

## Az OTKA támogatásával elért eredmények ismertetése

### A./ Célkitűzések

Az OTKA támogatásával megvalósított kutatási programunk a közelmúltban leírt lassú kérgi ritmus jelenségére koncentrált. Régóta ismert, hogy a lassú hullámú (non-REM) alvás alatt, és altatásban is, az EEG-ben delta frekvencia tartományba (0-4 Hz) eső hullámok jelentkeznek, és eközben a különböző agyterületeken lévő kérgi piramis sejtekben egyidejű kisüléssorozatok figyelhetők meg. Ebből a megfigyelésből származik az alvás alatti „szinkronizáció” fogalma. Ugyanakkor, csak nem régen vált ismertté, hogy a jelenség hátterében a piramis sejtek ritmikusan visszatérő, generalizált hiperpolarizációjának (DOWN-state, „csendes szakasz”) és hipopolarizációjának (UP-state, „aktív szakasz”) váltakozása áll. A jelenség pontos mechanizmusa nem ismert.

A mechanizmus feltárása, és a lassú kérgi ritmus funkciójának, az agykérgi működésekre gyakorolt hatásának megismerése ugyanakkor igen nagy előrelépést jelentene az alvás szerepének, szükségességének és szabályozásának feltárásában.

Az EEG delta tartományba eső teljesítménye szoros kapcsolatot mutat az alvás iránti igénnyel. Az alvásdepriváció egyik markáns következménye a deprivációt követő delta teljesítmény fokozódás a helyreállító (rebound) alvás során. A delta teljesítmény alakulásáért döntően felelős lassú kérgi ritmus mechanizmusának vizsgálata tehát közelebb vihet az alvás funkciójának megértéséhez.

A ritmikusan visszatérő hipo-, és hiperpolarizált szakaszok (UP-, és DOWN-state-k) jelentősen befolyásolhatják a külvilági ingerek bejutását. Régóta vitatott kérdés, hogy alvás alatt valóban erőteljes, általános gátlás alá kerülnek-e a szenzoros bemenetek. Számos adat utal arra, hogy a bejövő ingerek elemzése alvás alatt is megtörténik, de csak az igazán fontosak tudatosulnak és váltanak ki ébresztő hatást. Klasszikus példa az anya alvás alatti reakciója csecsemője jelzéseire. Az anya felébred a csecsemő által kiadott gyenge hangokra is, de figyelmen kívül hagyhatja a sokkal erősebb, de irreleváns környezeti ingereket.

A támogatási periódus első részében azt vizsgáltuk, hogy a lassú kérgi ritmus miként befolyásolja a szenzoros ingerek feldolgozását. A pályázati végrehajtásának későbbi szakaszában a ritmus kialakulásának mechanizmusát és az EEG delta frekvencia tartományba eső teljesítményével fennálló kapcsolatát elemeztük, illetve az agykérgi aktivitás szabályozásában fontos szerepet betöltő kolinerg rendszer működését tanulmányoztuk.

A pályázatot eredetileg 3 évre nyújtottuk be, egy viszonylag szerény támogatási igény megjelölésével. Úgy ítéltük meg, hogy az alapvető infrastruktúra, az elektrofiziológiai mérésekhez szükséges erősítők, számítógépek rendelkezésre állnak, így igen alacsony beruházási kiadásokkal számoltunk. Személyi juttatásokat nem terveztünk, a külön soron megjelenő külföldi konferencia részvételek, és az egyéb kiadások kategóriába sorolt hazai szereplések azonban ezeken a sorokon túlköltéshez vezettek, amelyeket a dologi kiadások és a felhalmozáson jelentkező megtakarítás fedezett. Az előre nem látott technikai nehézségek miatt, a kitűzött célok elérése érdekében egyszer 1 évvel, egyszer pedig félévvel kértük a futamidő meghosszabbítását, változatlan támogatás mellett.

