciót biotinilált anti-egér másodlagos antitesttel történő inkubációval (1:200; Vector Laboratories), majd azt követő avidin-biotin-torma peroxidáz (1:200; Vectastaine Elite ABC Kit, Vector) és DAB (1:200; DAB Peroxidase Substrate Kit, Vector) kromogén segítségével végeztük. Az anhedóniás és kontrollcsoportból származó metszeteket párhuzamosan inkubáltuk, kiküszöbölve a procedura és a vizualizáció során esetlegesen fellépő fals eltérések lehetőségét.

Az elektronmikroszkópos minták esetében a Triton X-100 használatát „freeze-thaw” technikával helyettesítettük, mert előbbi használata az ultrastruktúra erős degradálódásához vezetne. Az immunjelölést követően a feljebb ismertetett általános EM mintaelőkészítés és beágyazás után a releváns CA1 régiókat kiválasztottuk, majd az ismertetett módon metszettük és kontrasztosítottuk. A képalkotást egy JEOL 1200 EX-II transzmissziós elektronmikroszkóp (TEM) segítségével végeztük.

3.4 A Neuronok, és Neuronális Struktúrák Kvantifikációja

A mintákat random kóddal láttunk el a vizsgáloi elfogultság kiküszöbölése érdekében. Az mPFC IL és a HC CA1 esetén összesen közel 8000 nagyfelbontású felvételt, 1000 piramissejtet, 25000 szinaptikus terminálist és 65000 mitokondriumot

elemeztünk számszerűsítés és morfológiai analízis céljából.

A PV+ interneuronok denzitását a HC-ban random szisztémás fénymikroszkópos vizsgálatokkal határoztuk meg. A teljes dorzális hippocampust lefedő 80 μm vastagságú metszeteket tartalmazó sorozatból kiválasztott $\sim 400 \mu\text{m}$ távolságra lévő metszeteket ($n = 8-10$) anti-PV immunhisztokémiával jelöltük. A PV+ interneuronok számolása minden HC alrégió (gyrus dentatus, CA1-3) esetében külön történt. A sejtek vizsgálata és kvantifikációja $200\times$ nagyításon történt, az alrégiók kontúrjainak és rétegeinek manuális kijelölését követően.

A HC CA1 dorzális régiójában található periszomatikus gátló szinapszisokat vizsgáltuk, kizárólag a *stratum pyramidale*-ben. Kb. $20000\times$ nagyításon identifikáltuk a régió axo-szomatikus szinapszisait. A kvantifikációhoz $5000\times$ - $50000\times$ nagyítású felvételeket értékeltünk ki. Meghatároztuk a szómák területét, a szinaptikus membránhosszt, az aktív zónák számát és az axo-szomatikus terminálisok sejtmembránnal érintkező hosszát.

Az mPFC IL régió esetében az agy metszése, és az EM felvételek készítése során random szisztémás mintavételt alkalmaztunk. Az ultravékony metszetekből minden állat esetében legalább 5-5 egyenlően elosztott, egymástól 5-6 μm -es távolságra lévő metszetet választottunk ki további analízisre. Minden állatból 10 ultravékony metszetet elemeztünk TEM segítségével melyekből mindegyik kortikális réteg esetében legalább tíz nem átfedő EM felvételt készítettünk. Így összesen 400-500 EM képet analizáltunk. A vizsgált régió kortikális rétegeit (I-VI) Gabbott és munkatársai (1997) anatómiai tanulmánya alapján határoztuk meg.

A szinapszisok és mitokondriumok számolása és mérése $40000\times$ nagyításon, $\sim 15 \mu\text{m}^2$ ($3.87 \times 3.87 \mu\text{m}$) területű, „unbiased” számolási keretben történt. Az IL régióban az aszimmetrikus (I-es típusú) mellett a szimmetrikus (II-es típusú) szinapszisokat is elkülönítve számoltuk és mértük.

Minden szinapszis azonosítása és tipizálása azok szinaptikus denzitásának formája, a szinaptikus vezikulák morfológiája és a szinaptikus rés alapján történt. Meghatároztuk továbbá az összekapcsolódó membrándenzitások által kialakított szinaptikus denzitás, és a hozzá kapcsolódó terminális membrán hosszát is.

A mitokondriumok morfológiai vizsgálatát minden ötödik EM felvételen végeztük el. A MIT keresztmetszetek kontúrjából a kiértékelő szoftver segítségével számos morfológiai paramétert vizsgáltunk.

Meghatároztuk továbbá a mielinizált axonok teljes számát és denzitását is a

különböző kortikális rétegek esetében. A vizsgálat során kapott számadatokat denzitásként, és a teljes régió volumenére vonatkoztatott szinapszis-, és mitokondriumszámban (térfogat $\times$ denzitás = teljes struktúraszám) határoztuk meg.

Vizsgálataink során a CMS-el kezelt állatok hippocampusában és prefrontális régiójában egyaránt kerestük a neuronális degeneráció vagy sejthalál nyomaira utaló jeleket, mint pl. a kromatin állomány kondenzációja és a sejtmag fragmentációja, vagy a mitokondriumok megduzzadása és szétesése.

3.5 Térfogatmérés

Az infralimbikus régiók térfogatát a Cavalieri elv alapján határoztuk meg (Gundersen et al., 1988). A teljes IL kérget magába foglaló régióból koronális, 80 μ m vastagságú szeleteket gyűjtöttünk. Minden harmadik ($n=5-6$) metszetben szoftveresen jelöltük a teljes IL kérget, és elkülönítve az I, II és III-VI-os kortikális rétegek keresztmetszeti areáját Gabbott és munkatársai (1997) közleménye alapján. Mivel makroszkóposan nem különíthetők el elég pontosan a mélyebb (III-VI.) rétegek, így ezeket a térfogatmérések során egy csoportba vettük. A térfogatot a megmért régiók keresztmetszeti területe és a metszetvastagság szorzatából határoztuk meg.

3.6 Statisztikai analízis, alkalmazott szoftverek

A HC CA1 piramissejtek szómájának területét és a szinapszisok morfológiai paramétereit az Olympus iTEM szoftver használatával, manuális méréssel nyertük.

Az mPFC IL régióban végzett szám- és morfológiabeli méréseket szintén manuálisan, a Neurolucida szoftver (Verzió 11.08.2, MicroBrightField, Williston, VT, USA) segítségével végeztük el.

Az adatok statisztikai elemzését és az eredmények grafikai megjelenítését a GraphPad Prism v7.00 és Microsoft® 365 Word és Excel szoftverek segítségével végeztük. A szacharózfogyasztási adatokat kétutas varianciaanalízissel (ANOVA, stressz $\times$ idő) és azt követően Bonferroni *post hoc* teszttel elemeztük és értékeltük ki. A mérési adatok csoportszintű összehasonlítását kétoldali kétmintás *t*-próbával végeztük. A szinaptikus profilok és mitokondriumok csoportszintű paramétereinek összehasonlítását kétoldali kétmintás Student *t*-próbával végeztük, a struktúrák kortikális réteg-szerinti eloszlását kétutas varianciaanalízissel (ANOVA, stressz $\times$ kortikális réteg) és azt követően Sidak *post hoc* teszttel vizsgáltuk. A kapott eredményeket átlag $\pm$ S.E.M. (standard error of the mean) értéként ábrázoltuk. A

szignifikáns különbségeket $p \leq 0.05$ valószínűség esetén * szimbólummal, $p \leq 0.01$ valószínűség esetén ** szimbólumokkal jelöltük.

4. Eredmények

4.1 A Krónikus Enyhe Stressz hatása a kísérleti patkányok viselkedésére

A CMS hatására megjelenő anhedónia kvantifikációjára a szacharóz fogyasztási tesztet alkalmaztuk. A kilenc hétig tartó CMS szignifikánsan csökkentette az állatok szacharózfogyasztását, már a teljes protokoll befejezését megelőző hetekben is.

4.2 Az IL kéreg szinapszisainak kvantitatív EM meghatározása és a szinapszisok kortikális megoszlása

A két csoport átlagos értékeit és az összehasonlítások eredményeit az 1. táblázat mutatja.

