

ESEMÉNYFÜGGŐ POTENCIÁLOK VIZSGÁLATA

ÉBER MAJMON

Egyetemi doktori értekezés

ANTAL ANDREA

József Attila Tudományegyetem,
Összehasonlító Élettani Tanszék

SZEGED

1993

*Recording the electrical
activity of the brain
from surface electrodes
has been likened to
'...having a window to
the brain...'*

(E. Callaway, 1975)

TARTALOM

I. Bevezetés	1.
I.1.1. Állatmodellek és a P300	5.
I.1.2. Állatmodellek és neurodegeneratív betegségek	9.
I.1.3. A P300 és a kognitív elváltozások	12.
I.1.4. A P300 anatómiai és neurofiziológiai háttere	14.
I.2. Célkitűzések	16.
I.3. Anyag és módszer	17.
I.3.1. A kísérlet alanya	17.
I.3.2. Az állat szállítása	17.
I.3.3. Kondicionálás	18.
I.3.4. Műszerek	18.
I.3.5. Az ingerlés	19.
I.3.6. A feladat	19.
I.3.7. A műtét	21.
I.3.8. Az adatok felvétele	21.
I.3.9. Az adatok feldolgozása	22.
I.3.10. Az állat kényelme	23.
I.4. Eredmények	24.
I.4.1. Normatív adatok	24.
I.4.2. A target inger valószínűségének változása	25.
I.4.3. A teljesítmény hatása a P300 amplitúdójára	25.
I.4.4. A szemmozgás	25.
II. Farmakológiai vizsgálatok éber majmon	27.
II.1. Acetyl-L-carnitine (ALC) hatása a P300-ra	29.
II.1.2. Akut kísérletek	32.

II.1.2.2. Az akut kísérletek eredményei	32.
II.1.3. Krónikus kísérletek	33.
II.1.3.1. A krónikus kísérletek eredményei	33.
II.1.4. Az ALC koncentrációjának hatása a P300-ra	34.
II.2. Szkopolamin hatása a P300-ra	36.
II.2.1. Eredmények	37.
II.2.2. A szkopolamin hatása az ALC által megnövelt P300-ra	39.
II.3. Sulpiride hatása a P300-ra	40.
II.3.1. Eredmények	41.
II.4. MPTP (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridine) hatása a P300-ra	43.
II.4.1. Eredmények	47.
II.4.2. Magatartási megfigyelések	49.
III. Az eredmények értékelése	51.
IV. Összefoglalás	64.
V. Köszönetnyilvánítás	65.
VI. Táblázatok	67.
VII. Ábrák	72.
VIII. Irodalom	90.

I. BEVEZETÉS

A filozófusokat és tudósokat már évszázadok óta foglalkoztatja az agy illetve a benne lezajló folyamatok összefüggése a lélekkel, a gondolkodással, az érzékeléssel és a tudattal. Ez a klasszikus lélek - test dilemma napjainkban is az agykutatás egyik jelentős ágát képviseli, némileg elrejtve a ma alkalmazott modern terminológiában. Annak ellenére, hogy az agy fiziológiájáról és farmakológiájáról tudásunk még meglehetősen hiányos, a magasabb mentális működésekre jellemző alapvető sajátosságok tisztázottak.

Az elmúlt két és fél évtized alatt a fejbőrön regisztrált, a szenzoros ingertől időbeli függést mutató kiváltott aktivitás vizsgálata jelentős eszközzé vált az agyműködés tanulmányozásában. Elfogadhatónak tekinthető, hogy az így kapott eseményfüggő potenciálok (EFP) az agyi információs folyamatok neuronális alapfolyamatainak tükröződései (Donchin 1978, 1979, Rosler et al 1986). A kutatás egyik mai iránya az EFP komponenseinek azonosítása és az információfeldolgozás különböző szakaszaival (felfogás, szelektálás, memorizálás, döntés, stb.) korrelációba állítása. A fejbőrön regisztrált EFP-k pozitív és negatív komponensek sorozatából állnak melyek egy jellemző időérték körül következnek be. A rövidebb latenciájú komponensek a perifériás szenzoros rendszer aktivitását tükrözik és elsődlegesen az inger fizikai paramétereitől függenek (exogén komponensek), míg a hosszabb latenciájú, késői válaszok (endogén komponensek) az inger információtartalmára jellemzőek és

kognitív folyamatokkal állnak kapcsolatban (Tueting 1978, Donchin 1978, Galambos és Hillyard 1981). Az endogén potenciálok megjelenése, mérete specifikus pszichológiai folyamatokkal hozhatók összefüggésbe: a figyelemmel, az inger felfogásával és osztályozásával illetve a döntéssel (Donchin 1978, Hillyard és Kutas 1983). Így az endogén potenciálok mintegy külső mérhető jeleivé válnak az agyban lejátszódó speciális folyamatoknak és segíthetnek abban, hogy a kognitív működés neuronális hátteréről képet kapjunk.

A legkifejezettebb és legjobban tanulmányozott endogén potenciál a P300 vagy P3. A P300-at először Sutton és kollégái írták le (Sutton et al 1965, 1967), rámutatva arra, hogy ezt a komponenst egy váratlan inger megjelenése vagy egy várt inger elmaradása váltja ki. A P300 az egyik késői pozitív komponense az eseményfüggő potenciáloknak, általában 300 ms körüli vagy ennél hosszabb csúcslatenciával (Fabiani et al 1987, review). A P300 potenciál az információs folyamatokban az inger értékelését tükrözi (Donchin 1979), latenciája az inger diszkriminációját és kategorizálását végző neuronális működés sebességét jelzi és független a motoros folyamatoktól (Kutas et al 1977, McCarthy és Donchin 1981).

A P300 kiváltására általában két különböző ingert tartalmazó ingersorozatot alkalmaznak, amelyeket véletlenszerű sorrendben adnak a kísérlet alanyának (Bernoulli series). Ezt a kísérleti elrendezést Donchin "oddball paradigmá"-nak nevezte el (Donchin 1978). A vizsgált egyénnek különbséget kell tennie a két fajta inger között motorosan (pl. gombnyomással) vagy mentálisan (az egyik fajta inger számolásával). Az inger

bármilyen típusú lehet, feltéve ha a vizsgált személy tisztában van azzal, hogy milyen szabályok szerint kell az ingereket kategorizálnia. Az az inger, amelyet a kísérlet alanya figyelembe vesz, általában ritkábban alkalmazott és amelyet "oddball" ingernek, ritka ingernek vagy target ingernek neveznek, P300-at fog kiváltani. A figyelembe nem vett inger, amelynek gyakorisága legtöbbször nagyobb, a non-target inger.

Egy target ingerrel kiváltott endogén EFP komplex pozitív és negatív komponensek sorozatából áll. A P300-at általában megelőzi egy negatív komponens (N200), amely paramétereit tekintve függ az inger modalitásától és valószínűleg a target és non-target ingerek közötti diszkriminációs folyamat egy kezdeti állapotát tükrözi (Ritter et al 1979). A lassú hullám (slow wave), amely a P300-at követi, szintén modalitásfüggő (Rohrbaugh et al 1979).

Megfigyelések szerint a P300 amplitúdója csökken ha a figyelem csökken vagy megoszlik, illetve ha a target inger valószínűsége nő (Hillyard és Galambos 1967, Picton és Hillyard 1974, Courchesne et al 1975). A P300 latenciája nő, ha a feladat nehézségi foka növekszik (Squires et al 1973, Friedman et al 1975).

Emberek esetében a P300 a fejbőrön legnagyobb amplitúdóval a centrális-parietális középvonalban mérhető (Cz vagy Z_{50} pontban), referenciaként mindkét oldali mastoideust használva, de csökkent amplitúdóval elvezethető a parietális és frontális lebenyekről is (Simson et al 1976, 1977). A P300 hang, fény és szomatoszenzoros ingerekkel egyaránt kiváltható (Desmedt és Debecker 1979, Simson et al 1977, Snyder et al 1980).

A P300 kiváltására leggyakrabban hangingert alkalmaznak. Általában két különböző, egy magas és egy alacsony frekvenciájú hangot használnak ("oddball paradigm") és a vizsgált személyt arra kérik, hogy csak az egyik fajta ingert vegye figyelembe.

Fényingerrel kiváltott P300-at lényegesen kevesebben vizsgálnak. Ennek valószínűleg az az oka, hogy sokkal komplexebb ingert kell használni. Jelenleg még nem tisztázott, hogy a különböző modalitású ingerek és feladatok által kiváltott P300 azonos vagy különböző folyamatokat tükröz-e.

A P300 potenciálnak különböző típusai ismertek, amelyek topográfiájukban is különböznek és az információs folyamatok más-más állapotait jelölhetik. A P3b az a komponens, amely bizonyíthatóan az inger aktív feldolgozásával van összefüggésben, így a döntéssel, a válasz szelekciójával és főleg centro-parietális elvezetésben regisztrálható. Latenciája 300 - 600 ms, amplitúdója 15 - 30 uV között van. A frontálisan domináns P3a - t általában egy új inger megjelenése váltja ki, automatikusan akkor is regisztrálható, ha a figyelem nem a bemutatott ingerre irányul. Latenciája rövidebb (220 -280 ms), amplitúdója kisebb, mint a P3b komponensé (Ruchkin és Shutton 1983, Hillyard és Kutas 1983). Ma még nem tisztázott, hogy ezek a P300 komponensek azonos, vagy különböző folyamatokat tükröznek-e. Mások szerint ez a megközelítés nem elfogadható: a P3a és P3b egy hullám (Polich 1988).