Céljainkat lényegében elértük, bár az ezeket bemutató publikációk többsége még elbírálás alatt van, illetve az előkészítés fázisában tart (lásd publikációk jegyzéke). Mindenképpen szeretnénk, hogy záró beszámolóinkat az OTKA bizottság egy későbbi időpontban újra értékelné, az addig megjelent publikációk függvényében.

A kitűzött célok elérése érdekében akut és krónikus preparátumokban végzett kísérleteket terveztünk. A kutatási program végrehajtása közben igen izgalmas, és új eredményekkel kecsegtető együttműködés alakult ki a tanszékhez tartozó in vitro (ex vivo) munkacsoporttal. Bár az eredményeket még csak poszter formájában mutattuk be, publikálásuk az előkészítés szintjén tart, az

in vitro, in vivo altatott és in vivo szabadon mozgó preparátumokban végzett, összehangolt kísérletek igen hatékonyak lehetnek az alvás alatti lassú kérgi ritmus, és az alvás depriváció hatásainak vizsgálatában. Az ilyen jellegű kísérletek támogatására közösen pályázunk 2012-ben.

A továbbiakban az akut és a krónikus, szabadon mozgó állatokban végzett kísérleteket eredményeit külön-külön foglaljuk össze.

## **B./ Akut, uretánnal altatott patkányokban végzett kísérletek**

Az uretánnal előidézett narkózis számos szempontból közelebb áll az agy természetes funkcionális állapotához, mint a más narkotikumok használatával előidézett általános anesztézia. Igaz ez a lassú kérgi ritmus vizsgálatára is, ahol azonban az altatott állatokban jelentős eltolódás figyelhető meg az UP-state (aktív állapot) és a DOWN-state (csendes állapot) dominanciájában. Természetes alvás során az UP-state dominál, amelyet időnként DOWN-state-k szakítanak meg. Uretán altatásban az alapállapot inkább a DOWN-state, és ennek hátterében időnként UP-state-k jelentkeznek. Az uretán alternatívájaként használt ketamin-xylazin narkózis az UP-, és DOWN-state-k annyira ritmikus váltakozását idézi elő, ami természetes alvás során nem jellemző. Az uretán hatását számos transzmitter rendszer egyidejű gátlásával idézi elő, míg a ketamin glutamát antagonistá. Uretán narkózisban spontán kérgi aktivációk is jelentkeznek, és deszinkronizációt (LVFA – low voltage fast activity) farokcsípéssel is könnyű kiváltani, anélkül, hogy az állat fájdalomra utaló jeleket, például mozgást mutatna. Mindezért az uretán narkózist alkalmasabbnak gondoljuk az agykérgi aktiváció vizsgálatára szempontjából, mint a ketamin-xylazin kombinációval végzett altatást.

**1) A spontán lassú kérgi ritmus CSD (current source density) analízise.** A szomatoszenzoros kéreg hátsó láb reprezentációs területét egység aktivitás regisztrálással elektrofiziológiailag azonosítottuk, majd a mikroelektrod helyére 16 pólusú vertikális elektródegyüttest szúrva, mező potenciálokat (FP – field potential) vezettünk el. A CSD elemzéshez MATLAB-ban fejlesztettünk szoftvert, amelyben számos paraméter állítható be, illetve változtatható meg az adott elemzés igényeinek megfelelően. A lassú kérgi ritmus aktív, UP-state szakaszában az agykéreg III. rétegében jelentkezett a legkisebb latenciájú, aktivációt jelző nyelő (sink). Röviddel ezt követően az V. rétegben volt látható nyelő, majd később a VI. réteg és a fehérállomány határán egy harmadik nyelő jelent meg. A felsorolt nyelőkhöz tartozó források (source) egyrészt az I. és a II. réteg határán, másrészt a VI. rétegben voltak megfigyelhetők. Mikor a lassú kérgi ritmus aktív, UP-state szakasza véget ért és a hiperpolarizációval jellemezhető csendes, DOWN-state szakasz elkezdődött, az előzetesen látható nyelő-forrás (sink-source) konfiguráció megfordult. Azokon a helyeken, ahol előzetesen nyelő volt, forrás jelent meg és fordítva.