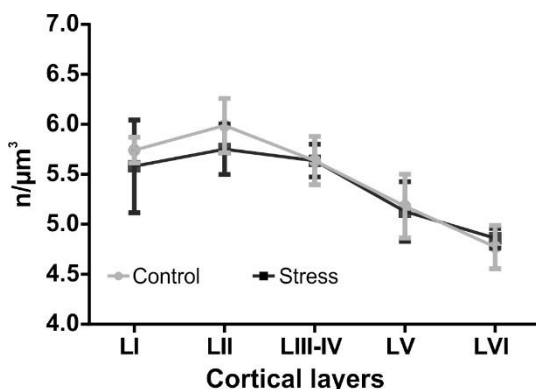
1. táblázat: Az mPFC IL kvantitatív EM analízis csoportátlagai

	Kontrollcsoport (n = 4)	Stressz csoport (n = 4)	Statisztika eredménye
A vizsgált areák teljes száma	1859	1672	-
A vizsgált axonterminálisok teljes száma	11755	8897	-
A teljes szinaptikus denzitás ($n/\mu m^3$)	5.97 ± 0.27	5.91 ± 0.26	n.s.
Az aszimmetrikus szinapszisok teljes száma	$(1.15 \pm 0.04) \times 10^9$	$(0.98 \pm 0.04) \times 10^9$	$t = 2.84, P < 0.05$
Aszimmetrikus szinaptikus denzitás ($n/\mu m^3$)	5.46 ± 0.22	5.44 ± 0.25	n.s.
A szimmetrikus szinapszisok teljes száma	$(1.06 \pm 0.11) \times 10^8$	$(0.83 \pm 0.06) \times 10^8$	$t = 1.77, P = 0.06$
Szimmetrikus szinaptikus denzitás ($n/\mu m^3$)	0.50 ± 0.06	0.46 ± 0.04	n.s.
Terminális membránhossz (nm)	488.68 ± 11.20	482.07 ± 12.55	n.s.
Szinaptikus membránhossz (nm)	207.17 ± 1.74	212.21 ± 3.40	n.s.
Teljes mielinizált axonszám	$(1.00 \pm 0.10) \times 10^8$	$(0.68 \pm 0.04) \times 10^8$	$t = 2.63, P < 0.05$
Mielinizált axon denzitás ($n/\mu m^3$)	0.47 ± 0.05	0.38 ± 0.03	n.s.

Az adatok az átlag $\pm$ S.E.M. értéket mutatják.

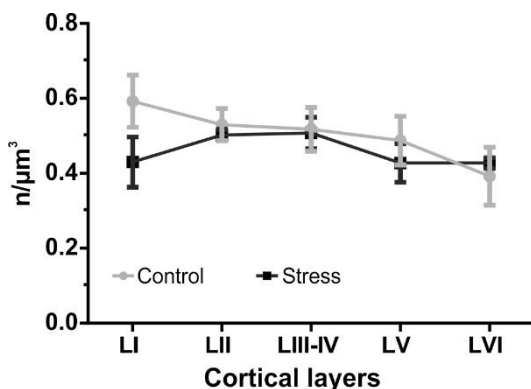
n.s.: Nem-szignifikáns különbség

A kortikális rétegek I. típusú szinaptikus denzitása a mélyebb rétegek felé csökkent, de szignifikáns különbség nem mutatkozott a csoportok között (1. ábra).



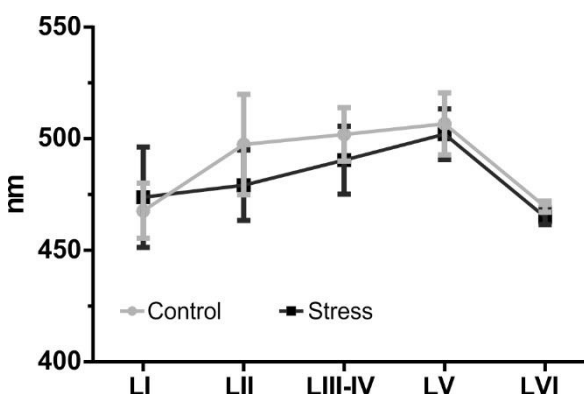
1. ábra: A kortikális rétegek szerinti I. típusú szinaptikus denzitásértékek. Mindkét csoport esetében a mélyebb rétegek felé szignifikáns, 10-20%-os csökkenés látható (kétutas ANOVA, $F_{(4,30)} = 5.29$, $P < 0.005$).

A gátló szinapszisok denzitásértéke ezzel szemben mindegyik rétegben homogén eloszlást mutatott (2. ábra).

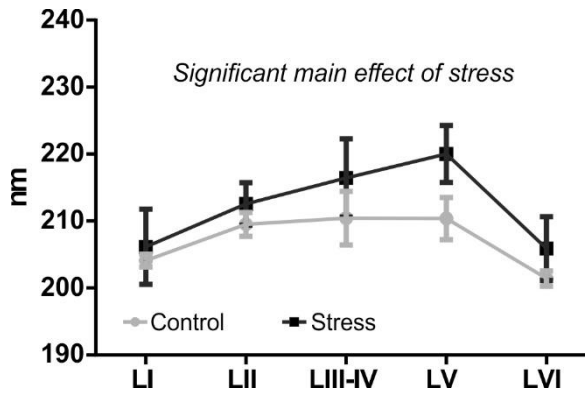


2. ábra: A szimmetrikus szinapszisok kortikális eloszlása. A rétegek és csoportok között érdemi különbség nem mutatkozik a kétutas ANOVA alapján.

A kontroll patkányok mPFC IL kérgi szinaptikus terminálisok membránhosszának átlaga 488.7 ± 13.5 nm (3. ábra), a szinaptikus kontaktusok hossza 207.2 ± 1.8 nm volt. A stressznek kitett állatok esetén a terminálisokon képzett szinaptikus denzitások minden réteg esetén nagyobbak mutatkoztak (4. ábra).



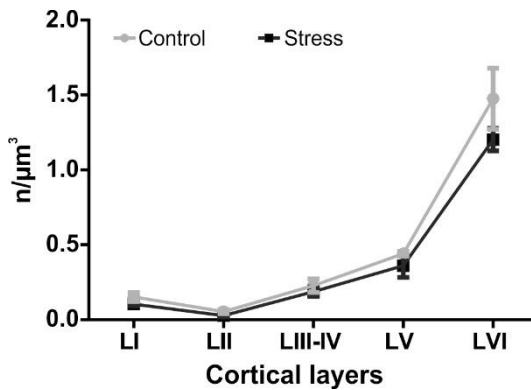
3. ábra: Az axonterminálisok átlagos membránhosszának megoszlása homogén az egyes kortikális rétegekben. A kétutas ANOVA nem talált különbséget a kérgi rétegek és a két csoport között.



4. ábra: A szinaptikus denzitások membránhosszának megoszlása eltér az egyes kortikális rétegekben (kétutas ANOVA, $F_{(4,30)} = 3.51$, $P < 0.05$) és szignifikáns különbség mutatkozik a csoportok között (kétutas ANOVA, $F_{(1,30)} = 4.32$, $P < 0.05$).

A membránhosszokhoz viszonyított szinaptikus denzitások aránya $52.7 \pm 0.9\%$ volt, és 100 axonterminálison átlagosan 116.3 ± 2.0 szinapszist számoltunk. A kapott értékek a kezelt csoportban sem különböztek.

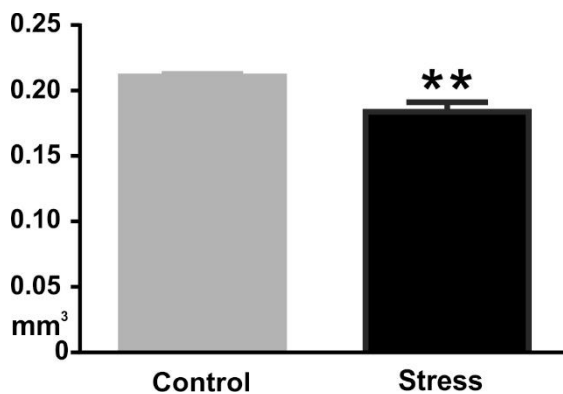
A mielinizált axonok denzitása a mélyebb rétegekben volt a legmagasabb, különösen a VI-os rétegben, ahol az átlagos $0.47 \pm 0.05 / \mu\text{m}^3$ érték háromszorosát mutatta (5. ábra).



5. ábra: A mielinizált axonok denzitásának megoszlása az egyes kortikális rétegekben a kétutas ANOVA alapján szignifikánsan eltérő ($F_{(4,30)} = 97.1$, $P < 0.0001$), míg a csoportok között nincs különbség.

4.3 A CMS hatása az IL térfogatára

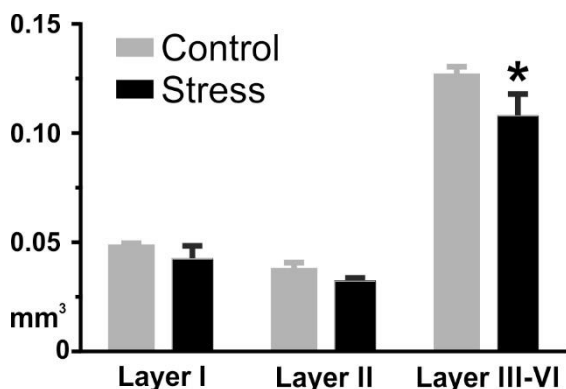
Az infralimbikus régió térfogata az anhedóniás állatok esetében szignifikánsan kisebb értéket mutatott (6. ábra).



6. ábra: Az mPFC IL régió teljes volumenének csoportátlagai. (t próba, $t = 3.57$, $** P < 0.01$).

