

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A nucleus pedunculopontinus kolinerg neuronjai, mint az orexinerg
neuromoduláció célpontjai**

Dr. Baksa Brigitta

Témavezető: Dr. Pál Balázs Zoltán



DEBRECENI EGYETEM

Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

Debrecen, 2020

A nucleus pedunculopontinus kolinerg neuronjai, mint az orexinerg neuromoduláció célpontjai

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az elméleti orvostudományok tudományágban

Írta: Dr. Baksa Brigitta, fogorvos

Készült a Debreceni Egyetem Molekuláris Orvostudomány doktori
iskolája (élettan, neurobiológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Pál Balázs Zoltán, PhD

Az értekezés bírálói:

Dr. Birinyi András, PhD
Dr. Farkas Eszter, PhD

A bírálóbizottság:

elnök: Prof. Dr. Szöllősi János, akadémikus
tagok: Dr. Deák Ádám, PhD
Dr. Héja László, PhD
Dr. Farkas Eszter, PhD
Dr. Birinyi András, PhD

Az értekezés védésének időpontja: Debreceni Egyetem ÁOK
Belgyógyászati Intézet „A” épület tanterme
2020. március 9. 13 óra

BEVEZETÉS

A nucleus pedunculopontinus anatómiája, sejtípusai, kapcsolatai

A nucleus pedunculopontinus (PPN) a középagyban elhelyezkedő rostrocaudálisan elnyúló struktúra, melyet mediálisan a pedunculus cerebellaris superior, laterálisan a lemniscus lateralis, rostrálisan a substantia nigra határol. A nucleus parabrachialis a mag caudalis határát adja, a nucleus cuneiformis és precuneiformis pedig dorsalis irányból övezi. A pars dissipata a PPN rostralis, a pars compacta a PPN caudalis területének felel meg. Nagyszámú kolinerg sejt mellett GABAerg és glutamaterg neuronokat is tartalmaz, melyek a PPN rostrocaudalis tengelye mentén eltérő arányban és sűrűségben fordulnak elő. A kolinerg és glutamaterg neuronok száma a mag caudalis területe felé egyre növekszik, míg a GABAerg neuronok száma inkább a rostralis irány felé nő.

A PPN bemenetei számos területről erednek, úgy, mint a gerincvelő, colliculus superior, nucleus propositus hypoglossi, nucleus entopeduncularis, nucleus subthalamicus, substantia nigra pars reticularis és a cortex. A kolinerg neuronok axon kollaterálisai felszálló dorsalis és ventralis pályákat követnek. A dorsalis pálya beidegzi a colliculus superior, colliculus inferior és a thalamust. A ventralis pálya szinapszisai kimutathatók a bazális ganglionok,

substantia nigra egyes területein, area tegmentalis ventralis, nucleus subthalamicus, lateralis hypothalamus, ventralis pallidum, amygdala, mediolateralis septum és a striatum területein. A kolinerg neuronok leszálló projekciói. A nucleus pontis oralis, a nucleus gigantocellularis és a gerincevelő beidegzését biztosítják. A GABAerg és glutamaterg neuronok szinapszisairól jóval kevesebb információ áll rendelkezésünkre. Az axonjaik kevésbé kollaterizáltak, és pályái a középagyú struktúrákra és az agytörzs caudalis régiójára szorítkozik.

A PPN élettani szerepei

A PPN a retikuláris aktivációs (RAS) rendszer része, melynek szerepe van többek között az alvás ébrenlét és mozgás szabályozásában, valamint a szenzoros kapuzásban. A PPN kolinerg neuronjai ébrenlét alatt és a REM alvás ideje alatt magasabb frekvenciával tüzelnek, mint lassú hullámú alvás alatt, ezzel mutatva, hogy a RAS szerepet játszik a kortikális aktív állapot szabályozásában. Kimutatták azonban, hogy a mag sérülései nem okoznak változásokat a teljes alvás-ébrenlét ciklusban, így felmerül a kérdés, hogy vajon a mag kolinerg neuronjainak mekkora szerepe lehet az alvás-ébrenlétciklusok meghatározásában. In vivo kísérleti körülmények között a mag kolinerg neuronjainak aktivitását vizsgálva kiderült, hogy aktivitásuk epizodikus jellegű, megcáfolva azt a felvetést, mely szerint a tónusos

aktivitás szükséges az ébrenlét fenntartásához. A kolinerg neuronok aktivitásának ilyen tranzienst jellegéért és kontrolljáért az M-áram, illetve asztrocita-függő és endokannabinoid közvetített folyamatok játszhatnak szerepet. A kolinerg neuronok mellett a PPN GABAerg és glutamaterg neuronjai is hozzájárulnak az ébrenlét állapotához, valamint a kérgi aktivációhoz.

A PPN szenzoros kapuzásban betöltött szerepét a startle reflexen és annak az ún. prepulzus gátlásán figyelhetjük meg. A startle reflex egy hirtelen, potenciálisan káros behatásokra adott gyors motoros válasz. A reflex amplitúdója csökken progresszív szupranukleáris parézisben, skizofréniában pedig a prepulzus gátlás csökkenése figyelhető meg. A kolinerg neuronok szelektív optogenetikai aktivációjával kimutatták, hogy a PPN kolinerg neuronjainak stimulációja a startle reflex amplitúdóját növeli, de a prepulzus gátlást nem befolyásolja. Ez utóbbiért feltehetően a nem-kolinerg neuronok aktivációja felelős.

Jól ismert az a tény, hogy a PPN a mesencephalikus locomotor régió része. Ennek a régiónak a különböző helyeken történő stimulálása eltérő mozgásmintázatot hoz létre. Elektrofiziológiai kísérletes során kimutatták, hogy ez az eltérő neuron alpopulációk stimulálásának következménye lehet. A PPN stimulációja az izomtónus

csökkentésével a mozgást gátolják, ezzel szemben a PPN-től dorsalisán elhelyezkedő nucleus cuneiformis az izomtónust növeli és serkenti a mozgást.

A PPN neuronjainak funkcionális csoportosítása

A PPN különböző alcsoportjainak vizsgálatát több munkacsoport is elvégezte. Ezek a vizsgálatok elsősorban NADPH diaphoráz, neuronális nitrogén-monoxid szintetáz (bNOS) és kolin acetiltranszferáz (ChAT) immunhisztokémiai azonosítást alkalmaztak. Ezekkel a módszerekkel a kolinerg neuronokat tették láthatóvá, azonban transzgen egereken vizsgálatokat nem végeztek.