**2) A lassú kérgi ritmus különböző fázisai alatt adott szomatoszenzoros ingerek hatásainak elemzése.** A nervus tibialis elektromos ingerlése a lassú kérgi ritmus aktív és csendes fázisa alatt egyaránt megnövelte a multi-unit aktivitást (MUA) szomatoszenzoros kéreg hátsó láb reprezentációs részében. Az alapaktiváson felüli növekedés a MUA-ban nem különbözött szignifikánsan az aktív, illetve a csendes szakasz alatt adott ingerek esetében. A kiváltott potenciálok rövid latenciájú (<50 ms) tartományában, a kéreg mélyben fekvő rétegeiben negatív és pozitív hullámok sorozata volt megfigyelhető. A legrövidebb latenciával jelentkező negatív hullám paraméterei nem különböztek attól függően, hogy az ingerlés az UP-state, vagy a DOWN-state alatt történt-e. A CSD elemzés azonban rámutatott arra, hogy a nyelő-forrás (sink-source) mintázatok kis mértékű eltérést mutatnak az inger időzítésétől függően. Az UP-state alatt adott ingerek esetében az infragranuláris kérgi rétegek aktivációja erősebb volt. Ugyanakkor, a DOWN-state szakaszban történő ingerlés néhány esetben 500-700 ms hosszú, az alfa frekvenciatartományba (10-16 Hz) eső orsók megjelenését váltotta ki. Ezek az orsók sohasem jelentek meg, ha az inger UP-state alatt érkezett.

### **Az 1) és 2) pontban összefoglalt eredményeinket már publikáltuk:**

- Hajnik T, Nagy B, Toth A and Detari L (2009). Investigation of slow cortical rhythm in sleep deprived rats. *Frontiers in Systems Neuroscience. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society*. [\[link\]](#)
- Attila Toth, Erika Gyengesi, Laszlo Zaborszky, Laszlo Detari (2008). Interaction of slow cortical rhythm with somatosensory information processing in urethane-anesthetized rats. *Brain Res.*, 2008, 1226:99-110.

**3) Helyileg alkalmazott kolinerg drogok hatása a lassú kérgi ritmusra.** Közismert, hogy szisztémásan bejuttatott kolinerg drogok jelentős hatással vannak az EEG-re, és a tanulásra. Ugyanakkor az agykérgi kolinerg vetületet szinte kizárólagosan biztosító bazális előagyi kolinerg sejtek szelektív irtása 192-IgG-saporinnal csekély hatással van az EEG-re és az alvás-ébrenlét ritmusára, a tanulási tesztekben pedig csak akkor egyértelmű a hatása, ha a feladat folyamatos figyelmet igényel. Ez arra utal, hogy szisztémás beavatkozás esetén a hatások esetleg nem közvetlenül az agykéreg működésének megváltozása miatt alakulnak ki. A helyi, agykérgi hatások elkülönített elemzésére ezért különböző kolinerg szereket teszteltünk lokális applikáció mellett.

A kérgi aktivitást 16 pólusú, vertikális elektród array-el vezettük el, ami lehetőséget adott az agykérgi rétegek áram nyelőinek és forrásaink (CSD – current source density) elemzésére. A vertikális elektródegyüttes közelében (0,5-1 mm távolságra), az V. kérgi rétegbe helyezett mikroelektróddal a multi-unit aktivitás (MUA) változásait is nyomonkövettük. A tesztelendő anyagok oldatával átitatott kisméretű papírvatta-gombócokat közvetlenül a 16 pólusú vertikális elektródegyüttes mellé helyeztük.