A kérgi rétegek térfogata a stressz és a kérgi rétegek esetében is elváltozott. A

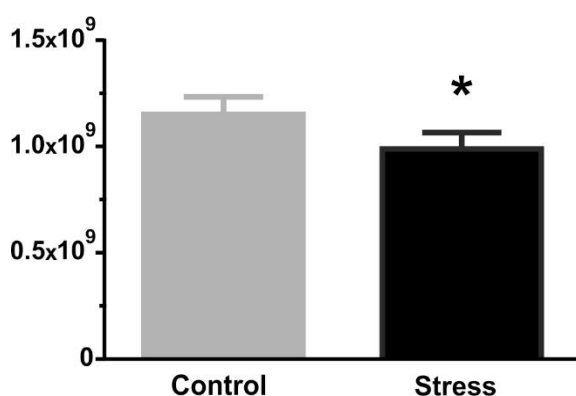
stressz hatására leginkább a mélyebb (III-VI.) rétegek volumene redukálódott (7. ábra).



7. ábra: Az mPFC IL térfogatának csoportátlagai kortikális rétegek szerint. A kétutas ANOVA szignifikáns különbséget mutatott a csoportok ($F_{(1,18)} = 17.75$, $P < 0.001$; *post hoc* analízis, * $P < 0.001$) és rétegek ($F_{(2,18)} = 575.6$, $P < 0.001$) között.

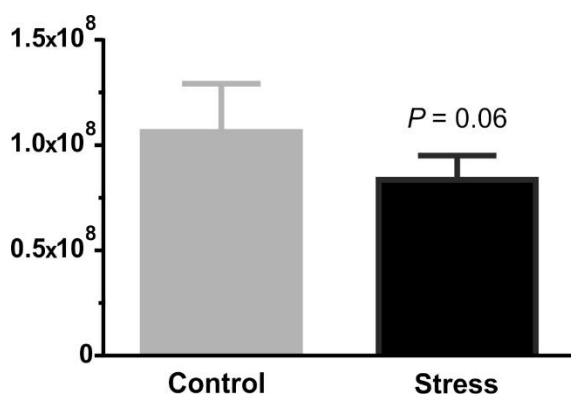
4.4 A stressz hatása az IL kéreg szinapszisainak számára

Meghatároztuk a régió szinapszisainak teljes számát, mely a krónikus stressz hatására szignifikánsan csökkent (8. ábra).



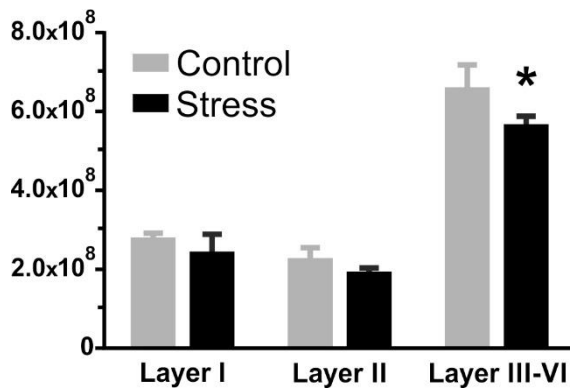
8. ábra: Az I-es típusú serkentő szinapszisok IL-kéregben kalkulált száma. (*t* próba: $t = 2.84$, * $P < 0.05$).

A szimmetrikus szinapszisok esetén a statisztikai analízis alapján nem tekinthető szignifikánsnak a csökkenés (9. ábra).



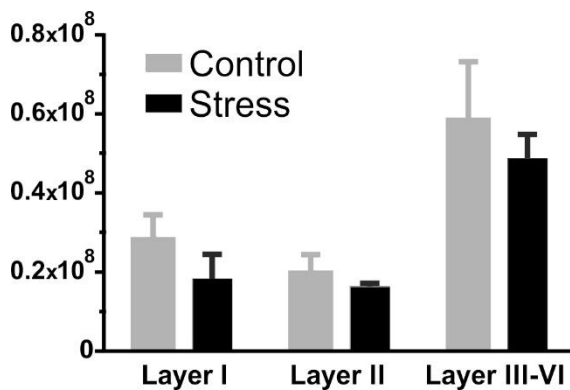
9. ábra: A II-es típusú gátló kontaktusok IL-kéregben kalkulált teljes száma. (*t* próba: $t = 1.77$, $P = 0.06$).

Az I-es típusú szinapszisok kérgi megoszlása a stressz és a rétegek esetében is változott. A csökkenés a III-VI. kortikális rétegekben volt a legmarkánsabb (10. ábra).



10. ábra: Az aszimmetrikus szinapszisok száma különbözik a csoportok között (kétutas ANOVA, $F_{(1,18)} = 11.63$, $P < 0.01$; *post hoc* analízis, * $P < 0.05$) és az egyes kortikális rétegekben (kétutas ANOVA, $F_{(2,18)} = 252.6$, $P < 0.0001$).

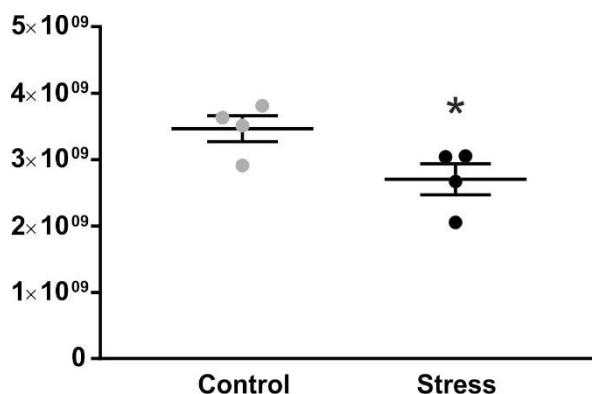
A II-es típusú szinapszisok száma a stressz és a kortikális rétegek esetében is változott (11. ábra).



11. ábra: A II-es típusú gátló szinapszisok száma eltér a két csoport között (kétutas ANOVA, $F_{(1,18)} = 5.82$, $P < 0.05$) és az egyes kortikális rétegekben (kétutas ANOVA, ($F_{(2,18)} = 49.5$, $P < 0.0001$).

4.5 A CMS hatása az IL kéreg mitokondriumaira

Az mPFC IL mitokondriumok számbeli és morfológia tulajdonságait a 2. táblázat mutatja (2. táblázat). A mitokondriumok teljes száma a stressz hatására szignifikánsan csökkent (12. ábra).



12. ábra: Az IL régió mitokondrium száma szignifikánsan csökkent CMS hatására a kontroll csoporthoz képest (*t* próba $t = 2.49$, * $P < 0.05$).

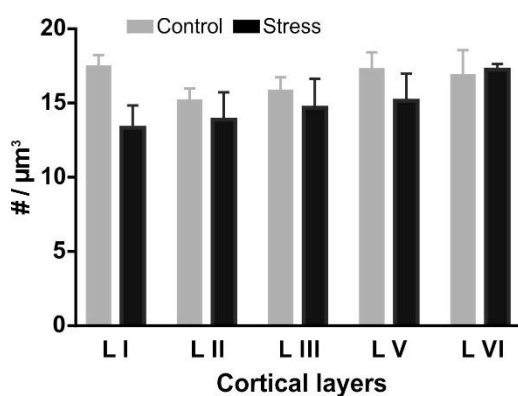
A mitokondriumok sűrűsége homogén a rétegek között, csupán gyenge tendenciózus csökkenés látható (13. ábra). A teljes mitokondriumszámok összehasonlításakor azonban markáns különbséget igazoltunk (14. ábra).

2. táblázat: Az mPFC IL mitokondriális EM analízis csoportos eredményei

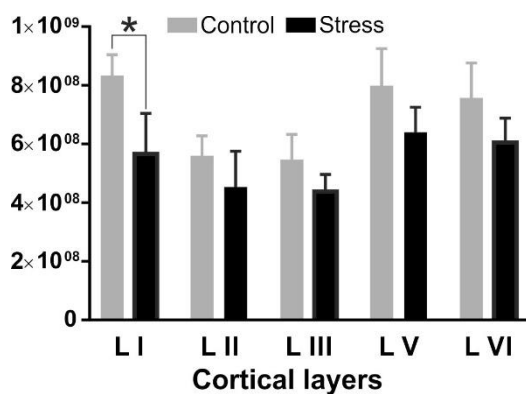
	Kontrollcsoport (n = 4)	Stressz csoport (n = 4)	Statistika eredménye
Denzitás ($\text{n}/\mu\text{m}^3$)	16.43 ± 0.89	14.31 ± 1.55	n.s.
Teljes szám (#)	$(3.47 \pm 0.19) \times 10^9$	$(2.70 \pm 0.24) \times 10^9$	$t = 2.50, P < 0.05$
Kerület (nm)	929.70 ± 31.17	977.90 ± 31.49	n.s.
Terület (μm^3)	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01	n.s.
Feret Min	186.30 ± 8.21	203.80 ± 17.90	n.s.
Feret Max	352.80 ± 10.03	365.00 ± 15.39	n.s.
Lapítottság	1.89 ± 0.02	1.83 ± 0.07	n.s.
Kompaktság	0.75	0.76 ± 0.01	n.s.
Forma faktor	0.83	0.85 ± 0.01	n.s.
Konvexitás	0.998	0.999	n.s.