Celluláris szintű csoportosítás

A neuronok membránsajátosságait alapul véve Kang és Kítai 1990-ben megkülönböztette az alacsony kalciumtűskékkel (LTS) rendelkező sejteket I. típusúnak, az A-árammal (tranziens kifelé irányuló áram) és LTS-sel rendelkező neuronokat pedig II. típusúnak nevezte el. Létrehoztak egy harmadik csoportot is, melybe olyan sejtek kerültek, melyek nem rendelkeztek egyik fent megnevezett tulajdonsággal sem. Leonard és Llinas 1988-ban szintén három

kategóriát állított fel. Az I. csoportba az LTS-sel rendelkező neuronokat, a II. típusba az A-árammal rendelkező neuronokat sorolta, míg az általuk felállított III. típusú neuronok mindkét tulajdonsággal bíró sejtek voltak. Takakusai és mtsai., valamint Ye és mtsai., az I. és II. csoport neuronjait az 1988-as csoportosítás szerint végezte. Az A-árammal és LTS-sel egyidejűleg bíró sejtcsoportokat Takakusaki és mtsai. II/2, Ye és mtsai. III. csoportba rendszerezte. Ez utóbbi munkacsoport az egyik sajátossággal sem jellemezhető neuronokat IV. csoport megnevezést adott. A fent megnevezett jellemzőkön (LTS, A-áram) túl az M-áram (alacsony küszöbű, lassan aktiválódó, nem inaktiválódó feszültségfüggő kálium áram) és a magas küszöbű membránpotenciál oszcilláció (HTO) is fontos markerei a kolinerg neuronoknak. Ezen tulajdonságok kizárólag kolinerg neuronokon való létezését Bordás és mtsai. 2015-ben mutattak ki.

In vivo elektrofiziológiai csoportosítás

Az *in vivo* csoportosítás a neuronok *in vivo* tüzelési sajátosságain és azok corticalis aktivitással mutatott kapcsolatán alapuló kategorizálás, mely értelmében a kolinerg neuronok két fő körét különítették el. A kortikális lassú hullámú aktivitás aktív szakaszai alatt és a gamma aktivitás alatt tüzelő kolinerg neuronok tüzelési

frekvenciája alacsonynak mutatkozott (0,9 Hz), míg magas akcióspotenciál-tüzelési frekvenciát (31 Hz) tudtak kimutatni azon neuronok esetében, melyek elsősorban a lassú hullámú aktivitás passzív szakaszainak második felében tüzeltek és a gamma oszcillációktól nem függtek. A nem-kolinerg neuronok három populációját tudták elkülöníteni, ezek a „csendes neuronok”, „tónusosan tüzelő neuronok” és a „szabálytalanul tüzelő neuronok” csoportjai. A PPN neuronjainak további csoportosítását lehet elvégezni a REM- és non-REM alvással való kapcsolatuk alapján. A főbb csoportok a következők: ébrenlét és REM alvás alatt aktív neuronok, REM alvás alatt aktív neuronok, ébrenlét alatt aktív neuronok.

Asztrocita-neuron kommunikáció

Az asztrociták a makroglia közé tartozó, neuronok működésében és szabályozásában szerepet játszó sejtek. Egyik fontos, nemrégiben felismert feladatuk a szinapszisok szabályozása, mintegy harmadik résztvevőként „tripartite” ún. háromrészes szinapszist alkotnak. Részt vesznek a szinaptikus neurotranszmisszió beállításában Gliotranszmittereket szabadítanak fel. Az idegsejtek homeosztázisához járulnak hozzá, regulálják a káliumion koncentrációt, illetve több fontos neurotranszmitter pl. a glutamát felvételét és eliminálását is közvetítik. Hozzájárulnak egyes neuromodulációs hatásokhoz és neuronális

hálózatok szinkronizálásához is. Élettani szerepükön felül pathológiás jelentőségükről is ismert; számos kórfolyamathoz (többek között neuropszichiátriai, neurodegenerációs kórképekhez) hozzájárulnak. Az asztrociták elektromosan nem excitábilisak, akcióspotenciál-tüzelésre képtelenek, azonban az intracelluláris kalcium koncentráció megváltoztatásával kalciumhullámokat generálnak, melyek különböző gliotranszmitterek felszabadulását eredményezi. Ezek közül az egyik legfontosabb a glutamát. Az extraszinaptikus neurotranszmitterek koncentrációjának szabályozásával képesek befolyásolni a neuronok ingerlékenységét.

Neuronális excitabilitást fokozó asztrocita-függő áramok

A lassú inward áramok (SIC-ek) fázisos extraszinaptikus excitatorikus események, melyek asztrociták aktivációjának következményei, és jól elkülöníthetőek az excitatorikus posztzinaptikus áramoktól (EPSC). A SIC-ek nagyobb amplitúdóval, valamint lassabb fel-és leszállószárral rendelkeznek, mint az EPSC-k. A SIC-ek létrejötté GluN2B alegységet tartalmazó NMDA receptorok aktivációjához kötötten alakul ki, melyek a központi idegrendszerben általánosan megfigyelhetőek. Az asztrociták stimulálása a szomszédos neuronokon SIC-ek létrejöttét váltja ki, míg gátlásuk megakadályozza

azok kialakulását. Az események összefüggésben vannak az asztrocita intracelluláris kalcium koncentrációjának változásával. Munkacsoportunk kimutatta, hogy a TTX hatására a SIC-ek frekvenciája nem változik, de amplitúdója csökkent a PPN-ben, mely feltételezi, hogy a SIC-ek valószínűleg asztrocita-neuron interakciók következményei. Az esemény kinetikáját nagymértékben befolyásolja a gliotranszmitter koncentráció és a transzmitter receptorok száma.

A tónusos inward áramok lassan kialakuló nem adaptáló áramok, azonban a kapcsolatuk az asztrocitákkal kevésbé egyértelmű. Tudjuk róla, hogy nagyrészt, de nem kizárólagosan extraszinaptikus glutamát és glicin által közvetített események következményei és SIC-ekkel egyidőben is előfordulhatnak.

A PPN SIC-einek sajátosságai és a rajtuk érvényesülő neuromodulációs hatások

Csakúgy, mint más agyterületeken, a PPN sejtjein kialakuló SIC-ek lassabb kinetikával és nagyobb amplitúdóval rendelkeznek, mint az excitatorikus posztszinaptikus áramok. A PPN lassú inward áramainak sajátosságai a következők: (1.) asztrociták aktivációjának, következményes glutamát felszabadulás és GluN2B alegységet

tartalmazó NMDA receptort működésbe hozásának következményei. (2.) Kolinerg és nem kolinerg neuronokon is hasonló arányban fordulnak elő, tehát a sejtek neurokémiai alcsoportjaival nincs összefüggésben. (3.) A SIC-ek nem szinkronizálják a szomszédos neuronokat. (4.) Előfordulásuk nagymértékben függ a neuron-asztrocita távolságtól. (5.) A különböző neuromodulációs hatások a SIC-ekre gyakorolt hatása függ az eredeti SIC aktivitástól. (6.) A SIC-eken megfigyelt neuromodulációs hatások valószínűleg az NMDA receptor deszenzitizációján keresztül valósulnak meg.