A muszkarinos receptor antagonistá atropin hatását két dózisban vizsgáltuk. Az alacsonyabb dózis (10 mM) nem okozott szignifikáns változást a delta (0-3 Hz) teljesítményben. A lassú kérgi ritmus sejtaktivitás alapján számítható paraméterei („aktív” és „csendes” szakaszok hossza, az „aktív” szakaszok alatti tüzelési frekvencia) szintén nem mutattak változást. A nagyobb dózisu atropin oldat (100 mM) ugyanakkor szignifikánsan csökkentette a delta teljesítményt mind az infra-, mind a szupragranuláris rétegekben. Az azonos- és az ellenoldali EEG görbék közötti koherencia a nagyobb dózisu atropin hatására csökkent a delta (0-3 Hz) és nőtt a béta (20-48 Hz) tartományban.

A mind muszkarinos- mind nikotinos receptorokon agonista hatású carbachol (0.032 M oldat) szignifikánsan csökkentette a delta (0-3 Hz) teljesítményt a szupragranuláris rétegekben, míg az infragranuláris rétegekben a csökkenés csak tendenciaszerű volt, nem érte el a statisztikai szignifikancia szintjét. Az azonos- és az ellenoldali lassú hullámok közötti koherencia csökkent.

Az acetilkolin-észteráz blokkoló fizosztigmin szignifikánsan csökkentette a delta (0-3 Hz) teljesítményt mind az infra-, mind a szupragranuláris rétegekben.

A nikotinos receptor agonista nikotin (1 mM oldat) nem okozott szignifikáns változást a delta teljesítményben.

A carbachol, és a fizosztigmin a várt hatást váltotta ki. Az eredmények azt mutatják, hogy az agykéregben felszabaduló acetilkolin hatásának megnyújtása, illetve az agonista alkalmazása csökkenti a sejtek közötti szinkronizációt, így a delta hullámok amplitúdóját. A nikotinnal kapcsolatos eredmény sem meglepő, hiszen annak ellenére, hogy a nikotin nyilvánvalóan befolyásolja az agykéreg működését, szisztémás alkalmazás mellett is igen kismértékű változásokat figyeltek csak meg, és a nikotinos receptorok blokkolása is kevésbé befolyásolta a kérgi elektromos tevékenységet. Az igazán

meglepő eredményt a nagyobb dózisú atropin hatása jelenti. Ezt jelenleg nem tudjuk magyarázni, de mindenképpen célszerűnek tűnik a jelenség további vizsgálata.

#### **Eredményeinket már publikáltuk:**

- Tóth, A., Détári L. (2009) Current-source density analysis of the spontaneous and cholinergically modulated slow cortical rhythm *Frontiers in Systems Neuroscience. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society.* [[link](#)]
- Attila Toth, Tunde Hajnik, Laszlo Detari. (2012) Cholinergic modulation of slow cortical rhythm in urethane-anesthetized rats. *Brain Res Bull.* 2012 Jan 4;87(1):117-29.

**4) A bazális előagy területére bejuttatott szomatosztatin analóg, oktreotid hatása a kérgi aktivitásra és a lassú kérgi ritmusra.** Az agykéreg aktivitásában kiemelt szerepűnek tartott acetilkolin elsősorban a bazális előagyi kolinerg sejtekből érkező vetületből szabadul fel az agykéregben. Ennek ellenére, mint arról már szó volt, a bazális előagyi kolinerg sejtek szelektív írtása 192-IgG-saporinnal nem produkálja ugyanazokat a hatásokat, mint a muszkarinos kolinerg jelátvitel szisztémásan adott antagonistákkal való gátlása. Ez az ellentmondás mindenképpen izgalmas kutatási feladatot jelent, és többféle hipotézist is felvethet.

Korábbi kísérleteinkben kimutattuk, hogy az intracelluláris biotin feltöltéssel azonosított, bazális előagyi, NPY tartalmú, minden bizonnyal GABAerg interneuronok aktivitása fokozódik az agykérgi neuronok hiperpolarizációjával párhuzamosan a „csendes”, DOWN-state állapotok alatt. Ezt követően, azt is kimutattuk, hogy a bazális előagyba injektált NPY fokozza az EEG teljesítményét a delta tartományban és csökkenti a magasabb frekvenciák területén. Ezeket az eredményeinket az OTKA pályázat futamidejét megelőzően publikáltuk.