I.1.1. ÁLLATMODELLEK ÉS A P300

A P300-at először emberen írták le. A P300 neurofiziológiai hátterének feltárásához azonban egyre növekszik az érdeklődés a P300 állatmodelljei iránt is. Felmerül a kérdés, hogy az állatok alkalmasak-e ilyen típusú kísérletekre, továbbá ez a késői pozitív komponens megfigyelhető-e állatok esetében is, s végül, ez megfelel-e a humán P300-nak? Egyáltalán milyen tulajdonságait kell figyelembe vennünk a P300-nak, ha azt humán - non humán viszonylatban össze akarjuk hasonlítani?

Elsősorban meg kell vizsgálni a P300 külső paramétereit, így a hullám latenciáját, amplitúdóját, polaritását és alakját. Másodsorban, a P300-nak feltételezett hullám funkcionális tulajdonságait kell számba venni: hatással van-e rá az ingermodalitás, vagy az inger valószínűségének megváltozása, a feladat nehezebbé tétele. Természetesen, a fenti kérdések megválaszolásánál figyelembe kell venni a fajok közötti különbségeket. Az ember és majom között fennálló anatómiai, fiziológiai, viselkedésbeli hasonlóságok alapján úgy tűnik, hogy a majmok a legmegfelelőbbek ezekre a vizsgálatokra, bár az elmúlt évtizedben bebizonyosodott, hogy P300 többféle modalitással számos emlősfajban kiváltható és vizsgálható (Paller 1991). (Az állatmodellek leírásakor is a P300 elnevezést használjuk, utalva arra, hogy ez a komponens valószínűleg a humán P300-nak homológja.)

Állatkísérletekben a P300 kiváltására legtöbbször ugyanúgy mint embereknél "oddball" paradigmát használnak, kétféle

ingerrel. Az állatnak egymás után véletlenszerűen adják a két különböző ingert és erre neki aktívan válaszolnia nem kell (passzív feladat), ilyenkor a P300-at az új inger (target inger) megjelenése váltja ki. A target ingert meghatározott időn belül megerősítésként valamelyik végtagot érintő szomatoszenzoros inger követi (fájdalom, elektromos sokk). Az aktív feladatban az állat motorosan, pl. egy pedál lenyomásával válaszol az ingerekre.

Maki majmokon (*Macaca fascicularis*, *M. nemestrina*, *M. mulatta*) először a hangingerrel kiváltott P300-at vizsgálták, "oddball" rendszerben két eltérő tónusú hangot alkalmazva. A majmokat klasszikus kondicionálással arra tanították, hogy az egyik hang hallatán engedjenek el egy pedált, amelyet egyébként az ingerek prezentációja során lenyomva tartanak. A P300 latenciája és amplitúdója a ritka vagy ún. target inger valószínűségének függvényében változott, mint ahogyan azt humán P300 esetében is megfigyelték (Paller et al 1988).

Szintén két különböző frekvenciájú hangot használva vizsgálták a P300 viselkedését Glover és mtsai (1986). A ritkábban adott hangot 700 ms múlva egy gyenge, az egyik hátsó végtagra alkalmazott elektromos sokk követte, mint megerősítés. A centrális elektródánál regisztrálva 314 ms csúcslatenciájú pozitív polaritású választ kaptak a ritkábban alkalmazott inger hatására. A válasz csak egy bizonyos számú (3-5) tréning után jelent meg és amplitúdója függött a ritka inger alkalmazási valószínűségétől.

Passzív körülmények között is vizsgálták a hangingerrel kiváltott P300-at. (Paller et al 1982, 1988). A ritkábban

alkalmazott ingerre egy pozitív, 278 ms csúcslatenciájú választ kaptak a középvonalban (Cz-nél) regisztrálva. Ebben a tanulmányban majmokkal párhuzamosan embereken is elvégezték a kísérletet ugyanolyan körülmények között és azt kapták, hogy az ember és majom P300 paraméterei nagyon hasonlóak voltak. A szerzők feltételezték, hogy bár, a majmoknak nem kellett aktívan közreműködniük a feladat megoldásában, az ingereket figyelemmel kísérték.

Vizuális "oddball" paradigmát használva maki majmokat arra tanították, hogy csak orientációban különböző fekete-fehér csíkokból álló mintázatok (sinusoidal gratings) között tegyenek különbséget, az egyik mintázat megjelenésekor egy pedál felengedésével (Glover et al 1991). A P300 amplitúdója a figyelembe vett vagy un. target inger valószínűségének függvényében változott, a P300 amplitúdója nőtt, ha a target inger valószínűsége csökkent.

A mokus majmok (Squirrel majmok, *Saimiri sciureus*) a maki fajok mellett közkedvelt kísérleti alanyok ezekben a kísérletekben. Passzív rendszert használva hanginger hatására késői pozitív hullámokat regisztráltak 300-800 ms között a ritkábban alkalmazott inger bekövetkezése után (Neville és Foote 1984, Pineda et al 1987). Ezek eltértek az embereken és maki majmokon megfigyelt térbeli eloszlástól: a középvonalban amplitúdójuk kicsi volt, a parietális lebenyeken nagyobb (maximális a jobboldali féltekén). Ezek az eloszlásbeli különbségek vagy abból adódhatnak, hogy a mokus majmok agykérge kevésbé barázdált, összehasonlítva a maki majmok s főként az ember agykérgével, vagy mokus majmok esetében az eseményfüggő

potenciálok keletkezése eltérő a korábban vizsgált szervezetekétől.

Aktív "oddball" paradigmát használva (Pineda et al 1988) mókus majmokat az egyik típusú hangra egy pedál meghúzására tanítottak. 200 és 450 ms közötti csúcslatenciájú pozitív hullámokat regisztráltak a target inger bemutatása után az előzőekben leírt térbeli eloszlásban: robosztus pozitív polaritású hullámokat figyeltek meg a középvonaltól laterálisan a parietális részeken, de viszonylag nagy amplitúdójú P300-at kaptak a frontális középvonalban is. Mókus majmokban derült fény a P300 és a locus coeruleus esetleges kapcsolatára is (Pineda et al 1989; bővebben a 15. oldalon).

A P300-zal analóg potenciálokat alacsonyabbrendű emlősállatokban is sikerült kiváltani hang- vagy fényingerekkel. Így például macskákban (Csépe et al 1987, O'Connor és Starr 1985), nyulakban (Aleksandrov és Maksimova 1987), patkányokban (Brenner 1987). Ritkábban állatmodellként különösen intelligens állatokat használnak, például palackorrú delfint (Woods 1986) vagy gorillát, csimpánzt (Boysen és Bernston 1985), főként a P300 és az öregedés kapcsolatának felderítésére.

Az a tény, hogy P300-at számos különböző evolúciós fejlettségű állatfajban kimutattak, arra utal, hogy a P300 valószínűleg egy univerzális jelensége az emlős agynak. Az a lehetőség, hogy emlős állatokban az emberi P300-zal analóg eseményfüggő potenciálokat tudunk kiváltani, a technika fejlődésének segítségével egyre közelebb fogja majd vinni a kutatókat a P300 anatómiai alapjainak feltárásához.

I.1.2. ÁLLATMODELLEK ÉS NEURODEGENERATIV BETEGSÉGEK

Az utóbbi években egyre növekszik az igény olyan állatmodellek megteremtésére, amelyekkel helyettesíteni lehetne az embereken nem végezhető kísérleteket, mert ez úton csökkenhet azoknak a hipotéziseknek a száma, amelyek emberek esetében kísérletesen nehezen vagy egyáltalán nem bizonyíthatók. Különösen fontossá vált a megfelelő modellek létrehozása napjainkban, amikor a neurodegeneratív megbetegedések fontosságának felismerése egyre növekszik. Ezeket a betegségeket általában az agyban bekövetkező progresszív sejtpusztulás jellemzi, melynek következtében a viselkedés döntően megváltozik. Egy-egy neurodegeneratív megbetegedést tekintve nagyon kevés az analógiát és homológiát (azonos funkcionális jellemzők és azonos biológiai eredet) mutató állatmodellek száma. A modellek általában vagy csak anatómiai, vagy csak viselkedésbeli elváltozásokat tükröznek, de jelentőségük így is nagy, mert rajtuk lehetővé válik egyes gyógyszerek kipróbálása.

Napjainkban a legelterjedtebb neurodegeneratív megbetegedések az Alzheimer, a Parkinson és a Huntington kór.

Az Alzheimer kór főképpen a kolinerg ingerületáttevődés drámai csökkenésével jellemezhető. A kolinerg sejtek pusztulása először a hippokampuszban figyelhető meg, de ez később az agy más területeire, így pl. a kéregre is áttérjed. A legközelebb álló modell ebben az esetben az idős majom, amelynél megfigyelhető a "szenilis plakkok" kialakulása, amelyek az Alzheimer kóros betegekénél is megtalálhatók. Idős patkányok is szolgálhatnak analóg modelleként ehhez a megbetegedéshez.

Különböző farmakológiai manipulációkkal, amelyekkel a kolinerg ingerületáttevődést bénítani lehet, főképpen az Alzheimer kórnál megfigyelhető kognitív hanyatlás modellezhető, így pl. szkopolamin beadása révén (Smith 1988).