Az adatok az átlag $\pm$ S.E.M. értéket mutatják.

n.s.: Nem-szignifikáns különbség



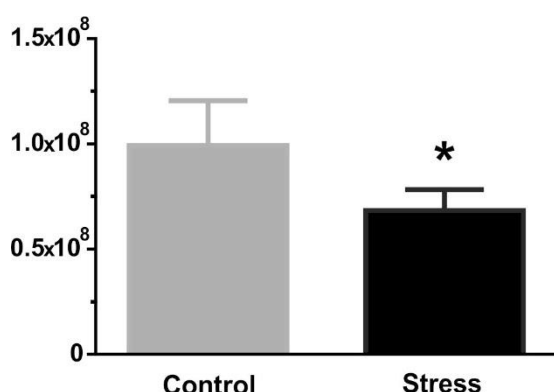
13. ábra: A mitokondriális denzitás kérgi rétegekre vonatkoztatott értékei. Csupán trendszerű, elenyésző csökkenés látható a stresszelt csoport esetében.



14. ábra: Az mPFC IL régió mitokondriumainak teljes száma külön kortikális rétegekre vetítve. Különbség mutatkozik a rétegek (kétutas ANOVA, $F_{(4,30)} = 40.23, P < 0.0001$) és a csoportok között (kétutas ANOVA, $F_{(1,30)} = 25.59, P < 0.0001$; *post hoc* analízis, * $P < 0,005$).

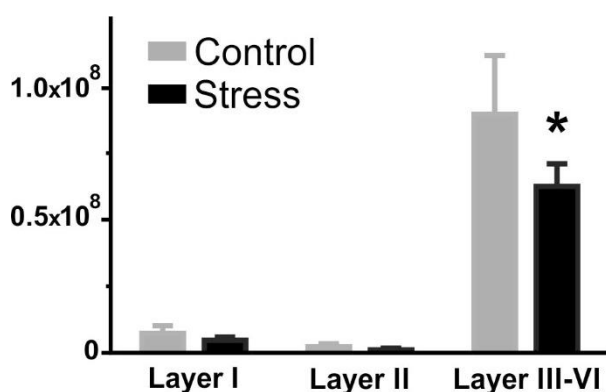
4.6 A CMS hatása az IL kéreg mielinizált axonjaira

A mielinizált axonok száma CMS hatására szignifikánsan csökkent (**15. ábra**).



15. ábra: A stressz szignifikánsan, 30%-al csökkentette a mielinizált axonok számát az IL kéregben (*t* próba, $t = 2.63$, * $P < 0.05$).

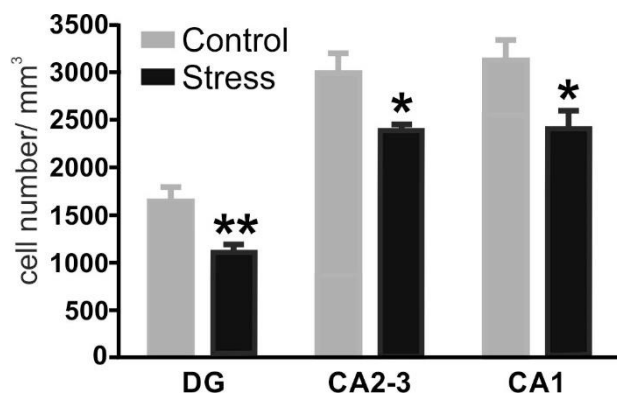
A különböző kortikális rétegekre vetített mielinizált axonszám a stressz és a rétegek esetében is eltér a két csoport között, főként a mélyebb (III-VI.) rétegekben csökken (**16. ábra**).



16. ábra: A mielinizált axonok száma különbözik a csoportokban (kétutas ANOVA, $F_{(1,18)} = 6.71$, $P = 0.01$) és a különböző kortikális rétegekben (kétutas ANOVA, $F_{(2,18)} = 147.6$, $P < 0.0001$; *post hoc* analízis * $P < 0.05$).

4.7 A hippocampus CA1 parvalbumin-pozitív sejtjeinek fénymikroszkópos analízise

Igazoltuk, hogy CMS hatására a dorzális HC mindegyik alrégiójában szignifikánsan csökkent a PV+ interneuronok száma (**17. ábra**).



17. ábra: A PV+ interneuronok számának változása az egyes hippocampális alrégiókban. (*t* próba, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$).

4.8 A hippocampus CA1 axo-szomatikus szinapszisainak EM analízise

A CMS protokoll nem okozott szignifikáns változást a kezelt csoport szinaptikus paramétereiben. A kontroll értékek, és a stresszelt csoport adatai a 3. táblázatban olvashatók.

3. táblázat: A HC CA1 kvantitatív EM analízis csoportos eredményei

	Kontrollcsoport (n = 5)	Stressz csoport (n = 4)
Az analizált piramis sejtek száma	118 ± 14.74 (Σ 591)	128 ± 11.17 (Σ 510)
Analizált terminálisok száma	507 ± 94.87 (Σ 2536)	577 ± 72.22 (Σ 2307)
Terminális / szóma keresztmetszet (#)	4.19 ± 0.21	4.49 ± 0.20
Terminális / 100 µm sejtmembrán (#)	10.12 ± 0.51	10.54 ± 0.29
Terminális / szóma felszín (#)	56.61 ± 4.31	62.29 ± 6.84
Átlagos szóma terület (µm)	41.76 ± 1.86	42.80 ± 2.88
Szinapszis / terminális arány (%)	32.13 ± 0.71	33.56 ± 1.68
Szinapszis / 100 terminális (#)	119.57 ± 2.16	119.48 ± 2.82
Átlagos terminális membránhossz (nm)	920.13 ± 24.50	898.35 ± 33.59

Az adatok az átlag ± S.E.M. értéket reprezentálják.

4.9 Neuronális degeneráció és sejthalál vizsgálata

Az elektronmikroszkópos analízis során figyeltük az esetlegesen előforduló neuronális degenerációra és/vagy sejthalálra utaló szöveti elváltozásokat, melyek mindegyike könnyedén azonosítható akár kis nagyítású EM felvételeken is. Az mPFC IL régiójában és HC CA1 piramisetrétegében vizsgált idegszövet egészségesnek mutatkozott, sem neuronális degenerációnak, sem pedig sejthalálnak nem találtuk jelét.

5. Megbeszélés

Kutatásainkat összefoglalva, elsőként igazoltuk a CMS által kiváltott szinapszis- és mitokondriumszám csökkenést patkányok mediális prefrontális kérgében. Más tanulmányokkal összhangban, az IL kéreg II-III-as rétegében található piramis sejtek stressz által kiváltott dendritikus atrófiájára utaló indirekt jeleket találtunk (Goldwater et al., 2009; Izquierdo et al., 2006; Martin & Wellman, 2011; Perez-Cruz et al., 2007, 2009; Radley et al., 2004). A neuropilben lévő szinapszisok számának csökkenése egyúttal jelezheti az axonok redukcióját is és a degeneráció által funkcionális zavar is jelentkezhet (Menon, 2011).

Az egészséges, és kóros agy pathomechanizmusának megértéséhez szükséges a szinapszisok morfológiájának és számának felmérése. Stresszelt állatok hippocampusában újra rendeződik az excitátoros szinapszisok kapcsolatrendszere (Donohue et al., 2006; Hajszan et al., 2009; Magariños et al., 1997; Sandi et al., 2003; Stewart et al., 2005) és a prefrontális kéregben is hasonló változás feltételezhető (Musazzi et al., 2015).

Az általunk talált morfológiai elváltozások hátterében lehetnek olyan molekuláris folyamatok, melyek a jelátvitel elváltozását okozzák a stressznek kitett állatok prefrontális kérgében. Az AMPA és NMDA receptorok által mediált szinaptikus jelátvitel alulműködése által a glutamát-receptorok expressziója is csökken stressznek kitett állatok mPFC-jében, így előidézve kognitív zavarokat (Yuen et al., 2012). Az MDD kórélettanában résztvevő faktorok közül – az MDD neuroplaszticitás-alapú elmélete szerint - az egyik legjelentősebb az excitátoros szinapszisok strukturális és funkcionális elváltozása (Duman, 2014; Duman et al., 2016; Duman & Aghajanian, 2012a; Licznarski & Duman, 2013; Popoli et al., 2011; Thompson et al., 2015; Timmermans et al., 2013). Ezáltal feltételezhető, hogy a szinaptikus rendszer elváltozása a limbikus rendszert negatívan befolyásolva a depresszióra jellemző kognitív zavarokhoz vezet.

Az anhedóniás patkányok mPFC IL régiójában a teljes szinapszisszám szignifikánsan csökkent. Szignifikáns növekedést találtunk a CMS-t elsenvedő állatok szinaptikus membránhossza esetén is. A megfigyelt elváltozás feltételezhetően, a szinapszisszám csökkenés hatásait ellensúlyozó kompenzációs mechanizmus.