Orexinerg neuromoduláció

Az orexinek szintén hatással vannak a PPN sejteire. Ennek a lateralis hypothalamusban található orexinerg neuronokból felszabaduló peptidnek két típusát tartjuk számon, az orexin-A-t és orexin-B-t. G_q protein kapcsolt 1-es (OXR1) és 2-es orexin receptorokon (OXR2) keresztül fejt ki hatását, mely receptorok az agy különböző területein megtalálhatók. Eredetileg a táplálékfelvétellel összefüggő hormonnaként azonosították. Ma már ismerjük az alvás ébrenlét szabályozásában betöltött szerepét is, ezen felül több pathofiziológiai folyamat résztvevőjeként is számontartjuk, mint például a narcolepsiában. A prepro-orexin elvesztése egerekben az embereknél jellemző

narkolepszia jellegű állapotot hoz létre nappali álmosággal, kataplexiával. Az OXR2 elvesztése ettől enyhébb tüneteket okozott, azonban az OXR1 hiánya nem okozott az ébrenlét stabilitásával járó tüneteket. Narkolepsiás emberek esetében az orexinerg neuronok hiánya és az orexin-A mennyiségének csökkenése volt szembevetendő. Az orexinerg rendszer táplálékfelvétellel való kapcsolatát jelzi, hogy a nucleus arcuatus proopiomelanocortin (POMC) és neuropeptid Y-t (NPY) kifejező neuronjai az orexinerg neuronoknak bemeneteket adnak. További kapcsolatra enged következtetni az a tény is, hogy narkolepsiás betegek esetében csökken a kalóriabevitel, és megnő a testtömeg index. A fentieken kívül számos más szerepet tulajdonítottak még az orexinnek, melyek közül a jutalmazással összefüggőt emelném még ki. Orexinerg neuronok a jutalmazási rendszer több területére is projiciálódnak, beleértve a locus coeruleust, area tegmentalis ventralist vagy nucleus accumbensst.

CÉLKITŰZÉSEK

Meg kívántuk vizsgálni, hogy a PPN neuronjainak korábbi in vitro elektrofiziológiai csoportosításai -melyek elsősorban a kolinerg neuronok immunhisztokémiai azonosítását vette alapul-, transzgén technikák segítségével azonosított kolinerg neuronok esetében is érvényesek-e. A következő kérdésekre kerestük a válaszokat:

1. A tdTomato valóban kolinerg neuronokban fejeződött ki?
2. A PPN-en belüli korábbi kategóriák szerinti funkcionális alcsoportok transzgén egerek esetében is jelen vannak?
3. Létezik-e a kolinerg neuronok korábbiaktól eltérő új funkcionális csoportosítása?
4. Az eltérő funkcionális tulajdonságokkal rendelkező neuronoknak van e rostrocaudalis gradiensük?
5. A kolinerg neuronok különböző funkcionális és morfológiai tulajdonságok kapcsolatban vannak-e egymással?

További célunk volt az orexin, mint PPN neuronjaira ható egyik neuromodulációs hatás vizsgálata, ezen belül:

1. Az orexinnek a SIC-ekre kifejtett hatását kívántuk vizsgálni.
2. A közös asztrocitafüggő neuromodulációs hatás meglétét kerestük.

ESZKÖZÖK ÉS MÓDSZEREK

Oldatok

Kísérleteink során mesterséges agy-gerincvelő folyadékot (aCSF) használtunk, melynek pH-ja 7,4 volt, míg az agyszeletek preparálást jéghideg alacsony nátrium tartalmú mesterséges aCSF-ben („low Na aCSF”) végeztük, ahol 95 mmol/l NaCl-t 60 mmol/l glicerollal és 130 mmol/l szacharózzal helyettesítettünk. Munkánk során a mérésekhez továbbá még tetradoxin (TTX)-citrát, CdCl₂, orexin-A, 2,3dihidroxi-6-nitro-7-szulfonamil-benzol[f]quinoxalin (NBQX) D-(-)-2-amino-5-foszfopentanoát (D-AP5), bikukullin és sztrichnin anyagokat használtunk. A mérésekhez használt pipetta belső oldataként egy kálium-glükonát alapú oldatot használtunk, melynek a pH-ja 7,3 volt, majd közvetlenül a mérések előtt biocitint helyeztünk bele.

Állatok, preparálás

Vizsgálatainkoz 9-22 napos egereket használtunk fel, összesen 92 példányt. A transzgén egerek nagyobb csoportja tdTomato fluoreszcens proteint fejeztek ki kolin acetiltranszferáz-függő módon (ChAT-tdTomato), másik csoportjuk a tdTomato-t 2-es típusú vezikuláris glutamáttranszporter- függő módon (Vglut2-), illetve egy kisebb csoport pedig a tdTomato-t gliális fibrilláris savas protein- függő

módon (GFAP-tdTomato). Az egerek keresztezése során a cre-lox rendszert használtuk, ahol az egyik szülő promóter- specifikusan fejezi ki a cre-rekombinázt, a másik szülő genomjában pedig megtalálható a kifejezni kívánt fehérje, melynek átíródása gátolva volt egy lox-P site-okkal határolt stop kodon által. A keresztezés során a stop kodon kihasítása következtében a fehérje promoter specifikusan jelenik meg. Az egereket dekapiláltuk, a koponyatetőt körbevágtuk, az agyat óvatosan eltávolítottuk majd vibratóm segítségével 200 μm -es coronalis szeleteket készítettünk miközben végig jéghideg alacsony nátrium tartalmú aCSF-ben tartottuk. A gyors preparálást követően a használni kívánt szeleteket 37 C-on normál aCSF-ben tartottuk 60 percen keresztül és karbogén gázkeverékkel buborékoltattuk a tároló kamrában.