A Parkinson kór az a megbetegedés, amelynél megtalálták a leginkább analóg és homológ állatmodellt. A kutatások a dopaminerg sejtek elpusztítására irányulnak, amely sejtelhalás a Parkinson kóros betegeknél is megfigyelhető. 6-hidroxi-dopamin (6OH-D) beadása után majmokon a fényingerrel kiváltott válaszok és az elektroretinogram a betegségre jellemző elváltozásokat mutattak (Ghilardi et al 1988, 1989). 6OH-D-nal történő egyoldali nigrosztriális lézió után patkányokon mozgásszegénység lépett fel és az állatok minden külső inger nélkül az injektált oldal felé fordultak. Ha a nigrosztriális rendszer megmaradó dopaminerg aktivitását farmakológiai beavatkozással serkentették (methamphetamin), a patkányok a sérült oldal irányába kezdtek el forogni (Ungerstedt and Arbuthnott 1970, rotating rat model).

MPTP (1-metil-4-fenil-2,3,5,6-tetrahidropiridin) intravénás injektálása után szintén a fényingerrel kiváltott válaszok és az elektroretinogram Parkinson kórra jellemző elváltozásai alakulnak ki. A Parkinson kór külső tünetei, így a végtagok remegése, merevsége, mozgásbeli lassúság, mozgásszegénység, koordinációs zavarok szintén jelen vannak (Ghilardi et al 1988).

Az előrehaladott Huntington kóránál a striátumban, a globus pallidusban és az agykéregben igen intenzív sejtpusztulás

figyelhető meg. Ennek következtében csökken az agyban a GABA (gamma-amino-vaajsav), az ACh (acetilkolin) és az enkefalinok mennyisége, míg a DA (dopamin) és a szomatosztatin mennyisége nő (Anger 1991, review). A Hungtinton kór modelljeként először olyan patkányokat használtak, amelyek striatumába kainsavat fecskendeztek. Ez a citotoxin a K típusú glutamát receptorok szelektív agonistája, motoros hiperaktivitást és memória zavarokat okoz (Coyle és Schwarz 1976). Hatására az agyban bekövetkező biokémiai változások hasonlóak a Huntington kórban szenvedők kórképéhez. Jelenleg egyre gyakrabban alkalmazzák a quinolin- és iboténsavat, amelyeknek hatása hasonló a kainsavéhoz (Schwarz et al 1983). Az így kezelt patkányokon fellelhetők ugyan a Huntington kór tünetei, de összehasonlítva a humán Huntington kór igen gazdag tünetegyüttesével csak igen kismértékű analógia mutatkozik.

Emberben ezeknél a megbetegedéseknél legtöbbször a P300 kóros elváltozását is meg lehet figyelni.



I.1.3. A P300 ÉS A KOGNITÍV ELVÁLTOZÁSOK

A neurodegeneratív megbetegedések és az időskori kognitív elváltozások patológiai vizsgálata lehetőséget nyújt a P300 anatómiájának megértéséhez illetve tanulmányozásához. A centroparietálisan regisztrált P300 latenciája az életkor növekedésével hosszabb lesz (Donchin et al 1986). A latencia növekedése kognitív hanyatlást tükröz. A növekedés mértéke a különböző tanulmányok szerint 1-2 ms/évre tehető (Kraihuhin 1986, Polich 1986, 1991). Néhányan a P300 amplitúdójának a csökkenését is megfigyelték az életkor előrehaladtával (Goodin et al 1978). A latencia és az amplitúdó változása azonban nem hozható egyértelműen összefüggésbe az évek számával. Egyrészt egyes kutatók szerint a P300 paraméterei nem függenek a kortól, másrészt a P300 amplitúdója és latenciája nem függenek egyértelműen egymástól (Donchin et al 1986).

Extrém hosszú latenciát figyeltek meg azokon a betegeken, akik a dementia különböző válfajaiban szenvednek, például Parkinson-, Alzheimer- vagy Huntington-kórosak (Bodis-Wollner et al 1988). A hangingerre kiváltott P300 latenciája a Parkinson kóros betegeknél szignifikánsan nagyobb volt (Stanzione et al 1991). Azoknál a Parkinson kóros betegeknél, ahol kognitív hanyatlást tapasztaltak, a hangingerrel kiváltott P300 sokszor hiányzott, késett vagy az amplitúdója kisebb volt (Bodis-Wollner et al 1984, 1988, Goodin és Aminoff 1987).

Alzheimer kórban szenvedő betegeken szintén a hangingerrel kiváltott P300 latenciájának növekedését tapasztalták, bár ezen elváltozás a betegség korai stádiumában nem volt jelentős

(Kraihin et al 1990) , később egyértelműen szignifikánssá vált (Ito et al 1990). A latencia növekedése mellett néhányan az amplitúdó csökkenését is megfigyelték ezeken a betegeken (Choyasirisobhon 1985).

Skizofréniában szenvedő betegeken hang- és fényingerekkel kiváltott P300-at vizsgáltak. Mindkét modalitású inger alkalmazásakor a P300 latenciája és amplitúdója csökkent (Duncan 1988, Romani et al 1987).

Huntington kórban szenvedő betegeken ugyanezt az eredményt kapták (Rosenberg et al 1985).

Az AIDS korai stádiumában szintén megfigyelték, hogy a hangingerrel kiváltott P300 latenciája növekedett, amplitúdója csökkent. Ezeken a betegeken klinikailag semmiféle mentális elváltozást nem tapasztaltak (Ollo et al 1991).

Alkoholistákon egyértelműen csökkent hangingerrel kiváltott P300 amplitúdót mértek összehasonlítva az alkoholt nagymértékben nem fogyasztókkal. Ugyanezt találták alkoholisták gyermekeiben is (Emmerson et al 1987).

A P300 latenciájának csökkenése ezekben a betegségekben valószínűleg a neuronális folyamatok sebességének csökkenését jelzi. A kognitív hanyatlás így összefüggésbe hozható a P300 latenciájának csökkenésével és diagnosztikai eszközként szolgálhat egyes megbetegedések korai felismerésében.

I.1.4. A P300 ANATÓMIAI ES NEUROFIZIOLÓGIAI HÁTTERE

Emberekről történő intrakraniális és magnetoencefalográfiás elvezetések, továbbá néhány olyan betegen végzett megfigyelés, akiknek ismert kiterjedésű agyléziója volt, lehetővé tették, hogy a P300 eredetéről számos feltételezés szülessék. A P300 megjelenése emberen a koponyán viszonylag jól körülhatárolható és bilaterálisan szimmetrikus, maximális amplitúdóval a középvonal centrális és parietális elvezetéseiben. Ezek alapján néhányan bilaterális eredetet feltételeznek a parietális asszociációs kéreg és a frontális kéreg közreműködésével (Simson, et al 1976, 1977). Más feltevések szerint egy, az agyalaptól az agykéregig haladó diffúz projekciós rendszer játszik szerepet a P300 keletkezésében (Galambos és Hillyard 1981). Magnetoencefalográfiás elvezetések azt sugallják, hogy a P300 hippocampális eredetű (Okada et al 1983). Szintén a hippocampus szerepét bizonyítják a P300 képzésében Halgren és mtsainak kísérletei (1980). Epilepsziás betegekben vizsgálva a fejbőrön és a hippocampusban mért EFP-k időbeli függést mutattak és a feladat végzésekor a hippocampusban sejtaktivitást is regisztráltak.

Hang- és fényingerrel kiváltott P300 esetében Yingling és Hosobuchi azt kapták, hogy összehasonlítva a fejbőrön és a talamuszban regisztrált EFP-k paramétereit egy krónikus fájdalomszindrómában szenvedő betegen, a P300 talamikus eredetűnek volt mondható (1984).

Mivel a humán megfigyelések száma korlátozott, a megfelelő

állatmodellek nagy szerepet játszanak a P300 anatómiai és farmakológiai hátterének feltárásában.

A legtöbb állatkísérlet a P300 generálódásában a hippocampusz illetve a limbikus rendszer kiemelkedő fontosságát hangsúlyozza (Wood et al 1980, McCarthy et al 1982). A hippocampusz szinte mindegyik szenzoros rendszerből kap információt és bizonyítottan fontos szerepet játszik a rövid és hosszú távú memória folyamatokban (Bischoff 1986). Ugyancsak a hippocampusz szerepét bizonyítja az a tény, hogy néhány betegségben, ahol abnormális P300-at figyeltek meg, memóriaproblémák is jelentkeztek.

Állatkísérletekben Gabriel és mtsai a talamusz szerepét bizonyították a P300 képzésében (1983).

A noradrenerg locus coeruleus szerepét igazolja néhány farmakológiai és anatómiai megfigyelés mókus majmokon (Pineda et al 1989). A locus coeruleus léziós roncsolásának és a felszálló noradrenerg axonok blokkolásának hatására a P300 kisebb és más agyterületen volt regisztrálható, mint korábban és az inger valószínűségének változására érzékenysége nagymértékben csökkent.

Szintén a katekolaminok, ezen belül a dopamin szerepét bizonyítják azok a klinikumban történt megfigyelések, melyek szerint abnormális P300 figyelhető meg azokon a Parkinson kóros betegeken, akikben ugyanakkor szellemi hanyatlás is fellép (Bodis-Wollner et al 1984, 1988, Goodin és Aminoff 1987). Ezt a feltevést támasztják alá azok a kísérletek, amelyeket MPTP-vel kezelt majmokon végeztek (Glover et al 1988, bővebben l. a 44. oldalon).

I.2. CÉLKITŰZÉSEK

Az irodalmi áttekintésből láthattuk, hogy a P300 farmakológiája még kevésbé ismert. A nem emberszabású majmok különösen fontos szerepet játszhatnak ennek kutatásában az emberhez való anatómiai, fiziológiai, viselkedésbeli hasonlóságaik alapján. Munkánk során célkitűzéseink az alábbiak voltak:

1. A vizuális "oddball" paradigmával kiváltott P300-nak milyen tulajdonságai vannak az általunk vizsgált kísérleti állatban és ezek igazodnak-e az irodalmi adatokhoz?