A mélyrétegek a teljes kortikális térfogat 65%-át tették ki, így bár a stressz hatására mindegyik kortikális réteg zsugorodott, ez leginkább a III-VI. rétegek kombinált csoportjában jelentkezett. A CMS 15-20%-os csökkenést okozott az anhedóniás állatok IL kérgi szinapszisainak számában, leginkább a III-VI-os rétegi aszimmetrikus szinapszisok esetén. A mielinizált axonok száma is csökkent a mélyebb rétegekben. Megfigyeléseink a CMS által az mPFC mélyrétegekben kiváltott szinapszisszám csökkenésről összhangban állnak korábbi kutatások eredményeivel, melyek a régióban található neuronok dendritfájának atrófiáját igazolták (Perez-Cruz et al., 2007; Shansky et al., 2009) is.

Az mPFC IL mitokondriumai esetén szintén azt találtuk, hogy az organellek teljes száma szignifikánsan csökkent (**12. ábra**) a CMS hatására. Bár az anhedóniás állatok MIT denzitása homogén (**13. ábra**), a stressz-indukálta számbeli csökkenés az

I-es rétegben a legerősebb (14. ábra). A MIT morfológiában nem volt különbség a csoportok között. A megfigyelt eltérések egyik oka lehet a neuronok pusztulásából következő térfogatredukció, mely végeredményben a mitokondriumok számának csökkenését idézi elő. A stresszválaszban is szerepet játszó glükokortikoid hormonok MIT glükokortikoid receptorokon kötődve apoptózist is kiválthatnak (Sionov et al., 2006). Li és kutatócsoportja azt találták, hogy a stressz-expozíció a mitokondriumok morfológiai elváltozását okozza (Li et al., 2010). Egy másik elmélet szerint neuronok dendritfája zsugorodik és komplexitása csökken, és ez végeredményben a neuropil zsugorodásához vezet. A mitokondriumok számának markáns csökkenése az I. kortikális rétegben az apikális dendritfa stressz általi zsugorodásának és az axonok elvesztésének következménye lehet (Perez-Cruz et al., 2009; Wellman et al., 2020).

Elmondhatjuk tehát, hogy a CMS okozta dendritfa redukció, és az axonok degenerációja együttesen térfogatcsökkenést okoznak a kortikális rétegekben, és feltételezhetően ennek hatására csökken az IL régióban az aszimmetrikus szinapszisok, mielinizált axonok és mitokondriumok száma. Az elváltozás így anélkül vezethet különböző kognitív funkciók zavarához, hogy a frontális kéreg neuronjai apoptotikus folyamatokat szenvednének el.

A HC CA1 *stratum pyramidale* piramissejtekre projektáló periszomatikus szinapszisok száma és morfológiája esetén sem találtunk különbséget a csoportok között annak ellenére, hogy CMS hatására a PV+ interneuronok denzitása csökkent a stresszelt állatok hippocampusában (17. ábra). Eredményeink egyik lehetséges magyarázata, hogy az axo-szomatikus szinapszisok a plasztikusabb axo-spinózus szinapszisokkal összehasonlítva konzerváltabb struktúrák, így átrendeződésük nem, vagy lassabban történik.

A stressznek kitett patkányok HC PV+ interneuronok számbeli csökkenésének magyarázata lehet, egyfelől a stressz által okozott neurotoxikus környezet, vagy a neuronok által expresszált intracelluláris PV csökkenése, a detektálható koncentráció alá. Mivel a kontroll- és stresszelt csoport esetén is hasonlóságot mutattak a vizsgált paraméterek, arra következtethetünk, hogy a PV+ interneuronok pusztulása helyett az általuk expresszált fehérjék – köztük a parvalbumin – koncentrációja változik meg a kezelt csoportban. A PV-tartalom csökkenését más, a központi idegrendszert érintő betegségben is leírták, pl. az epilepszia állatmodelljében a kosársejtek PV-pozitivitása teljesen eltűnhet a HC CA1-ben (Scotti et al., 1997a, 1997b). Ismert, hogy krónikus stressz során a PV+ interneuronok túlzott excitációja megzavarja azok normál kalcium

puffer rendszerét (Hu et al., 2010). Valószínűsíthető, hogy a stressz hatására kialakuló, tartósan emelkedett Ca^{2+} -koncentráció károsítja a PV+ neuronokat, ezáltal azok integritása, szerkezete és funkciója is elváltozik. A PV+ kosársejtek zavara a GABA által szabályozott ritmikus oszcillációkat is negatívan befolyásolhatja a hippocampusban.

Dokumentáltuk továbbá az axo-szomatikus terminálisok és szinapszisok számát és morfológiai paramétereit a kontroll patkányok HC CA1 régiójában. Adataink összhangban vannak a kutatásokkal, melyek a rágsáló hippocampusban számszerűsítik az inhibitoros szinapszisokat (Megias et al., 2001; Takács et al., 2015).

Vizsgálataink során nem találtuk semmilyen nyomát neuronális degenerációnak és neuronpusztulásnak sem a stresszelt állatok mPFC IL kérgében, sem pedig a HC CA1 régiójában. Meg kell azonban említenünk azt is, hogy a hisztopathológiai kiértékelés az állatok feláldozása után történt, így a krónikus stressz protokoll során esetlegesen lezajló sejthalál nyom nélkül következhetett be, mivel az apoptotikus folyamatok rövid idő alatt lezajlanak.

6. Az új eredmények összefoglalása

A disszertáció alapjául szolgáló kutatásaink új eredményei az alábbiak:

1. Bizonyítottuk, hogy CMS hatására a patkányok mediális prefrontális kérgi infralimbikus régiójában csökken az axo-spinózus szinapszisok száma.
2. Kimutattuk, hogy a CMS-t követően a kezelt csoportban növekedik az axo-spinózus szinapszisok aktív zónájának hossza.
3. Dokumentáltuk, hogy a CMS-expozíció csökkenést okoz az infralimbikus régió mitokondriumainak számában, melyek morfológiája ezzel szemben változatlan marad.
4. Leírtuk, hogy a CMS-t követően az anhedóniás patkányok hippocampusában a CA1 régió piramissejtjein képzett periszomatikus gátló szinapszisok denzitása nem változik.
5. Kimutattuk, hogy a kezelt csoport hippocampus CA1 régiójában tapasztalt változások a terminálisok és szinaptikus kapcsolatok morfológiájában sem mutatkoznak.
6. Végül olyan ultrastrukturális szinaptikus és mitokondriális kontroll adatokat dokumentáltunk az mPFC IL és HC CA1 esetén, melyek a jövőbeni transzlációs kutatások kivitelezését segíthetik.

7. Köszönetnyilvánítás

Hálás köszönettel tartozom témavezetőmnek, kutatócsoportvezetőmnek, mentoromnak, szakmai és emberi példaképemnek Prof. Dr. Czéh Boldizsárnak a PhD hallgatói időszakom és az azt megelőző évek alatt nyújtott fáradhatatlan, önzetlen és mindig bölcs iránymutatásáért és kivételes támogatásáért.

Köszönetet mondok Dr. Seress László Professzor Úrnak az ösztönző segítségéért, a szakmai fortélyok átadásáért és az inspiráló ötletekért és gondolkodásmódért.

Hálás vagyok Prof. Dr. Ábrahám Hajnalka Intézetvezető Asszonynak a kellemes, befogadó és motiváló munkakörnyezetért és az elektronmikroszkóp használatának megismertetéséért.

Köszönettel tartozom a PTE-ÁOK Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium volt és jelenlegi munkatársainak, Papp Emesének, Dr. Lórándné Misley Juditnak, Domján Gábornénak és Faragó Tündének a mintaelőkészítéshez és manuális munkálatokhoz nélkülözhetetlen rutinjuk és ismereteik önzetlen átadásáért.

Köszönet illeti Prof. Ove Wiborgot és munkacsoportját, akik a vizsgálatok során felhasznált állatok CMS paradigma szerinti kezelését, fenotipizálását és az agyak kiboncolását végezték.

Disszertációm nem jöhetett volna létre barátaim és kollégáim nélkül, akik hol felvillanyozó szakmai beszélgetésekkel, hol konstruktív kritikával segítettek szakmai fejlődésemet, lelkesedésem megőrzését.

Köszönetet mondok családomnak, különösen feleségemnek, Bakonyi Évának a szerető támogatásért, a lelki, érzelmi stabilitásért és higgadt türelméért, és talán a legfontosabb – sosem tudom eléggé meghálálni kisfiamnak az értekezésem megírására áldozott játékorákat.