Elektrofiziológiai mérések

Teljes sejtés elrendezésű patch clamp méréseket alkalmaztunk feszültség- és áram-clamp üzemmódban, melyhez a következő rendszereket foglalta magába: Axopatch 200A erősítő, Zeiss Axioskop mikroszkóp fluoreszcens képalkotórendszerrel, melynek további része egy Polychrome V-ös fényforrás, és egy CCD kamera, egy képalkotószabályozó egység. Az adatok rögzítése és feldolgozása Clampex 10 szoftver segítségével történt, elemzésükhöz Clampfit 10

programot használtunk. A szeleteket a mérés során is folyamatosan oxigenizált aCSF-fel mostuk át Gilson Miniplus 3 perisztaltikus pumpa segítségével. A 6-8 M Ω rezisztenciájú patch pipettákat Narishige PC-10 pipettahúzó segítségével készítettük.

A következő méréseket alkalmaztuk áram-clamp üzemmódban, 1s hosszúságú, -30 pA és +120 pA közötti, 10 pA-enként emelkedő áramlépcsőket alkalmazva. A nyugalmi membránpotenciált -60 vagy -80 mV-on tartottuk. Mértük a bemenő ellenállást, a maximális tüzelési frekvenciát, az átlagos tüzelési frekvenciát, az akciós potenciál késését, az adaptációs indexet, az alacsony küszöbű tüskék meglétét és amplitúdóját és a visszacsapási tüskéket ("rebound spike"). A magas küszöbű membránpotenciál oszcillációkhoz 2 s időtartamú, 0 pA-ról 800 pA-ig emelkedő rámpa alakú depolarizáló áraminjekciót alkalmaztunk. Egyes esetekben szimultán méréseket is végeztünk ugyanazon kolinerg sejt szómáján és proximális dendritjén. Feszültség clamp üzemmódban pedig az A-áram és az összes orexinfüggő esemény mérése történt.

A neuronok rekonstrukciója

A kolinerg sejtek láthatóvá tételéhez biocitint alkalmaztunk. Közvetlenül a mérés előtt helyeztünk a belső pipetta oldatba, mely a mérés alatt a sejt belsejébe jutott. A mérés után a szeleteket fixáltuk

egy éjszakán keresztül. A feltárást 60 percen keresztül Tris-pufferolt sóoldatban végeztük, melyet 0.1% Triton-X-100-zal és 10% szarvasmarha szérummal egészítettünk ki. A szeleteket Alexa 488 konjugált streptavidinnel inkubáltuk 90 percen keresztül, majd Zeiss LSM 510 konfokális mikroszkóppal felvételeket készítettünk. A sejteket NeuroLucida szoftver segítségével rekonstruáltuk, a topográfiai viszonyok méréséhez és ábrázolásához a Paxinos atlasz kontúrvonalait és paramétereit vettük segítségül.

Három esetben kolin acetiltranszferáz immunhisztokémiát alkalmaztunk transzkardiálisan perfundált ChAT-tdTomato egerekből preparált szeleteken a tdTomato expresszió és a ChAT immunpozitivitás átfedéseinek megítélése céljából.

EREDMÉNYEK

A ChAT immunhisztokémia jelentősen átfed a tdTomato expresszióval

A vizsgálatot összesen 3db ChAT- tdTomato egéren végeztük 379 sejttest manuális elemzésével. Az összes tdTomato pozitív sejttest $98 \pm 1\%$ -a bizonyult ChAT pozitívnak. Abban az esetben, ha az összes olyan sejtet figyelembe vettünk, ami vagy tdTomato-t expresszált, vagy ChAT-immunopozitívnak bizonyult, akkor a vizsgált sejtek $86,8\% \pm 3,5\%$ -ban mutattak átfedést. A vizsgált sejtek $11,9 \pm 3,3\%$ -a csak ChAT immunpozitív volt, míg $1,76 \pm 0,9\%$ mutatott kizárólag tdTomato expressziót. A tdTomato expresszió tehát egy megfelelő markernek bizonyul, mely jól alkalmazható a kolinerg neuronok azonosítására.

A neuronok dendritnyúlványainak orientációja összefüggést mutat az LTS-ek meglétével

17 db neuron esetében vizsgáltuk a szómából kiinduló dendritek orientációját, melyek közül 4 neuron bipoláris dendritfával rendelkezett, azaz a két leghosszabb nyúlvány ellentétes irányba rendeződött. A többi neuron multipoláris jellegű volt és a dendritek a tér kettőnél több

irányába mutattak. A dendritnyúlványok orientációja és a neuronok funkcionális tulajdonságai közötti összefüggésként feltártuk, hogy az LTS-sel rendelkező sejtek bipolárisak, míg az anélküliek inkább multipolárisak.

Összesen 91 genetikailag azonosított kolinerg neuront csoportosítottunk az alábbiak szerint:

- I. típusú neuronok: alacsony küszöbű depolarizációs (LTS) és visszacsapási tüskével rendelkeztek.
- II. típusú neuronok: rendelkeztek A-árammal és hiperpolarizáció indukálta késés jellemezte őket.
- III. típusú neuronok: LTS és A-áram, valamint hiperpolarizáció indukálta késés jellemezte őket.
- IIIK. típusú neuronok: egyik tulajdonsággal sem rendelkeztek.

33 neuron esetében tudtuk egyértelműen meghatározni a szóma rostrocaudalis lokalizációját. Ezek közül 12% I. típusú neuron, 45,45% II. típusú neuron, 21,21% III. típusú, és szintén 21,21% IIIK. típusú neuron volt. A PPN pars compacta részén 13 neuront azonosítottunk, melyben a II. típusú neuronok domináltak 69,2%-kal, I. és III. típusú neuronok 7,69-7,69%-ban, míg IIIK. típusú neuronok 15,38%-ban

voltak jelen. A PPN rostralis részén 20 neuront azonosítottunk, ahol I. típusú neuronok 15%-ban, II. típusú neuronok 30%-ban, III. típusú neuronok szintén 30%-ban, és IIIK. típusú neuronok 25%-ban képviseltették magukat.

A PPN pars compacta területén azok a neuronok, melyek LTS-sel vagy visszacsapási tüzeléssel rendelkeznek (I. és III. típusú), viszonylag kevés számban voltak jelen (15,4%). A pars dissipata részben ez az arány 47,3% volt.

A III. típusú neuronok kisebb maximális frekvenciával rendelkeznek, és kisebb az átlagos tüzelési frekvenciájuk

A III. típusú neuronoknak szignifikánsan kisebb volt a maximális tüzelési frekvenciájuk, mint az I. és IIIK. neuronok esetében. A maximális tüzelési frekvencia III. típusú neuronok esetében $16,49 \pm 1,99$ Hz, I. típusúak esetében $30,76 \pm 5,04$ Hz, II. típusú neuronoknál $23,99 \pm 1,69$ Hz és IIIK. típus esetében pedig $32,94 \pm 7,44$ Hz volt. Hasonló eredményt kaptunk az átlagos tüzelési frekvencia vizsgálata során. Az átlagos tüzelési frekvencia 100 pA áraminjekció hatására III. típusú neuronok esetében $7,06 \pm 1,54$ Hz volt, I. típusú neuronoknál $14,16 \pm 3,24$ Hz, II. típusú neuronok esetében $11,3 \pm 0,94$, és IIIK. típus esetében pedig $12 \pm 2,3$ Hz.