2. Van-e hatása a vizuális "oddball" paradigmával kiváltott P300-ra a komponens képzésében valószínűleg szerepet játszó neurotranszmitter rendszerekre gyakorolt farmakológiai manipuláció?

A farmakológiai kísérletek keretében Acetil-L-carnitine-t (ALC), szkopolamint és sulpiridet adtunk a kísérleti állatnak.

3. 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridine (MPTP) hatására hogyan változik a P300, a Parkinson kór tünetei milyen mértékben vannak jelen és ezek befolyásolhatók-e L-DOPA-val illetve ALC-vel?

I.3. ANYAG ÉS MÓDSZER

I.3.1. A kísérlet alanya

Egy hím cynomolgus majom (*Macaca fascicularis*), Charlie szolgált a kísérletek alanyául. A súlyát, fogazatát és a származási országát figyelembe véve az állat fiatal felnőttnek volt tekinthető. A súlya 8 kg, életkora a kísérletek kezdetekor kb. 4 év volt.

Az előzetesen ketamin anaesthesia (7 mg/kg) alatt elvégzett rutin szemvizsgálat normál corneákat, tiszta szemlencsüket és 5 mm átmérőjű, reaktív pupillákat mutatott. 2 csepp Cyclopentanolate hydrochloride (2%) becsepegtetése után a cycloplegicus retinoszkópia refraktív hibát nem mutatott ki egyik szemben sem.

I.3.2. Az állat szállítása

A mindennapos szállítás során (a kolóniából a laboratóriumba) a majmot gyengén anasztetizáltuk ketaminnal (0.4 - 0.5 mg/kg i.m.). Ezt követően egy órás szünet után kezdtük a kísérletet, mivel korábbi kísérletek azt mutatták, hogy az alacsony dózisú ketaminnak egy óra múlva már nincs észrevehető hatása a kiváltott válaszokra, összehasonlítva a kontroll adatokkal.

A majom a szállítás céljára szolgáló székben (primate chair) ült (1.ábra), a nyakát egy műanyag gallér rögzítette. A székhez erősített, könnyű, méretre készített mellény akadályozta a majmot a nagymértékű elfordulásban. A szék tetején egy

nagyméretű plexi gallér korlátozta a vertikális karmozgásokat.

I.3.3. Kondicionálás

Mielőtt a majom kondicionálását megkezdjük, az állatot tíz napon keresztül szoktattuk a tesztkörnyezethez. Az állat tanítását akkor kezdtük el, amikor a tesztkörnyezetben teljesen nyugodtan viselkedett és figyelmet fordított a képernyőn megjelenő mintázatra. A kondicionálás megkezdése előtt Charlie 12 órás vízelvonásban részesült. A teszt után azonnal friss gyümölcsöt kapott és a majomkolóniába való visszatérés után víz is a rendelkezésére állt. A víz elérhető volt számára az etetés ideje alatt és azután 2 óráig. Charlienak 2-3 hónapos kondicionálásra volt szüksége.

I.3.4. Műszerek

Charliet, miután a székbe ültettük, egy belül teljesen fekete teszt kamrába helyeztük, szemben a monitorral (2.ábra). Az állat szeme és a monitor között 20 cm távolság volt. Egy gyümölcsle adagoló fém szopóka a székhez rögzítve, az állat szájánál végződött. A gyümölcsle adagolót egy, a kamrán kívüli folyadék-szolenoid szelep szabályozta, amely működéskor kattánós hangot adott, ami megerősítésként szolgált. A tesztelő apparátus 3 részből állt: egy Tektronix 680 X-Y monitorból, egy pedálból a monitor alatt és egy vörös LED-ből, amit a képernyő közepén helyeztünk el. Az alapzajt (75 dB nHL) egy, a szék fölött 20 cm-re található hangszóró biztosította. A monitor elé egy fekete, nem átlátszó maszkot helyeztünk, 84 mm sugarú, kör alakú nyílással. Egy vékony plexi lemez akadályozta a majmot a monitor

közvetlen megérintésében. A teszt kamrát infravörös lámpával világítottuk meg és a kísérletet folyamatosan nyomon követtük egy beépített videokamerával.

I.3.5. Ingerlés

A stimulus 2.5 ciklus/fok (cpd) fekete-fehér csíkokból álló szinuszoid mintázat volt, kétféle (0 és 45 fok) orientációban. Mindezt a Tektronix monitor állította elő számítógépes szabályozás alatt. Az átlagos luminancia és a kontraszt 85 cd/m^2 és 44% míg az inger időtartama 742 msec volt. A mintázat 3.7 másodpercenként "jelent meg" a képernyőn.

I.3.6. A feladat

A majomnak egy un. go / no-go döntéssel járó feladatot (go/no-go discrimination task) kellett megoldani, azaz különbséget kellett tennie a 0 és a 45 fokos mintázat között. Minden alkalommal amikor a LED fölgyulladt, az állatnak le kellett nyomnia a pedált, majd a képernyőn megjelent a függőleges vagy a 45 fokkal elfordult mintázat. A függőleges mintázat volt a target mintázat (TS), ennek megjelenése után az állatnak el kellett engednie a pedált meghatározott időintervallumon belül (430-1798 ms vagy 535-1798 ms, ez a response window - RW). A ferde mintázat volt a non-target inger (NTS), ennek megjelenése után a pedált lenyomva kellett tartani legalább 1798 ms-ig. Néhány kísérlet után a RW alsó határát 535 ms-ra emeltük, hogy elkerüljük a motoros válasz következtében létrejövő artefaktumok esetleges hatását a P300-ra. A target ingerre adott helyes válasz (HIT) jutalma néhány csepp gyümölcslé volt, amely az

adagolón keresztül jutott el az állat szájába. A non-target ingerre adott helyes válasz (CORRECT REJECTION) után a kísérlet szünet nélkül folytatódott. Ha a target inger bemutatása előtt (ANTICIPATION) vagy a RW vége előtt (BEFORE WINDOW) Charlie felengedte a pedált gyümölcslevet nem kapott és csak 5 másodperc múlva jött a következő inger. Ha a target ingerre nem engedte fel a pedált (MISS) ugyanez történt. A non-target ingerre 1798 ms előtt felengedett pedál (FALSE ALARM) után Charlie egy kellemetlen 2 kHz-es hangot hallott és egy 5 mp-ces szünet következett.

Az ingerre adott lehetséges válaszok összefoglalva a következők voltak :

Helyes válaszok:

HIT

TS-nál a megfelelő időben, a RW-n belül engedte el a pedált
eredménye - jutalomképpen néhány csepp gyümölcslé

CORRECT REJECTON

NTS-nál lenyomva tartotta a pedált 1798 ms-ig
eredménye - a kísérlet megszakítás nélkül folytatódik

Hibás válaszok:

MISS

TS-nál nem engedte föl a pedált

ANTICIPATION

az inger bemutatása előtt felengedett pedál

BEFORE WINDOW

a TS bemutatása után, de a RW kezdete előtt felengedett
pedál

FALSE ALARM

NTS-ra felengedett pedál

(3. ábra)

Minden héten 3-4 alkalommal, 5-6 db, 75 ingerből álló sorozatot mutattunk be a majomnak. A target inger előfordulási valószínűsége 15 és 70% között változott.

I.3.7. A műtét

Néhány hónap tréning után, amikor Charlie teljesítménye elérte a 67-70%-ot, miniatűr ezüst - ezüstklorid elektródákat ültettünk sztereotaxiás mikromanipulátor segítségével a koponyán fúrt lyukakba úgy, hogy az elektródok a dura mater felszínén legyenek. A műtét pentobarbitál (40 mg/kg) altatás alatt történt, a koponyatetőt steril körülmények között tártuk fel.

Az elektródák elhelyezkedése az alábbi volt:

Z50, Z70 (a számok az inion - nasion távolság %-os arányát jelentik), kétoldali frontális, kétoldali parietális és kétoldali occipitális. A frontális lebenyen egy elektróda szolgált földként (GND). (4. ábra)

Az acél csavarokkal a koponyatetőhöz erősített arany érintkezős konnektort fogorvosi acryl paszta rögzítette stabilan. A szennyeződés és az elektródák polarizációjának elkerülése céljából a konnektort egy műanyag vakdugóval zártuk le.

Műtét után az állatot megfigyelés alatt tartottuk és szükség esetén antibiotikumokkal láttuk el.

I.3.8. Az adatok felvétele

2 héttel a sebészi beavatkozás után kezdődtek az elektrofiziológiai vizsgálatok. A kísérleti dobozban összekapcsoltuk a Charlie fején lévő konnektort a háta mögött elhelyezett, erősítőhöz csatlakozó szelektorral. P300-at a Z50 (aktív) - Fz pontok között figyelhattunk meg. A primer válaszokat az Ro (aktív) - Fz pozícióban regisztráltuk. A szemmozgásokat, melyek a P300-at zavarhatják, kettő, a szem alá és fölé helyezett korong elektród segítségével vizsgáltuk az esetleges artefaktumok kiszűrése céljából. Az erősítés 20 k volt 0.3 és 100 Hz-es szűrők mellett. A felvett adatokat egy Nicolet 1170 átlagolón analizáltuk (analízis idő 1000 ms), egy PDP 11-23 számítógép segítségével mágneslemezen rögzítettük, további analízis céljából.