A disszertációhoz kapcsolódó kutatásokat és szerzőt az alábbiak szponzorálták:

- Nemzeti Agykutatási Program - KTIA_NAP_13-2014-0019 és 20017-1.2.1-NKP -2017- 00002 számú projektjei
- Lundbeck Alapítvány R83-A7631-számú projektje
- Nemzeti Kiválóság Program (TÁMOP 4.2.4. A/2-11-1-2012-0001)
- Témaerületi Kiválósági Program (TKP2021-EGA-16) projektje
- Nemzeti Tehetség Program (NTP-NFTÖ-18-B-0313)
- Nemzeti Tehetség Program (NTP-NFTÖ-22-B-0005)

8. Publikációs jegyzék

8.1 Az értekezés alapját szolgáló közlemények listája

1. **Csabai D**, Sebők-Tornai A, Wiborg O, Czéh B
A Preliminary Quantitative Electron Microscopic Analysis Reveals Reduced Number of Mitochondria in the Infralimbic Cortex of Rats Exposed to Chronic Mild Stress. FRONTIERS IN BEHAVIORAL NEUROSCIENCE. 16(May), 1–10. (2022)
Q1; IF= 3.558, Független citációk száma: 1
 2. **Csabai D**, Wiborg O, Czéh B
Reduced synapse and axon numbers in the prefrontal cortex of rats subjected to a chronic stress model for depression. FRONTIERS IN CELLULAR NEUROSCIENCE 12: Paper 24. 15 P. (2018)
Q1; IF= 3.9, Független citációk száma: 45
 3. **Csabai D**, Seress L, Varga Z, Ábrahám H, Miseta A, Wiborg O, Czéh B
Electron microscopic analysis of hippocampal axo-somatic synapses in a chronic stress model for depression. HIPPOCAMPUS 27:(1) pp. 17-27. (2017)
Q1; IF= 3,966, Független citációk száma: 19
- Az értekezés alapját képező publikációk összesített impakt faktora: 11.424, Független citációk száma összesen: 65

8.2 További közlemények

2021

1. Gombos K, Földi M, Kiss Sz, Herczeg R, Gyenesei A, Geiger L, Csabai D, Futács K, Nagy T, Miseta A, Somogyi B, Hegyi P, Szentesi A
Analyses of 5463 COVID-19 test results in Hungary: epidemiology, diagnostics and clinical outcome. FRONTIERS IN MEDICINE 2020; 7: 625673. (2021)
Q1; IF= 5.091, Független citációk száma: 5

2020

2. Nagy Sz, Vranesics A, Varga Zs, **Csabai D**, Bruszt N, Bali Zs, Perlaki G, Hernádi I, Berente Z, Miseta A, Dóczi T, Czéh B
Stress-induced microstructural alterations correlate with the cognitive performance of rats: A longitudinal in vivo diffusion tensor imaging study. FRONTIERS IN NEUROSCIENCE 14 Paper: 474 , 20 p. (2020)
Q2; IF= 4.677, Független citációk száma: 4

2018

3. Czéh B, Vardya I, Varga Z, Febbraro F, **Csabai D**, Martis L-S, Højgaard K, Henningsen K, Bouzinova EV, Miseta A, Jensen K, Wiborg O
Long-Term Stress Disrupts the Structural and Functional Integrity of GABAergic Neuronal Networks in the Medial Prefrontal Cortex of Rats. FRONTIERS IN CELLULAR NEUROSCIENCE 12: Paper 148. 21 p. (2018)
Q1; IF= 3.9, Független citációk száma: 60
4. Rusznák K, Csekő K, Varga Z, **Csabai D**, Bóna Á, Mayer M, Kozma Z, Helyes Z, Czéh B
Long-Term Stress and Concomitant Marijuana Smoke Exposure Affect Physiology, Behavior and Adult Hippocampal Neurogenesis. FRONTIERS IN PHARMACOLOGY 9: Paper 786. 20 p. (2018)
Q1; IF= 3.845, Független citációk száma: 17

2017

5. Varga Z, **Csabai D**, Miseta A, Wiborg O, Czéh B
Chronic stress affects the number of GABAergic neurons in the orbitofrontal cortex of rats. BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 316: pp. 104-114. (2017)
Q1; IF= 3,173, Független citációk száma: 22

2016

6. **Csabai D**, Csekő K, Szaiff L, Varga Z, Miseta A, Helyes Z, Czéh B
Low intensity, long term exposure to tobacco smoke inhibits hippocampal neurogenesis in adult mice. BEHAVIOURAL BRAIN RESEARCH 302: pp. 44-52. (2016)
Q1; IF= 3,002, Független citációk száma: 18
- A további publikációk összesített impakt faktora: 23.688,
Független citációk száma összesen: 126

8.3 További publikációk, konferenciaszereplések és előadások

2022

1. **Csabai D**, Sebők-Tornai A, Wiborg O, Stockmeier C A, Czéh B
Ultrastructural mitochondrial alterations in rodent model of depression and potential clinical relevance /POSZTER/
FENS Forum 2022, Párizs, Franciaország (2022)

2. Csabai D, Sebők-Tornai A, Wiborg O, Stockmeier C A, Czéh B
Ultrastructural mitochondrial alterations in rodent model of depression and potential clinical relevance /ELŐADÁS/
Second Symposium on Super-resolution and Advanced Fluorescence Microscopy and István Ábrahám Memorial Workshop, Pécs, Magyarország (2022)

2019

3. Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Quantitative ultrastructural analysis of mitochondria in the neuropil of medial prefrontal cortex of rats exposed to chronic stress /POSZTER/
48th Meeting of the European Brain and Behaviour Society, Prága, Csehország (2019)
4. Csabai D, Czéh B
STRESS IN ANIMALS: AN ECOLOGICAL VIEW /ELŐADÁS/
Summer School on Stress: From Hans Selye's original concept to recent advances, Szentpétervár, Oroszország (2019)
5. Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Identifying quantitative parameters of neuronal mitochondria in the medial prefrontal cortex of chronically stressed rats /POSZTER/
VIII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, Magyarország (2019)
6. Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Quantitative ultrastructural analysis of neuronal mitochondria in the medial prefrontal cortex of chronically stressed rats /POSZTER/
2nd Munich Winter Conference on Stress, Garmisch-Partenkirchen, Németország (2019)
7. Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Quantitative ultrastructural analysis of neuronal mitochondria in the medial prefrontal cortex of chronically stressed rats /POSZTER/
16th Biannual Conference of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen, Magyarország (2019)
8. Rusznák K, Csekő K, Varga Zs, Csabai D, Mayer M, Kozma Zs, Helyes Zs, Czéh B
Long-Term Stress and Concomitant Marijuana Smoke Exposure Affect Physiology, Behavior and Adult Hippocampal Neurogenesis /POSZTER/
48th Meeting of the European Brain and Behaviour Society, Prága, Csehország (2019)

9. Rusznák K, Csekő K, Varga Zs, Csabai D, Bóna Á, Mayer M, Kozma Zs, Helyes Zs, Czéh B
Long-Term Stress and Concomitant Marijuana Smoke Exposure Affect Physiology, Behavior and Adult Hippocampal Neurogenesis /POSZTER/
VIII. Interdiszciplináris Doktorandusz Konferencia, Pécs, Magyarország (2019)
10. Vranesics A, Nagy Sz A, Berente Z, Perlaki G, Orsi G, Varga Zs, Csabai D, Dóczy T, Czéh B
In vivo diffusion tensor imaging of the brains of stressed rats /POSZTER/
16th Biannual Conference of the Hungarian Neuroscience Society, Debrecen, Magyarország (2019)

2018

11. Rusznák K, Csekő K, Varga Zs, Csabai D, Bóna Á, Mayer M, Kozma Zs, Helyes Zs, Czéh B
The effects of long-term cannabis smoke exposure in mice /POSZTER/
Magyar Laboratóriumi Diagnosztikai Társaság 59. Nagygyűlése, Pécs, Magyarország (2018)
12. Rusznák K, Csekő K, Varga Zs, Csabai D, Mayer M, Kozma Zs, Helyes Zs, Czéh B
A stressz és marihuána füst hatása kísérleti állatokban /POSZTER/
Magyar Pszichiátriai Társaság IX. Nemzeti Kongresszusa, Debrecen, Magyarország (2018)

2017

13. Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Synapse numbers in the medial prefrontal cortex of rats subjected to chronic stress /POSZTER/
FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország (2017)
14. Rusznák K, Csekő K, Varga Zs, Csabai D, Helyes Zs, Czéh B
The Effect of Chronic Stress and Concomitant Cannabis Exposure on Behavior and Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice /POSZTER/
FENS Regional Meeting, Pécs, Magyarország (2017)
15. Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Synapse numbers in the infralimbic cortex of rats subjected to long-term stress /POSZTER/
30th ECNP Congress, Párizs, Franciaország (2017)

16. Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Quantitative analysis of synaptic contacts in the ventral medial prefrontal cortex of rats. /POSZTER/
Spring Brain Conference 2017, Koppenhága, Dánia (2017)