A bazális előagyi lokális hálózatok működésének befolyásolásában az NPY mellett hasonlóan potenciális jelölt a szomatosztatin is. A szomatosztatin kolokalizált GABAerg interneuronokban a bazális előagyban, és szomatosztatin tartalmú végződéseket írtak le a kolinerg sejtek közvetlen közelében. Ezért a szomatosztatinnal kapcsolatban feltételezhető, hogy befolyásolja a kolinerg sejtek aktivitását, és így hatással lehet az agykéreg működésére. Az OTKA támogatásával végzett kísérleteinkben a szomatosztatin analóg oktreotid hatását vizsgáltuk a bazális előagy területére való közvetlen bejuttatással.

Várakozásainkkal ellentétben azonban csak tendenciaszerű változásokat láttunk, amelyek iránya megegyezett a fiziológiás sóoldat injekciója után tapasztaltakkal. A delta teljesítmény csökkent, a magasabb frekvenciák területén (béta aktivitás) ugyanakkor növekedés volt tapasztalható. Az oktreotid hatása csak kevéssé volt erősebb, mint a fiziológiás sóoldaté. A fiziológiás sóoldattal kapcsolatban elméletileg nem várható semmilyen változás, azonban korábbi vizsgálatok is egyértelmű hatásokról számoltak be. Az injektálás térfogata és sebessége igen alacsony volt (0.5 µl 0.25 µl/min sebességgel), ez önmagában nem indokol semmilyen érzékelhető változást. Az eredmények a bazális előagy fokozott érzékenységét jelzik mindenféle külső behatással szemben, aminek további vizsgálata érdekes eredményeket hozhat.

#### **Eredményeinket nemzetközi konferenciákon mutattuk be, publikációja folyamatban van:**

- Attila Toth, Tunde Hajnik, Laszlo Detari. : Basal forebrain administration of the somatostatin-analog octreotide does not affect cortical EEG in urethane anaesthetized rats. *Brain Res Bull.* (under review)

**5) Különböző funkciójú agykérgi területek lassú kérgi ritmusának összehasonlítása.** Az irodalomban széleskörűen elterjedt nézet szerint lassú kérgi ritmus kialakul természetes alvás alatt, különböző

altatószerekkel kialakított narkózisban, kapcsolataitól megfosztott, izolált agykéreg darabban (cortical slab), sőt szelet preparátumban, in vitro is. Az állítás háttérében főleg a field potenciálokban megfigyelhető, jellegzetes, nagy amplitúdójú hullámok ismétlődése, kisebb részben a sejtaktivitás ritmikus, visszatérő csökkenése vagy megszűnése áll. Kérdéses azonban, hogy ezek az első közelítésben hasonló jelenségek azonos módon jönnek-e létre, mivel ez még különböző kérgi területek esetében sem feltétlenül igaz.

A kérdés tisztázására, első lépésben célul tűztük ki különböző agykérgi területeken (motoros, szenzoros, asszociatív) egyidejűleg regisztrált lassú kérgi ritmus összehasonlítását altatott állatokban, current-source-density (CSD) analízissel. A kísérletek technikai háttérét sikeresen megteremtettük, képesek vagyunk két, 16 csatornás elektród együttes jeleinek egyidejű regisztrálásra és elemzésére. Első kísérleteinkben az azonos-, és ellenoldali szomatoszenzoros, illetve az azonosoldali szomatoszenzoros és okcipitális kéregterületről vezettünk el spontán field potenciálokat uretánnal altatott patkányokban. Ebben a preparátumban, ellentétben a természetesen alvó állatokkal, az inaktív állapot, vagyis DOWN state jellemző a kéregre, amelyet ritmikusan visszatérő aktivációk, UP state-ek szakítanak meg. Uretán narkózisban azonban spontán is kialakulhatnak olyan periódusok, amikor az EEG néhányszor 10 s-re tartósan deszinkronizálódik, anélkül, hogy az állat az ébredés jeleit mutatná. Az ilyen állapotokban spontán kialakuló DOWN state-ek is észlelhetők.