I.3.9. Az adatok feldolgozása

Az alapvonalat egy 100 ms-os inger előtti szünet után állapítottuk meg. A primer kiváltott válaszok esetében a 70 ms körül bekövetkező pozitív komponenst vettük figyelembe (P70), amely megfelel az ember esetében regisztrálható P100-nak (Creel et al 1973, Schroeder et al 1991). Mind a primer, mind a késői pozitív komponensnél a csúcslatencia értékeket mértük. A primer kiváltott válaszoknál a csúcstól - csúcsig, míg a P300-nál az alapvonaltól számított amplitúdót vettük figyelembe.

A különböző farmakológiai kísérletekben ANOVA statisztikai analízist és Bonferoni t-tesztet használtunk a szignifikancia megállapítására (szignifikancia szint $p < 0.05$).

I.3.10. Az állat kényelme

A kísérlet több mint egy éves időtartama alatt az állaton a kísérletekből adódóan a rossz közérzet egyetlen jelét sem észleltük. Sem a szállítás, sem a kísérlet alatt nem okoztunk neki fájdalmat. A kísérletek után mindig kapott friss gyümölcsöt (banán, alma, stb.)

I.4. EREDMÉNYEK

I.4.1. Normatív adatok

A sebészeti beavatkozás után Charlie kb. 1 évig nem vett részt magatartási kísérletekben. 1991 augusztusától kezdtük újra megtanítani az elvégzendő feladatra, 50%-os target valószínűséggel.

A P300 latenciája és a reakcióidő csökkent, az állat teljesítménye fokozatosan nőtt. A kísérletek kezdetétől számított kb. 15 - 20 nap múlva a reakcióidő stabilizálódott (5. ábra). Charlie teljesítménye ekkor 90 és 100 % között volt.

A primer kiváltott válaszok mind a target, mind a non-target ingerekre hasonlóak voltak. A primer pozitív hullám átlagos latenciája 69 ± 2.5 ms, amplitúdója 19 ± 5.9 μ V volt. Korábban tanulmányozott majmokban ennek a komponensek az átlagos latenciája 69.0 ± 4.0 ms, amplitúdója 17.9 ± 2.1 μ V-nak bizonyult (Ghilardi et al 1988).

P300 csak a target ingerre jelentkezett (6. ábra). Ezen késői pozitív hullám latenciája 410.5 ± 20.3 ms, amplitúdója 34.7 ± 4.8 μ V volt 30 %-os target inger valószínűség mellett. Három, ugyanilyen rendszerrel korábban tanulmányozott majom esetében az átlagos P300 latencia 409.6 ± 45.8 ms, a P300 amplitúdó 37.2 ± 6.3 μ V volt (Glover et al 1991).



I.4.2. A target inger valószínűségének változása

Különböző target inger valószínűségeket használtunk 20 és 80 % között. Az állat teljesítménye minden esetben közel azonosnak bizonyult. A target inger valószínűségének csökkenése vagy emelkedése semmiféle hatással nem volt a primer válaszra, de annál nagyobb változás következett be a P300 paramétereiben. A P300 latenciája és amplitúdója emelkedett a target inger valószínűségének csökkenésével (7. ábra) ($\Delta A = 0.132 \mu V / 1\%$ probability, korrelációs koefficiens: 0.65 ; $\Delta L = 0.334 \text{ ms} / 1\%$ probability, korrelációs koefficiens: 0.68).

I.4.3. A teljesítmény hatása a P300-ra

Az állat teljesítménye nem volt mindig stabil, főleg az első hónapban voltak olyan napjai, amikor teljesítménye rosszabb volt az átlagosnál. A P300 amplitúdója alacsonyabb teljesítmény esetén kisebb volt (8. ábra; korrelációs koefficiens: 0.74).

I.4.4. Szemmozgás

A szemmozgásokat két elektródával (a jobb szem alatt és fölött) vizsgáltuk és külön átlagoltuk a target és non-target ingerekre. Az alsó elektróda volt az aktív, a felső a referencia. A szemmozgások semmilyen kapcsolatot nem mutattak a P300-zal, de mutattak a feladattal. A target ingerre egy lefelé irányuló szemmozgást kaptunk, amely latenciája véletlenszerűen

alakult (330 - 600 ms között), de általában 450 ms fölött volt. A nem target ingerre felfelé irányuló szemmozgást kaptunk 500 - 550 ms közötti latenciával. A 9. ábra azt mutatja, hogy a szemmozgás latenciája független volt a target inger valószínűségétől (korrelációs koefficiens: 0.02).

II. FARMAKOLÓGIAI VIZSGÁLATOK ÉBER MAJMON

Az EFP-ok intrakraniális eredetének kutatásában a farmakológiai vizsgálatok nagyon hasznosnak bizonyultak. Ez főképpen két dolognak köszönhető: (1) ezek a vizsgálatok reverzibilisek és így ugyanaz az alany többször is felhasználható, (2) anatómiailag segítenek a P300 eredetének feltárásában, mert amennyiben a komponens valamely neurokémiai rendszerhez kötött, ennek blokkolása azonosíthatja a hullám képzésében részt vevő struktúrát. Kísérleteinkben a kolinerg és katekolaminerg rendszer (ezen belül a dopamin) szerepét vizsgáltuk a P300 keletkezésében. Korábbi adatok értelmében az ACh-nak és a dopaminnak valószínűleg szerepe van a P300 létrehozásában illetve módosításában.

A kolinerg rendszer meghatározó szerepet játszik az elektrokortikális aktivitás kialakításában (Marczynski 1978). Emberben (Davies és Feisullin 1982) és majomban is (Mesulam et al 1983) a kérgi kolinerg hálózat eredete a bazális előagyban található. Az itteni négy kolinerg neuronokat tartalmazó sejtcsoport felszálló ágai az agy szinte minden területét behálózzák. Az első csoport a középső szeptális magvakhoz és a hippokampuszhoz, míg a második csoport a diagonális köteg vertikális magjához, a hipotalamuszhoz és a hippokampuszhoz küld információt. A harmadik csoport a diagonális köteg horizontális magján keresztül a bulbus olfactoriuszhoz küld rostokat. A negyedik csoport a kéreg kolinerg hálózatának fő forrása, és a Meynert mag is innen kap kolinerg rostokat. Főként ennek a pályának a károsodását figyelték meg Alzheimer kóros betegeknél

post-mortem (Price et al 1982). A kaudális középagy is tartalmaz kolinerg neuronokat (Armstrong et al 1982) amelyek előagyi extrapiramidális struktúrákba és a kortexbe projektálnak. Egy másik, jól körülírt kolinerg pálya a nucl. caudatus-putamen komplex kolinerg neuronjait, a gerincvelő motoros neuronjait, a dorzális és hátsó kolinerg hipotalamikus neuronokat és azokat a kolinerg neuronokat foglalja magába, amelyek a középagytól kaudálisan helyezkednek el (Kimura et al 1981).

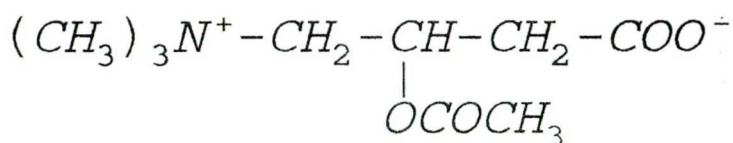
A dopamin legnagyobb koncentrációban a nucl. caudatusban és a putamenben található, amelyek a legnagyobb felszálló dopaminerg pályarendszer részét képezik. A nucl. caudatus dopaminerg rostjai a substantia nigra mediális míg a putámenbe futó rostok a laterális részéből erednek (Bernheimer et al 1973). A putamen a motoros működésben szerepet játszó kortikális-szubkortikális hálózat része (extrapiramidális pálya). A nucl. caudatus, mint az extrapiramidális pályarendszer része, szintén részt vesz a mozgató működésben, de a frontális asszociációs kéreggel is kapcsolatban áll és a psychomotoros és emocionális folyamatokban játszik szerepet (Evarts et al 1984). A nucl. caudatusban és a putámenben felszabaduló dopamin gátlólag hat azok idegsejtjeire, míg az ott található kolinerg neuronok hatása serkentő. A substantia nigrából a striátumba projektáló dopaminerg pályarendszer az agy összes dopamintartalmának 80 %-át tartalmazza. A Parkinson kór esetében a motoros tünetek és a nigrostriatalis dopaminerg degeneráció (főként a substantia nigra pars compactájában) közötti összefüggés már tisztázott, de a nigrális dopaminerg sejtpusztulás és a dementia kapcsolata még jórészt ismeretlen.

Egyes szerzők szerint a Parkinson kórban fellelhető kognitív elváltozások feltételezhetően a nucl. caudatusban tapasztalható dopaminerg degeneráció és az ezzel kapcsolatban álló frontális asszociációs kéreg csökkent működésével függnek össze (Taylor et al 1986), míg mások szerint a szubkortikofrontális felszálló kolinerg pályarendszer károsodásával (Dubois et al 1990).

Kísérleteinkben az Acetyl-L-carnitin, szkopolamin, szulpirid hatását vizsgáltuk a P300-ra. A farmakológiai kísérletek záróakkordjaként mesterségesen Parkinson kórossá tettük az állatot MPTP injektálásával.