Az A-árammal rendelkező neuronok lehetnek korai és késői tüzelésűek

Azokat a neuronokat, ahol nyugalmi membránpotenciálon 50 ms-nál nagyobb tüzelési késést tapasztaltunk, további csoportokba sorolhattuk. Az A-árammal rendelkező neuronokat további két alcsoportba sorolhatjuk:

1. Korai tüzelésű neuronok csoportja, ahol az első akciós potenciál megjelenése a stimulus kezdetéhez képest kevesebb, mint 250 ms belül következett be.
2. Késői tüzelésű neuronok csoportja, ahol a késés időtartama hosszabb volt, mint 250 ms. Ez utóbbi csoport tehát az A-árammal rendelkező kolinerg neuronok egy kisebb alcsoportját képezik, melyek caudálisan helyezkednek el.

Az átlagos késési idő a pars compactaban $205,3 \pm 59$ ms, míg a pars dissipataban lévő neuronok esetében $71,4 \pm 15,5$ ms volt. Ebből megállapíthatjuk, hogy az átlagos késési idő a caudálisan lévő neuronok esetében szignifikánsan hosszabb volt, mint a rostrálisan tanulmányozott neuronok esetében.

A magas küszöbű membránpotenciál oszcillációk

Munkacsoportunk korábban kimutatta, hogy a HTO-k a kolinerg neuronok egyik jellemző tulajdonsága, és jelen tanulmányunkban ezt meg is erősítettük.

A PPN caudalis területén lévő neuronok magasabb frekvenciával ($23,07 \pm 4,9$ Hz) és alacsony amplitúdóval ($6,59 \pm 3,8$ mV²/Hz power), míg a PPN rostralis részén lévők alacsony frekvenciával ($12,08 \pm 2,01$ Hz) és nagyobb amplitúdóval ($18,85 \pm 5,08$ mV²/Hz power) oszcilláltak. A tüzelési frekvencia és az oszcillációs frekvencia közötti összefüggés megerősítése érdekében CdCl₂-t használtunk a további mérésünk során, mellyel az oszcillációkat blokkoltuk. Az oszcillációs aktivitás gátlásával párhuzamosan az akciós potenciálok tüzelési frekvenciája szignifikánsan emelkedett $6,71 \pm 1,04$ Hz-ről $15,38 \pm 1,42$ Hz-re.

Kerestük az oszcillációk eredetének helyét, melyhez egyidejű szóma-dendrit patch clamp méréseket végeztünk. A dendriten lévő oszcillációt alacsonyabb power ($9,77 \pm 6,57$ mV²/Hz) és majdnem azonos frekvencia jellemezte a szóma adataihoz képest ($20,13 \pm 8,55$ mV²/Hz power, és $1,41$ Hz frekvencia). Láthatjuk, hogy a dendriteken mért oszcilláció power értéke $39,7 \pm 12\%$ -a a szómán mért oszcillációnak, a frekvencia pedig közel azonos ($102 \pm 11\%$). Ez az

arány megfelel az elektromos impulzusoknak a szómárol dendritre történő passzív terjedésekor tapasztalt aránynak.

Az orexin hatása a tónusos áramokra, EPSC-kre és az alacsony küszöbű oszcillációs aktivitásra

Az eddig vizsgált neuromodulációs (muszkarinos kolinerg, szerotoninerger, kannabinoid) hatások legalább részben asztrocita-függő módon, egyes neuronokon tónusos befelé irányuló, más neuronokon tónusos kifelé irányuló áramokat váltottak ki. A fenti neuromodulációs hatásokkal szemben az orexin, ismert direkt neuronális támadásponton hatva, tudottan kizárólag depolarizálja a PPN neuronokat. Kísérleteink során megvizsgáltuk, hogy a tónusos áramokra a többi vizsgált neuromodulációs hatástól eltérően ható orexin a SIC-ekre is a többi neuromodulációs hatástól eltérően hat-e.

Valamennyi orexines kísérletünket nominálisan magnéziummentes oldatban végeztük annak érdekében, hogy a SIC-ek spontán előfordulását valószínűbbé tegyük. 200 nmol/l orexin-A alkalmazásakor $-17,32 \pm 3,11$ pA amplitúdójú tónusos befelé irányuló áramot mértünk, ami szignifikánsan különbözött a tartóáram kontroll körülmények között mért, $-0,98 \pm 3,11$ pA amplitúdójú ingadozásától. A tónusos áram kialakulásával párhuzamosan a sEPSC frekvencia

szignifikánsan megnövekedett. A sEPSC amplitúdó nem növekedett szignifikánsan, de növekedési tendenciát mutatott

A sEPSC frekvencia a kontroll $279 \pm 41\%$ -ára emelkedett orexin alkalmazása során, az amplitúdó pedig a kontroll $119 \pm 12\%$ -ára. Az orexin zajszerűen jelentkező, alacsony küszöbű oszcillációkat is aktivált. A kontroll és az orexin hatása során mért görbék power spektrumának egyetlen exponenciális tagot tartalmazó függvénnyel történő illesztései szignifikánsan különböztek egymástól.

8 neuron esetében sem kontroll esetben, sem orexin alkalmazásakor nem jelentek meg SIC-ek. A további 13 esetben az orexin a SIC-ek megjelenését megváltoztatta. Abban a 9 esetben, amikor a SIC aktivitás kontrollban alacsony volt, az orexin a frekvenciát $0,057 \pm 0,031$ /percről $0,34 \pm 0,08$ /percre növelte, a SIC-ek általi töltésmozgást $0,49 \pm 0,26$ pC/percről $5,6 \pm 2,1$ pC/percre növelte. Abban a további 4 esetben, mikor a SIC aktivitás már kontrollban magas volt (a töltésmozgás 2 pC/perc feletti volt), az orexin a SIC frekvencia és töltésmozgás tendenciaszerű csökkenését okozta. A frekvencia a kontroll $52 \pm 12\%$ -ára ($0,52 \pm 0,05$ /percről $0,28 \pm 0,12$ /percre), míg a töltésmozgás a kontroll $32 \pm 10\%$ -ára ($60,95 \pm 30,6$ pC/percről $22,7 \pm 12,4$ pC/percre) csökkent.