Az egyidejűleg regisztrált területeken jelentős szinkronitás volt megfigyelhető az UP- és DOWN-state-k kialakulásában. Úgy tűnt ugyanakkor, hogy a különböző területeken kialakuló aktív és csendes periódusok morfológiája eltérhet, jellegzetes, ismétlődő hullámformák figyelhetők meg. A jelenség beható elemzésére azonban pontosan azonos karakterisztikájú elektródokra és erősítő csatornákra van szükség mindkét elektród együttes esetén, mivel az elvezetés frekvencia menete jelentősen befolyásolhatja a regisztrált jel formáját. Ennek a lehetőségnek a megteremtése egy újabb pályázat elnyerése esetén remélhető.

#### **Kezdeti eredményeinket nemzetközi konferenciákon mutattuk be**

- Tóth A, Hajnik T and Détári L (2011). Analysis of slow cortical rhythm recorded from different cortical sites. *Front. Neurosci. Conference Abstract: 13th Conference of the Hungarian Neuroscience Society (MITT)*. doi: 10.3389/conf.fnins.2011.84.00057 [[link](#)]

#### **C./ Krónikus, szabadon mozgó patkányokban végzett kísérletek:**

Bár véleményünk szerint az uretán narkózis számos szempontból hasonlít a normális alvásra, és spontán, valamint erős ingerekkel kiváltott deszinkronizációra is lehetőséget ad az állat felébredtése nélkül, vitathatatlan a krónikus, szabadon mozgó preparátumokban végzett kísérletek előnye, amikor az altatószer nem módosítja a normális működést, még akkor is, ha ez a preparátum sokkal kisebb mozgásteret biztosít a beavatkozásokra.

#### **1) Az alvásdepriváció hatása az agykérgi aktivitásra és a lassú kérgi ritmusra**

A különböző kérgi rétegekben egy időben zajló folyamatok részletes elemzése vertikális elektród-együttesel („array”-elektród) lehetséges. Magyarországon elsőként oldottuk meg az ilyen elektród éber szabadon mozgó patkányba való beültetését, és visszanyerését, ami lehetővé teszi a meglehetősen költséges elektród többszöri felhasználását. Saját tervezésű, a csatlakozóba épített és rutinszerűen alkalmazott előerősítőnek (headstage) elkészítettük a 16 csatorna erősítésére képes változatát, amelyet az array elektróddal ellátott állatokon használunk. Az OTKA támogatásával kétszeresére bővítettük számítógépes adatrögzítő rendszerünk kapacitását (egy további 16 csatornás A/D kártya és az azt kezelő mérőprogram legújabb verziójának megvásárlásával), így párhuzamosan két állat regisztrálása is lehetségessé vált. A szakirodalomban fellelhető vizsgálatok zöme különböző szenzoros kérgi területekkel kapcsolatos eredményeket közöl, ezért szükségesnek láttuk a

kísérleteinkben más kérgi területek összehasonlító elemzését is, ahogy ezt a pályázat munkatervében is vállaltuk. Első lépésként az array elektródokat a motoros kéregbe ültettük.

Kísérleteinkben megállapítottuk, hogy az alvászdeprivációt követő megnövekedett delta teljesítmény mögött elsősorban a DOWN-state szakaszok gyakoriságának növekedése felelős, bár kisebb mértékben a hullámok mélysége és szélessége is növekedett. A DOWN-state szakaszok differenciált vizsgálatával kimutattuk, hogy a hullámok átlagos mélységének növekedését nem az egyedi hullámok maximális mélységének növekedése okozza, hanem az, hogy a mélyebb hullámok gyakorisága nagyobb mértékben nő, mint a kisebbeké.