II.1. Acetyl - L - carnitin (ALC) hatása a P300-ra

Az utóbbi évtizedben az ALC és az acetilkolin közötti strukturális hasonlóság, továbbá az a felfedezés, hogy néhány betegség pathológiailag az acetilkolin mennyiségének központi idegrendszerben történő változására vezethető vissza, alapot adott az ALC szisztematikus kutatásához. Az ALC egy acetilezett karnitin származék, szerkezete a következő :



Az acetyl-karnitin transzferáz segítségével a mitokondriumban reverzibilis acetilációval karnitinből keletkezik (Fritz et al 1963). A molekula acetilkolin észterázzal elbontható (Hosein et al 1963). Az ALC az acetyl csoportok mitokondriumon kívülre történő szállításában vesz

részt és a hosszú szénláncú zsírsavak felvételében is szerepet játszik. Az ALC a fehérje és foszfolipid szintézist serkenti (Janiri et al 1983).

Az ALC az acetilkolinhoz való szerkezeti hasonlóság alapján valószínűleg részt vesz a kolinerg neurotranszmisszióban is (Sass és Werness 1973), de Blum és mtsai szerint kb. 700-szor kisebb hatékonysággal mint az acetilkolin (Blum et al 1971). A kéregben az ALC növeli az acetil-KoA és a kolinacetil-transzferáz aktivitását, a kolin felvételt és az acetilkolin kibocsátását (Imperato et al 1989).

Emlősökön végzett elektrofiziológiai vizsgálatok azt sugallják, hogy ALC adagolás után a kérgi aktivitás megváltozik. Patkányban a szomatoszenzoros kéreg kolinerg neuronjainak tüzelési aktivitása ALC hatására nőtt (Janiri et al 1991). Atropinnal a folyamatot blokkolni lehetett, ami muszkarin jellegű aktivitásra mutat. Szintén patkányokban ALC hatására a primer kiváltott válaszok amplitúdójának növekedését figyelték meg vizuális steady-state ingerre (Onofrj et al 1987). ALC-vel folytatott szubkrónikus kezelés patkányokon szignifikáns javulást idézett elő a tájékozódásban (Valerio et al 1989). Ez az eredmény a tanulási és memória kapacitás növekedését jelzi.

Emberen történő vizsgálatok szintén igazolták az ALC hatását a neuronális aktivitásra. ALC intravénás adagolása idős emberekben meggyorsította az EEG frekvenciáját (Martucci et al 1986). ALC szisztematikus adagolása csökkentette a hangingerrel "oddball paradigma" szerint kiváltott P300 latenciáját és növelte az amplitúdóját mind a normál kontrollokban, mind a dementia különböző formáiban szenvedő betegekben (Gambi et al

1983). Az ALC-nek a primer kiváltott válaszra is volt hatása, annak amplitúdóját növelte. Számos kísérletsorozatban azt találták, hogy az ALC adagolás kedvezően hat a szellemi leépüléssel járó betegségekben szenvedők memóriájára (Passeri et al 1990, Spagnoli et al 1991, Passeri et al 1988). Ezek az eredmények mind az ALC terápiás alkalmazhatóságát sugallják a mentális problémákkal küzdő időszerűknél, főként Alzheimer kóros betegekénél, ahol a szellemi hanyatlás az acetilkolin hiányával függhet össze. Egy éves, ALC-vel történő terápiás kezelés után az Alzheimer kóros betegek lassabb ütemű hanyatlást mutattak, mint a kontroll csoport. Számos neurofiziológiai tesztben, amely főképp a mindennapos tevékenységekhez kötődött, a kezelt csoport eredménye szignifikánsan jobb volt az ALC-t nem kapottakénál. Az ALC krónikus alkoholisták esetében is javulást hozott, hasznos és biztonságos terápiás anyagnak bizonyult (Spagnoli et al 1991).

Az ALC-nak nemcsak az orvosi gyakorlatban, hanem a kutatásban is hasznát vehetik, kolinomimetikus tulajdonságainak köszönhetően (Bodis-Wollner 1990). Az emberen történő vizsgálatok korlátozott számát tekintve szükségessé vált állatmodellek életrehívása, különösképpen a majomkísérletek bevezetése.

Onofrj és mtsai az "oddball paradigmát" használva tanulmányozták majmok hangingerrel kiváltott P300-át, ALC intramuszkuláris adagolása után (Onofrj et al 1987). A P300 amplitúdója növekedett minden állatban és három állatból kettőnél a latenciája csökkent.

Az alábbi kísérletsorozatban az ALC hatását vizsgáltuk akut

és krónikus kísérletekben a vizuális "oddball" ingerrel kiváltott P300-ra majomban (Antal et al 1992).

II.1.2. Akut kísérletek

Amikor két hónapos kontroll kísérlet után azt tapasztaltuk, hogy Charlie teljesítménye 90 - 100% között volt és a kiváltott potenciálok paraméterei stabilnak bizonyultak, akut kísérleteket indítottunk el. Öt alkalommal 50 mg/kg ALC-t adtunk az állatnak gyümölcslében feloldva, szájon keresztül. Ezután kb. öt perces időközökben regisztráltuk a kiváltott válaszokat, kb. 45 percen keresztül, 30 %-os target valószínűséget használva. A pedál felengedésének átlagos ideje a kísérlet során nem változott (I. táblázat).

II.1.2.2. Az akut kísérletek eredményei

Az ALC-nek a primer kiváltott válaszokra szignifikáns hatása nem volt. Ugyancsak nem tapasztaltunk semmiféle változást a non-target ingerre bekövetkező válaszban. A P300 latenciája azonban ALC beadása után csökkent. A legrövidebb latenciát 15 és 32 perc között mértük. A 10. ábrán a különböző időközökben felvett és átlagolt válaszok láthatók. A P300 latenciája 35 - 40 perccel a drog beadása után elkezdett növekedni, de a kísérletek idejőtartama alatt egyszer sem érte el a kiindulási értéket (10.ábra). A P300 amplitúdója 15 perccel az ALC beadása után

szignifikánsan nőtt ($p < 0.05$), azután pedig csökkent (11. ábra).

A II. táblázat az 5 akut kísérlet eredményeinek átlagát mutatja.

II.1.3. Krónikus kísérletek

Az akut kísérletek után folytattuk az ALC adagolását és ezzel egy krónikus állapotot idéztünk elő. Az 50 mg/kg dózis után 75 mg/kg ALC-t adtunk, szintén orálisan, 6 alkalommal. A 12. ábra mutatja, hogy mely napokon, milyen dózisú ALC-t adtunk az állatnak. Elektrofiziológiai kísérleteket az alábbi napokon végeztünk (az 1. dózis beadásától számítva) 0;2;3;7;9;15;17;24;29;31;40. A target inger valószínűsége 30% volt.

II. 1.3.1. A krónikus kísérletek eredményei

A krónikus ALC adagolás során a primer kiváltott válaszok amplitúdója és latenciája nem változott szignifikánsan. A P300 latenciája ALC hatására csökkent. Ez a csökkenés szignifikánsnak ($p < 0.05$) bizonyult a 3., 18. és 31. napon (12. ábra), (III. táblázat). A P300 amplitúdója krónikus ALC kezelés hatására növekedett. A 14. napra ez a növekedés szignifikáns volt ($p < 0.05$, III. táblázat) .

Az ALC adagolását néhány alkalommal megszakítottuk. Az eredmények azt mutatják, hogy már néhány napos terápiamegszakítás képes megnövelni a P300 latenciáját (12. ábra).

Különböző target inger valószínűségeket használva, azt vizsgáltuk, hogy van-e összefüggés az ALC hatására bekövetkező maximális latencia csökkenés és a target inger valószínűsége között. A maximális latencia csökkenés 30 és 50 ms között volt minden target valószínűség esetében. Az átlagos latenciacsökkenés az egyes valószínűségekre lebontva :

valószínűség (%)	max. latenciacsökkenés (ms)
25	40
35	50
44	30

Az eredmények azt mutatják, hogy a target inger valószínűsége és a maximális latencia csökkenés között nincs egyenes összefüggés.

II.1.4. Az ALC koncentrációjának hatása a P300-ra

Négy különböző (25-50-75-100 mg/kg) ALC dózist használtunk annak megállapítására, hogy az ALC dózisa összefüggésbe hozható-e a P300 paramétereinek változásával. Minden dózissal legalább 3 kísérletet végeztünk, az egyes dózisok között több napos szünetekkel, az esetleges krónikus hatás kialakulásának elkerülése céljából. Az elektrofiziológiai vizsgálatokat és a regisztrálást a korábban leírtak szerint végeztük.

Mind a négy ALC dózis hatására a P300 latenciájának csökkenését figyelhettük meg. Ez a csökkenés azonban a különböző dózisok esetében különböző mértékű volt. 25 mg/kg ALC hatására a latencia kisebb mértékben csökkent, mint a másik három dózis esetében. Legnagyobb mértékű csökkenés a 100 mg/kg dózisonál következett be. Az 50 és 75 mg/kg dózisok között lényeges különbség a maximális latenciacsökkenésben nem volt (13. A ábra). A P300 latenciájának csökkenése az ALC beadása után kb. 20 perccel kezdődött.

A P300 amplitúdója 25 mg/kg ALC hatására csökkent, a csökkenés nem volt szignifikáns. 50, 75 és 100 mg/kg dózisok esetében a P300 amplitúdója először kismértékben növekedett, utána csökkent. Ez az amplitúdó növekedés mindegyik dózis esetében az anyag beadása után 10-15 perccel történt (13. B ábra).

100 mg/kg dózis hatására az állat magatartása nagymértékben megváltozott, izgatottá vált és ez néha a berendezés rongálásában nyilvánult meg. Mivel a kísérletben való közreműködése nagymértékben romlott, ennek a dózisonak az alkalmazását csak három alkalommal ismételtük meg.