2016

17. Csabai D, Seress L, Varga Z, Tényi T, Miseta A, Wiborg O, Czéh B, Simon M
Quantitative electron microscopic analysis of hippocampal inhibitory synapses in an animal model for depression /POSZTER/
29th ECNP Congress, Bécs, Ausztria (2016)
18. Csabai D, Seress L, Varga Z, Miseta A, Wiborg O, Czéh B
A krónikus stressz hatása a gátló, periszomatikus szinapszisokra a hippocampusz CA1 régiójában. Egy elektronmikroszkópos vizsgálat /POSZTER/
FAMÉ Pécs, Magyarország (2016)
19. Varga Z, Csabai D, Miseta A, Wiborg O, Czéh Boldizsár
A krónikus stressz hatása a fronto-kortikális GABAerg neuronok számára /POSZTER/
FAMÉ Pécs, Magyarország (2016)
20. Csabai D, Seress L, Ábrahám H, Wiborg O, Czéh B
Stress-induced changes of axo-somatic synapses of hippocampal CA1 pyramidal neurons. An electron microscopic study. /POSZTER/
IBRO Workshop 2016, Budapest, Magyarország (2016)
21. Varga Z, Csabai D, Miseta A, Wiborg O, Czéh B
Stress-induced changes in GABAergic neuron numbers in the medial prefrontal cortex of rats /POSZTER/
IBRO Workshop 2016, Budapest, Magyarország (2016)
22. Mezriczky Z, Csabai D, Varga Z, Wiborg O, Czéh B
Chronic stress affects the number of parvalbumin-positive inhibitory neurons in the rat hippocampus /POSZTER/
IBRO Workshop 2016, Budapest, Magyarország (2016)
23. Szaiff L, Csekő K, Csabai D, Varga Z, Miseta A, Helyes Z, Czéh B
Low intensity, long term exposure to tobacco smoke inhibits hippocampal neurogenesis in adult mice /POSZTER/
IBRO Workshop 2016, Budapest, Magyarország (2016)

2015

24. Varga Z, Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Reduced number of hippocampal GABAergic neurons in an animal model for depression /POSZTER/
A Magyar Kísérletes és Klinikai Farmakológiai Társaság Experimentális Farmakológiai Szekciójának IX. Szimpóziuma. Velence, Magyarország (2015)
25. Varga Z, Csabai D, Wiborg O, Czéh B
Reduced number of hippocampal GABAergic neurons in an animal model for depression /POSZTER/
15TH ANNUAL CONFERENCE OF THE HUNGARIAN NEUROSCIENCE SOCIETY. Budapest, Magyarország (2015)

9. Irodalomjegyzék

- Allen, J., Caruncho, H. J., & Kalynchuk, L. E. (2021). Severe life stress, mitochondrial dysfunction, and depressive behavior: A pathophysiological and therapeutic perspective. *Mitochondrion*, 56, 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2020.11.010>
- Bessa, J. M., Ferreira, D., Melo, I., Marques, F., Cerqueira, J. J., Palha, J. A., Almeida, O. F. X., & Sousa, N. (2009). The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Molecular Psychiatry*, 14(8), 764–773. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.119>
- Buzsáki, G., & Wang, X. J. (2012). Mechanisms of gamma oscillations. *Annual Review of Neuroscience*, 35, 203–225. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150444>
- Cook, S. C., & Wellman, C. L. (2004). Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Journal of Neurobiology*, 60(2), 236–248. <https://doi.org/10.1002/NEU.20025>
- Czéh, B., Simon, M., van der Hart, M. G., Schmelting, B., Hesselink, M. B., & Fuchs, E. (2005). Chronic stress decreases the number of parvalbumin-immunoreactive interneurons in the hippocampus: prevention by treatment with a substance P receptor (NK1) antagonist. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(1), 67–79. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300581>
- Czéh, B., Varga, Z., Henningsen, K., Kovács, G. L., Miseta, A., & Wiborg, O. (2015). Chronic stress reduces the number of GABAergic interneurons in the adult rat hippocampus, dorsal-ventral and region-specific differences. *Hippocampus*, 25(3), 393–405. <https://doi.org/10.1002/hipo.22382>
- Donohue, H. S., Gabbott, P. L. A., Davies, H. A., Rodriguez, J. J., Cordero, M. I., Sandi, C., Medvedev, N. I., Popov, V. I., Colyer, F. M., Peddie, C. J., & Stewart, M. G. (2006). Chronic restraint stress induces changes in synapse morphology in stratum lacunosum-moleculare CA1 rat hippocampus: a stereological and three-dimensional ultrastructural study. *Neuroscience*, 140(2), 597–606. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.02.072>
- Duman, R. S. (2014). Pathophysiology of depression and innovative treatments: remodeling glutamatergic synaptic connections. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 16(2013), 11–27. <https://doi.org/10.1097/BOR.0b013e32834b5457>
- Duman, R. S., & Aghajanian, G. K. (2012a). Synaptic dysfunction in depression: Potential therapeutic targets. *Science*, 338(6103), 68–72. <https://doi.org/10.1126/science.1222939>
- Duman, R. S., & Aghajanian, G. K. (2012b). Synaptic Dysfunction in Depression: Potential Therapeutic Targets. *Science (New York, N.Y.)*, 338(6103), 68. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1222939>
- Duman, R. S., Aghajanian, G. K., Sanacora, G., & Krystal, J. H. (2016). Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants. *Nature Medicine*, 22(3), 238–249. <https://doi.org/10.1038/NM.4050>
- Fischer, T. D., Dash, P. K., Liu, J., & Waxham, M. N. (2018). Morphology of mitochondria in spatially restricted axons revealed by cryo-electron tomography. *PLoS Biology*, 16(9), e2006169. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2006169>
- Flak, J. N., Solomon, M. B., Jankord, R., Krause, E. G., & Herman, J. P. (2012). Identification of chronic

- stress-activated regions reveals a potential recruited circuit in rat brain. *The European Journal of Neuroscience*, 36(4), 2547–2555. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2012.08161.X>
- Flint, J., & Kendler, K. S. (2014). The Genetics of Major Depression. *Neuron*, 81(3), 484–503. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.01.027>
- Freund, T. F., & Buzsáki, G. (1996). Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus*, 6(4), 347–470. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1996\)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1996)6:4<347::AID-HIPO1>3.0.CO;2-I)
- Gabbott, P. L. A., Dickie, B. G. M., Vaid, R. R., Headlam, A. J. N., & Bacon, S. J. (1997). Local-circuit neurones in the medial prefrontal cortex (areas 25, 32 and 24b) in the rat: Morphology and quantitative distribution. *The Journal of Comparative Neurology*, 377(4), 465–499. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19970127\)377:4<465::AID-CNE1>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19970127)377:4<465::AID-CNE1>3.0.CO;2-0)
- Goldwater, D. S., Pavlides, C., Hunter, R. G., Bloss, E. B., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2009). Structural and functional alterations to rat medial prefrontal cortex following chronic restraint stress and recovery. *Neuroscience*, 164(2), 798–808. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.08.053>
- Gundersen, H. J. G., Bagger, P., Bendtsen, T. F., Evans, S. M., Korbo, L., Marcussen, N., Møller, A., Nielsen, K., Nyengaard, J. R., & Pakkenberg, B. (1988). The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 96(10), 857–881. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1988.tb00954.x>
- Hajszan, T., Dow, A., Warner-Schmidt, J. L., Szigeti-Buck, K., Sallam, N. L., Parducz, A., Leranth, C., & Duman, R. S. (2009). Remodeling of hippocampal spine synapses in the rat learned helplessness model of depression. *Biological Psychiatry*, 65(5), 392–400. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.09.031>
- Herman, J. P., Ostrander, M. M., Mueller, N. K., & Figueiredo, H. (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: Hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29(8), 1201–1213. <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2005.08.006>
- Hu, W., Zhang, M., Czéh, B., Flügge, G., & Zhang, W. (2010). Stress impairs GABAergic network function in the hippocampus by activating nongenomic glucocorticoid receptors and affecting the integrity of the parvalbumin-expressing neuronal network. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(8), 1693–1707. <https://doi.org/10.1038/NPP.2010.31>
- Izquierdo, A., Wellman, C. L., & Holmes, A. (2006). Brief uncontrollable stress causes dendritic retraction in infralimbic cortex and resistance to fear extinction in mice. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(21), 5733–5738. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0474-06.2006>
- Jacobson, L. (2014). Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: Neuropsychiatric aspects. *Comprehensive Physiology*, 4(2), 715–738. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130036>
- Kolb, B., & Gibb, R. (2015). Plasticity in the prefrontal cortex of adult rats. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(February), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00015>
- Leuner, B., & Shors, T. J. (2013). Stress, anxiety, and dendritic spines: What are the connections? *Neuroscience*, 251, 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.04.021>
- Li, X. M., Han, F., Liu, D. J., & Shi, Y. X. (2010). Single-prolonged stress induced mitochondrial-dependent apoptosis in hippocampus in the rat model of post-traumatic stress disorder. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 40(3), 248–255. <https://doi.org/10.1016/J.JCHEMNEU.2010.07.001>
- Liang, X., Tang, J., Chao, F. lei, Zhang, Y., Chen, L. mu, Wang, F. fei, Tan, C. xue, Luo, Y. min, Xiao, Q., Zhang, L., Qi, Y. qiang, Jiang, L., Huang, C. xia, Gao, Y., & Tang, Y. (2019). Exercise improves depressive symptoms by increasing the number of excitatory synapses in the hippocampus of CUS-Induced depression model rats. *Behavioural Brain Research*, 374(April), 112115. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112115>
- Licznerski, P., & Duman, R. S. (2013). Remodeling of axo-spinous synapses in the pathophysiology and treatment of depression. *Neuroscience*, 251, 33–50. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.09.057>
- Liston, C., Miller, M. M., Goldwater, D. S., Radley, J. J., Rocher, A. B., Hof, P. R., Morrison, J. H., & McEwen, B. S. (2006). Stress-Induced Alterations in Prefrontal Cortical Dendritic Morphology Predict Selective Impairments in Perceptual Attentional Set-Shifting. *Journal of Neuroscience*, 26(30), 7870–7874. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1184-06.2006>
- Liu, R. J., & Aghajanian, G. K. (2008). Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: Role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(1), 359–364.