A korszerű regisztráló szoftver segítségével nagyfrekvenciájú mintavételezés is megvalósítható, ezáltal lehetővé vált a beültetett elektród-együttesről sejtaktivitás regisztrálására is szabadon mozgó állatainkban. A multiunit aktivitás (MUA) változásait a lassú kérgi ritmus során elemezve megállapítottuk, hogy a sejtaktivitás, a DOWN-state előtti néhány száz 100ms-os időszakban megnő, majd a DOWN-state alatt erőteljesen csökken.

Az array elektród segítségével különböző kérgi rétegekben zajló változásokat differenciált elemzésnek vetettük alá. Az current source density (CSD) vizsgálatával kimutattuk, hogy a DOWN-state alatt a motoros kéreg III és V rétegében erős hiperpolarizációra utaló források jelentkeznek. Az egyes rétegek szerepével kapcsolatban érdekes eredmény, hogy az uretánnal altatott állatokban ez a két réteg volt az, ahol az altatásban jellemző DOWN-state-ből az UP-state-be való átmenet során először jelentek meg nyelő (sink). Humán vizsgálatok ettől eltérő mintázatot tártak fel, ami mindenképpen indokolja további vizsgálatok elvégzését.

#### **Eredményeinket nemzetközi konferenciákon mutattuk be, publikációja folyamatban van:**

- Hajnik T, Nagy B, Toth A and Detari L (2009). Investigation of slow cortical rhythm in sleep deprived rats. *Frontiers in Systems Neuroscience. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society*. [[link](#)]
- Tünde Hajnik, Bálint Nagy, Attila Tóth and László Détári (2010): Characteristic changes in the slow cortical waves after six-hour sleep deprivation. *IBRO International Workshop, 2010. jan. 21-23. Pécs*
- Hajnik T., Nagy B., Tóth A., Détári L (2010). Homeostatic aspects of the slow cortical rhythm investigated by sleep deprivation. *7th FENS Forum of European Neuroscience, Amsterdam*
- Tunde Hajnik, Attila Toth, Laszlo Detari. : Characteristic changes in the slow cortical waves after a 6-hour sleep deprivation *Brain Res Bull. (under review)*

## **2) A felszálló aktiváló rendszerek transzmittereinek hatása és utóhatása az agykérgi EEG-re.**

Az alvás megvonása, ami az EEG delta tartományba (0-4 Hz) eső teljesítményének jelentős csökkenésével jár együtt, erőteljes pótlási folyamatokat indít. A deprivációt követő helyreállító (rebound) alvás során a delta teljesítmény jelentősen fokozódik. Bár az éberségi szint és a delta teljesítmény természetes körülmények között szoros, fordított kapcsolatot mutat egymással, bizonyos gyógyszerek megbontják az egyensúlyt. Így például a benzodiazepinek kifejezetten csökkentik az alvás alatti delta teljesítményt, annak ellenére, hogy széles körben alkalmazott altatószerek.

Vizsgálatainkban a felszálló aktiváló rendszerek működését, illetve a jelátvitelt serkentő anyagokat adtuk szabadon mozgó patkányoknak, és elemeztük az EEG delta tartományába eső teljesítmény változását, valamint a vertexről elvezethető, hangingerekre adott kiváltott potenciálokat. Alapvető kérdésünk az volt, hogy a lassú hullámok kialakulása mennyire szorosan kapcsolódik az alvás alatti homeosztatikus helyreállító folyamatokhoz. A szerek hosszabb-rövidebb időre gátolták a lassú

hullámok kialakulását, ez azonban nem feltétlenül jelenti a helyreállító folyamatok felfüggesztését. Ez a kérdés a szer hatásának megszűnése után, a rebound megjelenéséből, vagy elmaradásából ítélhető meg. Másik kérdésünk a szerek szenzoros feldolgozásra gyakorolt hatásának vizsgálata volt. Általánosságban elmondható, hogy ha lassú hullámok dominálják az EEG-t, akkor a legrövidebb latenciájú komponensek kivételével, a kiváltott potenciál csúcsainak amplitúdója megnő. A különböző aktiváló rendszerekkel kiváltott deszinkronizáció esetében azonban a kiváltott potenciál amplitúdója és a delta teljesítmény változása elválhat egymástól.