II.2. Szkopolamin hatása a P300-ra

Antikolinerg anyagok, mint a szkopolamin, amely egy muszkarin típusú kolinerg antagonist, régóta ismertek a tanulásra és memóriára gyakorolt negatív hatásukról (Drachman 1974, 1977, Bartus 1976, 1978). Ez nem meglepő, mivel a kolinerg receptorok az agy szinte minden területén megtalálhatók. A kérgi kolinerg rendszer jelentős szerepet játszik az elektrokortikális aktivitás kialakításában (Marczynski 1978). A kortikális és hippokampális kolinerg hálózat fő forrása az előagyban található, mind emberben (Mesulam et al 1983), mind nem emberszabású majmokban (Davies és Fersullin 1982). Számos szerző szerint a hippokampusz a forrása (vagy az egyik forrása) a fejbőrön regisztrált endogén potenciáloknak (Halgren et al 1980, Okada et al 1983), így a kolinerg neurotranszmisszió valószínűleg szerepet játszik azok létrehozásában.

Bartus és mtsai (1978) azt találták, hogy szkopolamin blokkolta a rövid távú memóriát majmokban.

Emberek esetében is leírták, hogy a szkopolamin időleges memóriakiesést idézhet elő (Kopelman 1986). Egyes szerzők szerint a szkopolamin indukálta kognitív deficit nagyon hasonlít az Alzheimer kórban szenvedő betegeknél megfigyelt tünetekre (Fuld 1984), mások szerint a fiatal embereken megfigyelt szkopolamin hatás sokkal inkább hasonlít a demenciában nem szenvedő idős embereken megfigyelt memóriazavarokra, mint az Alzheimer kórban szenvedők tünetegyüttesére (Flicker 1990). A szkopolamint jelenleg széleskörűen alkalmazzák egészséges

embereken vagy állatkísérletekben, mint az Alzheimer kór szkopolamin modelljét (Lines 1991).

Az alábbiakban leírt kísérletekben a vizuális ingerekkel kiváltott P300 változásait vizsgáltuk különböző dózisú szkopolamin hatására a már jól betanított, hosszabb ideje vizsgált majomban.

Két különböző anyagot, szkopolamint és ALC-t használtunk 2 különböző típusú kísérletsorozatban.

1. 0.02-0.01-0.005 mg/kg szkopolamint intramuszkulárisan
2. 0.005 mg/kg szkopolamint i.m. és 50 mg/kg ALC-t orálisan alkalmazva

Az 50 mg/kg ALC dózist korábbi kísérleteink alapján állapítottuk meg. Az ALC-t gyümölcslében oldva, 10 perccel a szkopolamin beadása után adtuk Charlienak. A 0.005 mg/kg szkopolamin azt a legkisebb dózist képviseli, ami alatt a majom folyamatosan dolgozott, illetve az antikolinerg hatásból adódó motoros problémák a minimálisak voltak (Bartus et al 1976). Minden esetben csak két kísérletet végeztünk egy héten. A pupillákat megmértük a szkopolamin beadása előtt és 30 perccel utána. Kontrollként 1%-os Cyclogil (pupillatággitó szemcsepp) hatását vizsgáltuk a P300-ra.

II.2.1. Eredmények

P70

Kontroll kísérletekben a P70 latenciája 74.2 ± 1.8 ms-nak, amplitúdója 18.8 ± 4.6 μ V-nak adódott. A Cyclogil cseppek hatása alatt a P70 latenciája és amplitúdója csökkent (67 ± 4 ms

illetve $15.3 \pm 4.4 \mu\text{V}$) míg a pupilla átmérője 5 mm-ről 9 mm-re nőtt.

Szkopolamin hatására a P70 latenciája kismértékben csökkent, de ez a változás nem volt szignifikáns összehasonlítva a kontroll adatokkal. A pupilla átmérője 5 ± 1 mm-ről 8 ± 1 mm-re nőtt, 25 - 30 perccel a szkopolamin injektálása után. A pupilla átmérője akkor is nőtt, amikor a szkopolamin beadását követte az ALC beadása. A primer pozitív komponens paraméterei a kontroll értékek szintjén mozogtak.

P300

Három különböző dózisú szkopolamin injekciót használtunk (0.02-0.01-0.005 mg/kg). 0.02 és 0.01 mg/kg dózisoknak erős hatása volt az állat viselkedésére. Charlie arrogánssá és izgatottá vált, bár folytatta a munkát, de lassan és megszakításokkal. 0.02 mg/kg dózis az állat teljesítményét 55 %-ra csökkentette, míg 0.01 mg/kg 79 %-ra ($p < 0.05$). A HIT-ek reakcióideje nem változott egyik dózis hatására sem, 580 és 700 ms között maradt. Mindkét dózis ugyanazt a hatást váltotta ki : a P300 latenciája növekedett illetve amplitúdója csökkent. 30 - 40 perccel a szkopolamin injektálása után a P300 eltűnt.

Kisebb dózis (0.005 mg/kg) alkalmazása esetén Charlie teljesítménye közel azonos volt a kontroll kísérletekben mértékkel ($97.5 \pm 3.2 \%$). Ezen kis dózis alkalmazása után a P300 latenciája 5 esetből 3 alkalommal növekedett. 2 esetben nem volt változás, ami arra utal, hogy az alkalmazott dózis közel van az állat érzékenységi küszöbéhez. Azokban az esetekben, ahol a P300

latenciája növekedett, a változás szignifikáns volt ($p < 0.05$). A P300 amplitúdója 20 perccel a szkopolamin beadása után csökkent, de később újra emelkedni kezdett. (14.ábra)

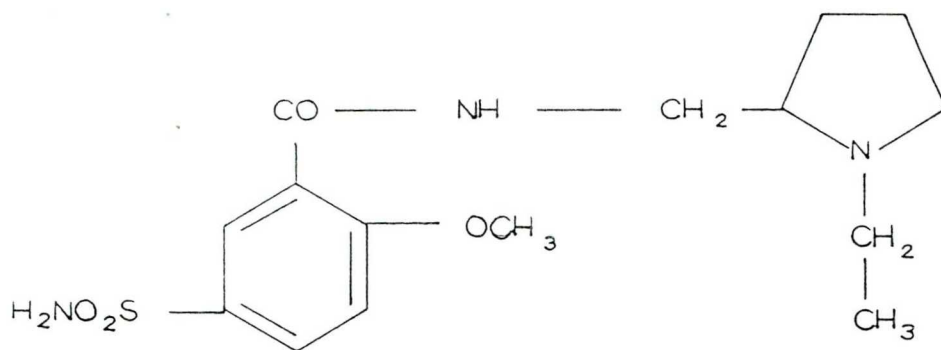
II.2.2. A szkopolamin hatása az ALC által megnövelt P300-ra

Korábbi kísérletekben azt tapasztaltuk, hogy 15 - 20 perccel az ALC beadását követően a P300 amplitúdója növekedett, míg a latenciája csökkent 20 - 35 perccel beadás után (11.ábra). ALC hatás alatt Charlie teljesítménye nem változott ($97.2 \pm 3 \%$) (Antal et al 1992).

Amikor a 0.005 mg/kg dózisú szkopolamin beadása után Charlie 50 mg/kg ALC-t kapott, a P300 latenciája növekedett 25 perccel a szkopolamin beadása után és kb. 20 percig ezen a megnövekedett szinten maradt. A P300 amplitúdója szintén növekedett (15.ábra). Charlie viselkedése nem változott a kísérlet alatt, a teljesítménye $96.0 \pm 4.9 \%$ volt. A IV. táblázat a P70 és P300 értékeit tartalmazza az anyagok beadása előtt és után.

II.3. Sulpiride hatása a P300-ra

A sulpiride (N(1-etil 2 pirrolidinil) metil 2-metoxi-5-szulfamoil-benzamid) egy szubsztituált benzamid származék, szerkezete :



Segítségével bizonyították kétféle dopamin receptor (D1 és D2) szerepét az agyban: a D1 receptor adenilát cikláz függő, míg a D2 ettől független vagy az enzim működését gátolja (Kebabian 1978). A sulpiride szelektív D2 receptor blokkoló, több mint egy évtizede használják farmakológiai kísérletekben. Hatását elsősorban nyúl és macska retinán írták le. Megfigyelték, hogy a sulpiride csökkenti a ganglion sejtek spontán aktivitását (Jensen et al 1988, Schneider és Zenner 1991). D2 receptorok az agyban legnagyobb mennyiségben a nucl. caudatusban, a putamenben és a nucl. accumbensben találhatóak. Ugyanakkor a hippokampuszban, amely dopaminerg innervációjú is, D2 receptort idáig még nem találtak (Andersen et al 1990). A D2 receptorok pre- és posztszinaptikusan is megtalálhatóak. A preszinaptikus D2 receptorok autoreceptorok, a dopamin szintézisét és kibocsájtását gátolják. Működésük adenilát cikláztól független (Vallar és Meldolesi 1989).

A jelenlegi ismeretek szerint legalább két D2 receptor



létezik a clozapinekhez és benzamidokhoz való eltérő affinitás alapján. Az azonosítást nehezíti, hogy a D2 receptor(ok) két seconder messenger rendszerhez kötődhetnek az adenilátcikláz rendszert gátolják, míg a K⁺ csatornák működését serkentik. (Andersen et al 1990).

A nucl. caudatus korábbi adatok szerint szerepet játszhat a Parkinson kórban fellépő kognitív hanyatlásban (Evarts et al 1984). Tudomásunk szerint nincsenek adatok a sulpiride hatásáról a P300-ra. Az alábbiakban bemutatjuk, hogy a sulpiride különbözőképpen hat a primer és a kognitív válaszokra.