- https://doi.org/10.1073/PNAS.0706679105/SUPPL_FILE/06679FIG7.PDF
- Lucassen, P. J., Pruessner, J., Sousa, N., Almeida, O. F. X., van Dam, A. M., Rajkowska, G., Swaab, D. F., & Czéh, B. (2014). Neuropathology of stress. *Acta Neuropathologica*, 127(1), 109–135. <https://doi.org/10.1007/s00401-013-1223-5>
- Magariños, A. M., Verdugo, J. M., & McEwen, B. S. (1997). Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(25), 14002–14008. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.25.14002>
- Markram, H., Toledo-Rodriguez, M., Wang, Y., Gupta, A., Silberberg, G., & Wu, C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5(10), 793–807. <https://doi.org/10.1038/NRN1519>
- Martin, K. P., & Wellman, C. L. (2011). NMDA receptor blockade alters stress-induced dendritic remodeling in medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 21(10), 2366–2373. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHR021>
- McEwen, B. S., Bowles, N. P., Gray, J. D., Hill, M. N., Hunter, R. G., Karatsoreos, I. N., & Nasca, C. (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*, 18(10), 1353–1363. <https://doi.org/10.1038/nn.4086>
- Megías, M., Emri, Z., Freund, T. F., & Gulyás, A. I. (2001). Total number and distribution of inhibitory and excitatory synapses on hippocampal CA1 pyramidal cells. *Neuroscience*, 102(3), 527–540. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(00\)00496-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(00)00496-6)
- Menon, V. (2011). Large-scale brain networks and psychopathology: a unifying triple network model. *Trends in Cognitive Sciences*, 15(10), 483–506. <https://doi.org/10.1016/J.TICS.2011.08.003>
- Mesulam, M. (2000). Behavioural neuroanatomy: large-scale networks, association cortex, frontal syndromes, the limbic system, and the hemispheric specializations. In *Principles of behavioral and cognitive neurology* (pp. 1–120). Oxford University Press.
- Musazzi, L., Treccani, G., & Popoli, M. (2015). Functional and structural remodeling of glutamate synapses in prefrontal and frontal cortex induced by behavioral stress. *Frontiers in Psychiatry*, 6(APR). <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2015.00060>
- Perez-Cruz, C., Müller-Keuker, J. I. H., Heilbronner, U., Fuchs, E., & Flügge, G. (2007). Morphology of pyramidal neurons in the rat prefrontal cortex: lateralized dendritic remodeling by chronic stress. *Neural Plasticity*, 2007. <https://doi.org/10.1155/2007/46276>
- Perez-Cruz, C., Simon, M., Flügge, G., Fuchs, E., & Czéh, B. (2009). Diurnal rhythm and stress regulate dendritic architecture and spine density of pyramidal neurons in the rat infralimbic cortex. *Behavioural Brain Research*, 205(2), 406–413. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2009.07.021>
- Phillips, M. L., Chase, H. W., Sheline, Y. I., Etkin, A., Almeida, J. R. C., Deckersbach, T., & Trivedi, M. H. (2015). Identifying predictors, moderators, and mediators of antidepressant response in major depressive disorder: Neuroimaging approaches. In *American Journal of Psychiatry* (Vol. 172, Issue 2, pp. 124–138). <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2014.14010076>
- Picard, M., McEwen, B. S., Epel, E. S., & Sandi, C. (2018). An energetic view of stress: Focus on mitochondria. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 49(December 2017), 72–85. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.01.001>
- Popoli, M., Yan, Z., McEwen, B. S., & Sanacora, G. (2011). The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nature Reviews. Neuroscience*, 13(1), 22–37. <https://doi.org/10.1038/NRN3138>
- Radley, J. J., Rocher, A. B., Miller, M., Janssen, W. G. M., Liston, C., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2006). Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 16(3), 313–320. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHI104>
- Radley, J. J., & Sawchenko, P. E. (2015). Evidence for involvement of a limbic paraventricular hypothalamic inhibitory network in hypothalamic-pituitary-adrenal axis adaptations to repeated stress. *Journal of Comparative Neurology*, 523(18), 2769–2787. <https://doi.org/10.1002/cne.23815>
- Radley, J. J., Sisti, H. M., Hao, J., Rocher, A. B., McCall, T., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 125(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.01.006>
- Ribak, C. E., Nitsch, R., & Seress, L. (1990). Proportion of parvalbumin-positive basket cells in the GABAergic innervation of pyramidal and granule cells of the rat hippocampal formation. *Journal of Comparative Neurology*, 300(4), 449–461. <https://doi.org/10.1002/cne.903000402>
- Ross, R. A., Foster, S. L., & Ionescu, D. F. (2017). The Role of Chronic Stress in Anxious Depression. *Chronic Stress*, 1. <https://doi.org/10.1177/2470547016689472>

- Sandi, C., Davies, H. A., Cordero, M. I., Rodriguez, J. J., Popov, V. I., & Stewart, M. G. (2003). Rapid reversal of stress induced loss of synapses in CA3 of rat hippocampus following water maze training. *Eur. J. Neurosci.*, 17(11), 2447–2456. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02675.x>
- Scotti, A. L., Kalt, G., Bollag, O., & Nitsch, C. (1997a). Parvalbumin disappears from GABAergic CA1 neurons of the gerbil hippocampus with seizure onset while its presence persists in the perforant path. *Brain Research*, 760(1–2), 109–117. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00309-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00309-0)
- Scotti, A. L., Kalt, G., Bollag, O., & Nitsch, C. (1997b). Parvalbumin disappears from GABAergic CA1 neurons of the gerbil hippocampus with seizure onset while its presence persists in the perforant path. *Brain Research*, 760(1–2), 109–117. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00309-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00309-0)
- Shadrina, M., Bondarenko, E. A., & Slominsky, P. A. (2018). Genetics factors in major depression disease. *Frontiers in Psychiatry*, 9(JUL), 334. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2018.00334/BIBTEX>
- Shansky, R. M., Hamo, C., Hof, P. R., McEwen, B. S., & Morrison, J. H. (2009). Stress-induced dendritic remodeling in the prefrontal cortex is circuit specific. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 19(10), 2479–2484. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHP003>
- Sigurdsson, T., & Duvarci, S. (2016). Hippocampal-Prefrontal Interactions in Cognition, Behavior and Psychiatric Disease. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 9(January), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2015.00190>
- Sionov, R. V., Cohen, O., Kfir, S., Zilberman, Y., & Yefenof, E. (2006). Role of mitochondrial glucocorticoid receptor in glucocorticoid-induced apoptosis. *Journal of Experimental Medicine*, 203(1), 189–201. <https://doi.org/10.1084/JEM.20050433>
- Stewart, M. G., Davies, H. A., Sandi, C., Kraev, I. v., Rogachevsky, V. v., Peddie, C. J., Rodriguez, J. J., Cordero, M. I., Donohue, H. S., Gabbott, P. L. A., & Popov, V. I. (2005). Stress suppresses and learning induces plasticity in CA3 of rat hippocampus: A three-dimensional ultrastructural study of thorny excrescences and their postsynaptic densities. *Neuroscience*, 131(1), 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.10.031>
- Takács, V. T., Szőnyi, A., Freund, T. F., Nyiri, G., & Gulyás, A. I. (2015). Quantitative ultrastructural analysis of basket and axo-axonic cell terminals in the mouse hippocampus. *Brain Structure & Function*, 220(2), 919–940. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0692-6>
- Thompson, S. M., Kallarackal, A. J., Kvarta, M. D., van Dyke, A. M., LeGates, T. A., & Cai, X. (2015). An excitatory synapse hypothesis of depression. *Trends in Neurosciences*, 38(5), 279–294. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.03.003>
- Timmermans, W., Xiong, H., Hoogenraad, C. C., & Krugers, H. J. (2013). Stress and excitatory synapses: from health to disease. *Neuroscience*, 248, 626–636. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2013.05.043>
- Wang, X. J. (2010). Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition. *Physiological Reviews*, 90(3), 1195–1268. <https://doi.org/10.1152/physrev.00035.2008>
- Wellman, C. L., Bollinger, J. L., & Moench, K. M. (2020). Effects of stress on the structure and function of the medial prefrontal cortex: Insights from animal models. In *International Review of Neurobiology* (1st ed., Vol. 150). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2019.11.007>
- Willner, P. (2017). The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiology of Stress*, 6, 78–93. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2016.08.002>
- Yuen, E. Y., Wei, J., Liu, W., Zhong, P., Li, X., & Yan, Z. (2012). Repeated Stress Causes Cognitive Impairment by Suppressing Glutamate Receptor Expression and Function in Prefrontal Cortex. *Neuron*, 73(5), 962–977. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.12.033>