A kolinerg rendszer hatását a acetilkolinesteráz bénító ezerinnel fokoztuk, a szerotonin esetében a szelektív reuptake gátló fluoxetint alkalmaztuk. A noradrenerg rendszer aktivitását az alfa2 autoreceptor blokkoló yohimbinnel növeltük, míg a dopamin rendszer esetében a nem szelektív receptor agonista apomorfint használtuk.

Az ezerin csak rövid időre gátolta a delta teljesítményt, amit rövid rebound követett. A delta teljesítmény időbeli változását leíró görbe mintegy jobbra tolódott. A szer hatása alatt regisztrált kiváltott potenciálok nem tértek el a kontrolltól. A fluoxetin és az apomorfin esetében az erőteljes delta teljesítmény csökkenést jelentős rebound követte. A yohimbin is erősen gátolta a lassú hullámokat, de az elnyújtott hatást nem követte rebound, a kiváltott potenciálok viszont az alacsony delta teljesítmény ellenére is sokkal nagyobbak voltak mint a kontroll. A fluoxetin szintén növelte a kiváltott potenciál amplitúdóját, apomorfin hatására viszont csökkenés volt megfigyelhető.

#### **Eredményeinket nemzetközi konferenciákon mutattuk be, publikációja folyamatban van:**

Nagy B, Hajnik T, Toth A and Detari L (2009). Role of ascending activating systems in the regulation of sensory processing in rats. *Frontiers in Systems Neuroscience. Conference Abstract: 12th Meeting of the Hungarian Neuroscience Society*. doi: 10.3389/conf.neuro.01.2009.04.069 [\[link\]](#)

#### **4) Orexin hatása az agykérgi EEG frekvencia mintázatára.**

Az orexin-A és orexin-B két nemrégben megtalált neuropeptid, amelyeknek először táplálékfelvételt fokozó hatást tulajdonítottak. Ez magyarázza nevüket is, bár egy másik munkacsoporttól, amely ugyanakkor azonosította a peptideket, a szerkezetre és az előfordulás helyére utaló hipokretin nevet kapták. Az orexinek kutatásának az adott nagy lökést, hogy kimutatták szoros kapcsolatukat a narkolepsiával, amely az orexinerg átvitel hibája miatt lép fel.

Az orexinerg neuronok a hátulsó laterális hipotalamuszban találhatóak, és vetületeik behálózzák az egész agyat. Működésük fokozódása növeli az ébrenléteket, és csökkenti az alvást. Agykamrába juttatva hasonló ugyancsak ébrenléteket fokozó hatásuk van. Bár ezek az adatok régóta ismertek, éber, szabadon mozgó állatokban még nem vizsgálták hatását az agykérgi EEG frekvencia összetételére és mintázatára.

Szokásos elvezető elektródákkal ellátott, szabadon mozgó patkányok oldalkamrájába juttattuk az orexin-A-t, fecskendő pumpa segítségével. Két dózist alkalmaztunk. Az orexin jelentősen csökkentette a teljesítményt a delta (1-4 Hz) és az alfa (10-16 Hz) tartományban, míg a teta (4-10 Hz) és a béta (16-48 Hz) frekvencia tartományban jelentősen nőtt a teljesítmény. A nagyobb dózist (2,8 nM) követően erőteljes rebound jelentkezett.

#### **Eredményeinket publikációja folyamatban van:**

Attila Toth, Balazs Balatoni, Tunde Hajnik and Laszlo Detari: EEG effect of orexin A in freely moving rats, *Acta Physiologica (under review)*