Ha a SIC-ek általi töltésmozgás változásait a kontroll SIC töltésmozgás függvényében ábrázoltuk, a pontok illesztése lineáris összefüggést tárt fel. Ha a SIC-ek általi töltésmozgás változásait a sEPSC-k változásának vagy a kialakuló tónusos áramnak a függvényében ábrázoltuk, semmilyen vagy csak gyenge lineáris korrelációt tapasztaltunk.

Elvégeztük az orexin SIC-ekre kifejtett hatásának összehasonlítását a SIC-eken érvényesülő más neuromodulációs hatások (muszkarinos kolinerg, szerotoninerg, kannabinoid) SIC-ekre gyakorolt, korábban már közölt hatásaival. Azt figyeltük meg, hogy az orexin által a SIC-ekre kifejtett hatás nem mutatott különbséget más neuromodulációs hatásokkal. Éles kontrasztként azonban azt láttuk, hogy míg a többi neuromodulációs hatás befelé és kifelé irányuló tónusos áramokat is kelthet, addig az orexinnél a befelé irányuló tónusos áramok erős dominanciáját figyelhettük meg.

MEGBESZÉLÉS

A jelen dolgozatban választ kerestünk arra a kérdésre, hogy a PPN kolinerg neuronok hagyományos *in vitro* elektrofiziológiai csoportosítása megállja-e a helyét a transzgén technikákkal azonosított kolinerg neuronok esetén is. Azt is vizsgáltuk, hogy újabb csoportosítási lehetőségeket, esetleg a funkcionális tulajdonságok rostrocaudalis gradiensét fel lehet-e tární. A másik fontos kérdésünk az volt, hogy az orexinerg neuromodulációnak van-e asztrocita függő komponense. Ha igen, azonos-e ez a komponens a más neuromodulációs hatások során látottakkal.

Röviden összefoglalva azt állapítottuk meg, hogy a PPN neuronok hagyományos elektrofiziológiai csoportosítása megállja a helyét transzgén technikák alkalmazása esetén is. Az A-árammal rendelkező kolinerg neuronok között két további csoportot, a korai és késői tüzelésű neuronok kategóriáit mutattuk be. Bemutattuk, hogy korai és késői tüzelésű neuronok, valamint az alacsony és magas frekvenciájú membránpotenciál-oszcillációt mutató neuronok a mag rostrocaudalis tengelye mentén ekülönülnek.

Kimutattuk továbbá, hogy az orexinerg neuromoduláció asztrocitákon keresztül érvényesülő része a SIC-ekre kifejtett hatását

nézve megegyezik a többi neuromodulációs hatásával. A SIC-ekre kifejtett neuromodulációs hatás feltehetően egy aspecifikus, közös komponense lehet a mag neuronjainak aktivitását megváltoztató hatásoknak.

A PPN kolinerg neuronok funkcionális csoportosítása

Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a ChAT-tdTomato egérmodell alkalmas a kolinerg neuronok funkcionális tulajdonságainak vizsgálatára, és használatával megerősítettük a korábban leírt funkcionális csoportok meglétét. Ezen kívül megerősítettük, hogy a kolinerg neuronok jellemzője a magas küszöbű membránpotenciál-oszcilláció, és bebizonyítottuk azt, hogy az akciós potenciál tüzelési frekvenciáját határozza meg.

Bemutattuk, hogy a kolinerg neuronok különböző funkcionális csoportjai a PPN caudalis és rostralis területén eltérő arányban találhatóak. Az LTS-ek a PPN kolinerg neuronokon ritkán váltanak ki akciós potenciált és elsősorban a PPN rostralis területén lévő kolinerg neuronok tulajdonsága. Az A-árammal rendelkező neuronokat további két alcsoportra osztottuk. Ezek a késői és korai tüzelésű neuronok, melyek közül a késői tüzelésű csoport inkább a PPN caudalis részén volt megtalálható.

A magas frekvenciával és alacsonyabb powerrel rendelkező HTO-k a PPN caudalis részén voltak, míg a magas powerű, alacsonyabb frekvenciájú HTO-k inkább a rostralis területen voltak láthatóak. Emellett megállapítottuk, hogy a HTO-k magasabb amplitúdót mutattak a szómán, mint a proximális dendriten.

Korábbi tanulmányok NADPH diaphorázt, bNOS és ChAT immunhisztokémiai módszereket alkalmaztak a kolinerg neuronok azonosítására. A membrántulajdonságok vizsgálata azonban genetikailag azonosított PPN kolinerg neuronokon eddig még nem történt meg. Kísérletünkben elhanyagolható számú tdTomato-pozitív neuron bizonyult ChAT-negatív neuronnak az immunhisztokémiai vizsgálat során. Irodalmi adatokkal összhangban állíthatjuk, hogy a ChAT–tdTomato egér modell eredményesen használható neuronok funkcionális paramétereinek vizsgálatához.

A PPN-ben lévő neuronokat hagyományosan 3 nagy csoportra osztották a membránsajátságaik alapján. Az irodalmi adatokban előforduló nem egységes jelölést összesítettük és egy jól használható csoportosítást hoztunk létre. Az I. típusú neuronok kalcium konduktanciák által okozott LTS-sel rendelkeznek. A II. típusú neuronok A-árammal rendelkeznek. A III. típusú neuronra mindkét

tulajdonság jellemző, míg a IIIK. jelölést azokra a neuronokra használtuk, melyekre egyik tulajdonság sem jellemző.

Nagyjából egybevágóan az irodalmi adatokkal, a transzgén egéren végzett vizsgálataink során is azt találtuk, hogy a vizsgált neuronok csak kis része, 12%-a tartozott az I. csoportba és a legtöbb (48%) a II típusú neuronból volt. Adatainkat elemezve elsőként mi írtuk le, hogy a II. típusú neuronok nagyobb arányban voltak jelen a PPN caudalis területén, és a rostralisán elhelyezkedő neuronok 1/3-a tartozott ide. A csoportosításra használt paramétereken túli egyetlen további funkcionális különbség mindössze annyi volt a funkcionális csoportok között, hogy a III. típusú neuronok alacsonyabb maximális tüzelési frekvenciát mutattak depolarizáció hatására.

Tanulmányunkban az LTS-ek előfordulása szintén rostrocaudalis grádiens mutatott, a rostralisán elhelyezkedő neuronok jellemzője volt. További lényeges összefüggést találtunk az LTS-ekkel kapcsolatban, miszerint az LTS-sel rendelkező neuronok ugyanis bipoláris dendritfával rendelkeztek, míg az LTS nélküliek inkább multipolárisak voltak.

Eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy az irodalomban eddig használatos eredeti csoportosítás még mindig használható a PPN neuronok funkcionális membránsajátságainak leírására. Az LTS jelenlétének rostrocaudális különbségei, valamint a III. típusú neuronok alacsony tüzelési frekvenciája együttesen arra utalhatnak, hogy a

rostrocaudalis tengely mentén a kolinerg neuronok funkciója eltérő lehet.

A II. és III. típusú neuronok egy jellemzője, hogy A-árammal rendelkeznek. Ez egy tranziens, feszültségkapuzott káliumáram, melyről azt tudjuk, hogy az akciós potenciál késését okozza a depolarizáló stimulus kezdetéhez képest, és az irodalmi adatok alapján az A-áram késési ideje 50 és 500 ms között változik. Az A-árammal rendelkező PPN kolinerg neuronokat vizsgálataink során korai és késői tüzelésű neuronokra osztottuk. Ezen felül a PPN-ben korrelációt figyelhetünk meg az A-áram kinetikája és az akciós potenciál késése között. Újabb rostrocaudalis különbségként leírtuk, hogy a késői tüzelésű neuronok inkább a PPN caudalis részén foglalnak helyet. Az A-áramnak a fiziológias akcióspotenciál-tüzelésben betöltött szerepe mellett feltételezhető a hozzájárulása különböző kórélettani folyamatokhoz is. Azt találták, hogy kísérletesen előidézett gyulladási körülmények között a cardiomyocyták A-áramának amplitúdója csökkent. Ennek alapján feltételezhetjük, hogy neuroinflammatorikus folyamatok a PPN kolinerg neuronjainak tüzelési mintázatát is képesek befolyásolni azáltal, hogy csökkentik az A-áram amplitúdóját és az akciós potenciál késést, hozzájárulva az alvás-ébrenlét ciklusok megváltozáshoz.

A magas küszöbű oszcillációk a PPN kolinerg neuronjain is megfigyelhetők, és az irodalmi adatok szerint az oszcillációk frekvenciája 4-16 Hz és 4-80 Hz között változik a theta és beta-gamma tartományok között. A PPN kolinerg neuronjainak jellemző tulajdonsága a magas küszöbű oszcilláció, függetlenül a klasszikus funkcionális alcsoportoktól vagy a morfológiai jellemzőktől. Megerősítve az irodalmi adatokat, az alacsony frekvenciájú és magas amplitúdójú oszcillációkat a genetikailag azonosított kolinerg neuronok esetében a PPN rostralis területén találtunk, míg a caudalisan lévő kolinerg neuronokra az alacsony amplitúdójú és magas frekvenciájú oszcillációk voltak jellemzőek. Szimultán méréseinkből megállapíthattuk, hogy a szómán mért oszcillációs aktivitás a dendriten alacsonyabb amplitúdóval, de azonos frekvenciával és időben jelenik meg. Ebből adódóan azt feltételeztük, hogy a HTO kialakulásának helye a szóma, és az oszcilláció passzívan terjed a dendrit felé.

Azt is demonstráltuk, hogy a HTO-k frekvenciája egyenesen arányos az ugyanazon neuron átlagos tüzelési frekvenciájával és a HTO-k gátlása szignifikánsan növeli a tüzelési frekvenciát. Valószínűnek tartjuk, hogy a membránpotenciál-oszcillációk és az akcióspotenciál-tüzelési frekvencia között az a kapcsolat, hogy mindkét jelenséget ugyanazon ioncsatorna készlet hozza létre,

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy megerősítettük a HTO-k létezését és bemutattuk rostrocaudalis különbségeit a PPN-ben. A

HTO-k nagyobb valószínűséggel a szómán generálódnak, semmint a dendriten. Ez a jelenség képes meghatározni a neuronok akcióspotenciál-tüzelési frekvenciáját.

A PPN különböző projekciói jól ismert topográfiailag szervezettek. A caudalis PPN az area tegmentalis ventralis és a striatum dorsomedialis területéhez adnak bemenetet, míg a rostralis PPN a substantia nigra pars compacta területét, valamint a dorsolateralis striatumot innerválja. Ezek a tények összhangban vannak a PPN caudalis és rostralis területei közötti ismert funkcionális különbségekkel. Tanulmányunkban kimutattuk, hogy számos membrántulajdonság rostrocaudalis megoszlással rendelkezik. Az LTS jelenléte a rostralis elhelyezkedő kolinerg neuronokra jellemző, míg a caudalis területen késői tüzelésű és lassú A-árammal rendelkező kolinerg neuronokat találtunk. Ezen kívül a HTO-k jelenléte (és ennek megfelelően a tüzelési frekvencia) is szintén mutatott rostrocaudalis eloszlást. Ezek az *in vitro* rostrocaudalis különbségek állhatnak a háttérben az *in vivo* körülmények között találtak különbségeknél. Feltételezzük, hogy az általunk bemutatott *in vitro* eredmények segítik a további, transzgén egérmodellrel használt *in vivo* kísérletek tervezését és értékelését. Reméljük azt is, hogy a fenti adatok hozzájárulnak a PPN különböző területein terápiás céllal alkalmazott mély agyi stimuláció eltérő kimeneteleinek megértéséhez.

A PPN-re ható orexinerg neuromodulációs hatások vizsgálata

A laboratórium korábbi kutatásainak folytatásaként megvizsgáltuk az orexinnek a PPN neuronok tónusos neuronális áramaira, EPSC-ire és SIC-eire gyakorolt hatását, illetve korrelációkat kerestünk ezen paraméterek és a korábbi, a SIC-eken érvényesülő más neuromodulációs hatásokat feltáró kutatási eredményeink között.

Azt találtuk, hogy orexin hatására a SIC aktivitás növekedett abban az esetben, ha a kontroll aktivitás alacsony volt, míg csökkent abban az esetben, ha a kontrollban magas volt a SIC aktivitás. A SIC-eken érvényesülő orexinerg hatás független az EPSC-kre és tónusos inward áramokra gyakorolt hatásaitól. Egy fontos különbséget találtunk az orexin és a többi neuromodulációs hatások között: az orexin csaknem soha nem váltott ki tónusos kifelé irányuló áramot.

Vita tárgya lehet az, hogy a SIC-eket kiváltó asztrocita aktiváció az orexin direkt vagy indirekt hatásának következménye. A SIC-ekre kifejtett orexinerg hatás asztrocitákra gyakorolt direkt hatás következménye is lehet. Jól ismert, hogy OX1R és OX2R receptorok is megtalálhatók asztrocita sejttényészeteken, de OX1R receptort nem találtak *in situ* PPN asztrocitákon, csak neuronokon. Mivel az OX2R szintén megtalálható a PPN-ben neuronokon és az asztrocitákon is, így esetleg azok direkt aktivációja vezethet a SIC-ek megjelenéséhez.

Mindezek mellett azonban feltételezhető az is, hogy az asztrociták a megnövekedett átlagos neuronális aktivitásra reagálnak.

Másik fontos kérdés, hogy vajon az orexin SIC-ekre gyakorolt hatása nevezhető-e fiziológiás jelenség modelljének, vagy patofiziológiai mechanizmusokat képvisel-e. Az orexin receptorok és a glutamát transzporterek száma egyes neurodegeneratív betegségekben és cerebrális ischaemiában növekednek, és protektív szerepet tölthetnek be ezekben a folyamatokban.

Feltételezzük, hogy a SIC-ek, valamint a SIC-ekre gyakorolt orexinerg hatások fiziológiás körülmények között is jelen vannak, de valószínűleg felerősödnek pathológiás körülmények között.

Különböző neuromodulációs hatásoknak, agonistáknak a SIC-ekre gyakorolt hatásai függenek a kontroll SIC aktivitásától. Ennek egy elképzelhető háttere, hogy az asztrociták a neuromodulációs hatásokra megnövekedett neuronális aktivitásra válaszolva megnövelik az extraszinaptikus glutamát koncentrációját. Ha az extraszinaptikus glutamátkoncentráció eredetileg alacsony volt, a glutamát szintjének emelkedése extraszinaptikus NMDA receptorokat aktivál és a SIC aktivitás növekedéséhez vezet. Abban az esetben, ha a kiinduló extraszinaptikus glutamátkoncentráció magas volt, a glutamát szintjének további növekedése az NMDA receptorok deszenzitizációjához vezet.

Eredményeink alátámasztják azt az elméletet, hogy a PPN-ben a SIC-eket különböző neuromodulációs mechanizmusok egységesen modulálják, ezáltal létezik a neuromodulációs mechanizmusoknak egy közös, asztrocita-függő komponense. Ez az asztrocita-függő komponens azonban feltehetően nem, vagy legalább részben nem az asztrociták direkt aktivációjának a következménye, hanem válasz a neuromodulációs hatások által megváltoztatott neuronális aktivitásra. A PPN-ben a SIC-ek esetlegesen egy asztrocita-függő homeosztatikus szabályozás részei.

ÖSSZEFOGLALÁS

A nucleus pedunculopontinus a retikuláris aktivációs rendszer egy kolinerg magja. Élettani jelentőségét az adja, hogy az alvás-ébrenlét ciklusok szabályozásában, a szenzoros kapuzásban és a mozgásszabályozásban játszik fontos szerepet.

A magot bár kolinerg struktúraként ismerik, GABAerg és glutamaterg neuronok is megtalálhatóak itt szép számban. A PPN neuronjainak csoportosítására számos kísérlet történt. Az *in vitro* kísérleteken alapuló csoportosítás az A-áram és az alacsony küszöbű membránpotenciál tüskék alapján különített el 3 vagy 4 funkcionális csoportot.

A jelen munka első részében a korábbi, *post hoc* neurokémiai sejtazonosításra épülő csoportosítást vizsgáltuk felül transzgen technikán alapuló sejtazonosítás segítségével. Megállapítottuk, hogy az A-árammal rendelkező kolinerg neuronok két további csoportra, korai és késői tüzelésű neuronokra bonthatóak. Kimutattuk továbbá, hogy az A-áram, az alacsony küszöbű tüskék és a magas küszöbű membránpotenciál-oscillációk is változó eloszlást mutatnak a rostrocaudalis tengely mentén. A rostrocaudalis tengely mentén fellelhető számos különbség potenciálisan a Parkinson-kór esetén végzett mély agyi stimuláció hely szerint különböző kimeneteleinek a sejt szintű elektrofiziológiai háttere.

A PPN számos, az alvás-ébrenlét ciklusokat befolyásoló neuromodulációs mechanizmus célpontja. Korábbi munkánkban bemutattuk, hogy a kolinerg, szerotoninerg és kannabinoid neuromodulációs hatásnak egymással átfedő, asztrocita-függő komponensei is vannak. Ilyenek voltak az asztrocita aktiváció hatására a neuronokon kialakuló tónusos befelé és kifelé irányuló áramok és a fázisos lassú befelé irányuló áramokra (SIC-ekre) gyakorolt összetett hatás.

Az orexinerg neuromoduláció némileg elüt az eddig vizsgáltaktól, hiszen a többféle tónusos hatás helyett ez tudottan a neuronok homogén depolarizációját okozza. Célul tűztük ki, hogy az orexinnek a SIC-ekre kifejtett hatását vizsgáljuk. Megállapítottuk, hogy ha a kiinduló SIC aktivitás alacsony volt, az orexin növelte azt; míg ha a SIC aktivitás kontroll körülmények között magas volt, az orexin csökkentette azt. Ez a feltehetően NMDA receptor aktiváció vagy deszenzitizáció által okozott jelenség megegyezett az összes, általunk vizsgált neuromodulációs hatás esetén. A megfigyelt jelenség feltehetően egy aspecifikus, közös, asztrocitafüggő komponense a neuromodulációs hatásoknak, és a neuronális deszinkronizáció mértékét hivatott szabályozni.



Nyilvántartási szám: DEENK/377/2019.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Baksa Brigitta
Neptun kód: SRY-7J7
Doktori Iskola: Molekuláris Orvostudomány Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Baksa, B.**, Kovács, A., Bayasgalan, T., Szentesi, P., Kőszeghy, Á., Szűcs, P., Pál, B.:
Characterization of functional subgroups among genetically identified cholinergic neurons in the pedunclopontine nucleus.
Cell. Mol. Life Sci. 76 (14), 2799-2815, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-019-03025-4>
IF: 7.014 (2018)
2. Kovács, A., **Baksa, B.**, Bayasgalan, T., Szentesi, P., Csémer, A., Pál, B.: Orexinergic actions modify occurrence of slow inward currents on neurons in the pedunclopontine nucleus.
Neuroreport. 30 (14), 933-938, 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/WNR.0000000000001298>
IF: 1.146 (2018)

További közlemények

3. Gebri, E. Z., Kiss, A., Hegedűs, C., **Baksa, B.**: Symptoms of acute leukemias in the oral cavity.
Remedy OA. 7, 1-7, 2016.

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 8,16

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
8,16

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2019.11.21.