A sulpiridet két különböző dózisban (0.35 és 1.05 mg/kg) használtuk intramuszkulárisan alkalmazva. Csak akut kísérleteket végeztünk, maximum két alkalommal egy héten. Irodalmi adatok szerint a sulpiride csúcshatása 20 és 45 perc között van (Spano et al 1979) ezért kb. öt percenként történt a regisztrálás, Charlie munkatempójától függően. A statisztikai vizsgálatokat Bonferroni-T-teszttel végeztük.

II.3.1. Eredmények

P70

Kontroll kísérletekben a primer pozitív válasz latenciája 72.2 ± 3.5 ms, amplitúdója 17.4 ± 3.3 μ V volt. A 0.35 mg/kg sulpiride ezeket az értékeket lényegesen nem változtatta meg, de 1.05 mg/kg szignifikánsan növelte a latenciát és csökkentette az

amplitúdót, 20 illetve 35 perccel a sulpiride beadása után.

P300

A P300 latenciája és amplitúdója 415 ± 17.3 ms ill. 36.8 ± 1.5 μ V voltak a kontroll kísérletekben, 30 % target valószínűség mellett. Charlie teljesítménye 98 - 100 % volt a sulpiride előtt és után egyaránt. 0.35 mg/kg sulpiride hatására sem a P300 latenciája, sem az amplitúdója nem változott. 1.05 mg/kg sulpiride megnövelte a P300 latenciáját és amplitúdóját 20 perccel az anyag beadása után (16.ábra). Mindkét értéknél a növekedés 25 és 30 perccel a sulpiride kezelés után szignifikáns volt ($p < 0.05$). A V. táblázat a P70 és P300 értékeket mutatja a sulpiride beadása előtt és után.

II.4. MPTP (1 Metil-,4-Fenil-1,2,3,6-Tetrahidropiridin) hatása a P300-ra

1982-ben egy sajnálatos baleset forradalmasította a Parkinson kór kutatását. Utcán vásárolt kábítószer önadagolása után Parkinson kórra jellemző tünetek fejlődtek ki egy fiatalemberen (Langston et al 1983). Később bebizonyosodott, hogy a kábítószer MPTP-t (1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin) tartalmazott. Ez a felfedezés vezetett egy homológ állatmodell kialakításához, mivel a későbbiekben kiderült, hogy az MPTP szelektíven elpusztítja a substantia nigra illetve a sztriátum dopaminerg neuronjait (Snyder 1986, German et al 1988). Parkinson kóros betegeknél szintén a nigrosztriátális rendszer dopaminerg sejtjeinek pusztulását figyelték meg, illetve ehhez kapcsolódóan a dopaminerg neurotranszmisszió általános csökkenését (Barbeau et al 1975, Hornykiewicz et al 1986). MPTP adagolás után majmokon a Parkinson kórra emlékeztető tüneteket figyeltek meg, így a végtagokon jelentkező remegést, amely akaratlagos mozgáskor megszűnt, koordinálatlan és késleltetett mozgást, az izmok plasztikusságát, esetenként fellépő testtartási és antagonistá tónus fokozódást, táplálékfelvételi problémákat (Burns et al 1983). Kognitív hanyatlást számos esetben tapasztaltak Parkinson kóros betegeknél (Lees és Smith 1983). Amikor megvizsgálták ezen esetekben a hangingerrel kiváltott P300-at, azt találták, hogy ez a komponens abnormális: a latenciája nagyobb, az amplitúdója kisebb volt összehasonlítva a megfelelő korcsoport egészséges

tagjainak adataival, sőt a P300 néhány esetben hiányzott.

Cynomolgus majmokon MPTP kezelés után szintén az auditoros "oddball" rendszerben vizsgált P300 hiányát figyelték meg, bár 30-40 nappal a kezelés után a P300 visszatért, (Glover et al 1988) a Parkinson kórra utaló külső tünetek jelenléte ellenére. MPTP kezelés után a primer auditoros kiváltott válaszok amplitúdója és latenciája is csökkent. Sinemet kezelés (L dopa + carbidopa) csak a primer válaszok amplitúdójára volt hatással, az abnormális kognitív válaszokat nem javította (Ghilardi et al 1988).

Majmokon végzett MPTP kezelés után a vizuális primer kiváltott válaszok latenciája abnormális volt, főképpen a középső térbeli frekvenciáknál (1.5 - 2.5 cpd), hasonlóan a Parkinson kóros betegekhez. Szinte ugyanezt az elváltozást figyelték meg az MPTP-vel kezelt majmok elektroretinogramjában: az elektroretinogramot alkotó komponensek amplitúdói csökkentek, hasonlóan a Parkinson kóros betegek ERG-jához (Ghilardi et al 1988).

Az MPTP egyoldali art. carotisba történő alkalmazása új területet nyitott a Parkinson kór kutatásában. Ez a modell a nigrostriatalis rendszer egyoldali károsításán alapul, csak az MPTP-t kapott oldalon következik be a dopaminerg sejtek pusztulása bár az MPTP toxikus formája, az MPP⁺ az ellenoldalon is megjelenik szubtoxikus koncentrációban (Herkenham et al 1991). Az MPTP molekuláris hatásmechanizmusa maki majmok esetében még nem teljesen ismert. Az MPTP neurotoxikus metabolittá való alakítására monoamino-oxidáz B (MAO-B) enzimre

van szükség (Willoughby et al 1988). Az így keletkező MPP⁺ aztán a dopamin felvevő rendszeren keresztül akkumulálódik a dopaminerg neuronokban (Javitch et al 1985) ahol szabad gyökök keltésével és/vagy a mitokondriális respirációs rendszer gátlásával a sejtek halálát okozza (Nicklas et al 1987).

Az egyoldali MPTP adagolás előnye, hogy kezelés után a motoros problémákra utaló Parkinson kóros tünetek csak az ellenoldalon fejlődnek ki és az állat mesterséges táplálásra nem szorul, illetve ilyen módon az állat önmaga viselkedési, fiziológiai kontrollja lehet, hogyha a két testfelet összehasonlítjuk.

Hemiparkinson kóros majmokon egyoldali látótérkiesést figyeltek meg. Ez abban nyilvánul meg, hogy az állat a kezelésnek megfelelően csak az azonos oldalt ért ingerekre válaszol, a másik oldalt ért ingereket figyelmen kívül hagyja (Roeltgen et al 1989, Bankiewicz et al 1991). Hogy ez a féloldalasság valójában csak a látó rendszert érinti, vagy magasabb struktúrákat is (esetleg mindkettőt), jelenleg még nem tisztázott. Összegezve a korábbi és jelen kísérleti adatok azt sugallják, hogy az MPTP-vel kezelt nem emberszabású majmok megfelelő homológ állatmodellt nyújtanak a Parkinson kórt kutatók számára.

Az alábbiakban egy egyoldali art. carotisba adott MPTP-infúzióval kialakított Parkinson kóros majom viselkedését illetve a rajta végzett elektrofiziológiai vizsgálatokat írjuk le.

A korábbiakban használt cynomolgus majom, Charlie volt a kísérlet alanya. Ez a kísérlet több éves munka záróakkordja

volt, mivel az MPTP néhány olyan irreverzibilis elváltozást is kialakít, amely a továbbiakban a majom részvételét lehetetlenné teszi más kísérletekben. A sebészi beavatkozás pentobarbitál anesztézia (15 mg/kg) alkalmazásával történt. A feltárt artéria carotis belső ágába MPTP-HCL-t (0.4 mg/kg) fecskendeztünk 60 ml fiziológiás sóoldatban oldva egy infúziós pumpa segítségével. A 60 ml oldat 20 perc alatt került be az artériába.

Charlie öt napon át antibiotikum kezelést kapott, majd a műtét után egy héttel eltávolítottuk a varratokat. Közben az állatot semmiféle kísérletre nem használtuk. Az MPTP beadása után hét nappal elektrofiziológiai vizsgálatokat kezdtünk a korábban használt paraméterekkel (17-22. oldal).

A Parkinson kór egyes stádiumainak pontosabb körülírására az MPTP-vel kezelt majmon az alábbi skálát alkalmaztuk (Bodis-Wollner et al 1991):

- 0 stádium : Nincs eltérés az MPTP kezelés előtti viselkedéstől
- 0.5 stádium : Csökkent táplálékfelvétel
- 1 stádium : Csökkent gesztikuláció és ketrecen belüli aktivitás
- 1.5 stádium : Lassú és koordinálatlan mozgás
- 2 stádium : Végtagokon megjelenő merevség, mozgáshiány
Alkalmankénti remegés mozgásszegénységgel párosulva
- 3 stádium : Gyakori mozgáshiány, merevség. Ennél a stádiumnál mesterséges táplálás szükséges.
- 4 stádium : Merevség, mozgáshiány, az állat képtelen ülő helyzetben maradni, hang és fényingerekre nem válaszol

II.4.1. Eredmények

A sebészeti beavatkozás előtti kontroll kísérletekben Charlie teljesítménye egyenletes volt $96.1 \pm 4.2 \%$. A P300 latenciája 431.5 ± 31 ms, amplitúdója $46 \pm 2 \mu\text{V}$ -nak bizonyult 30 %-os target valószínűség mellett. A P70 amplitúdója $15 \pm 3 \mu\text{V}$, latenciája 66 ± 4 ms volt. Az MPTP kezelés után az állat viselkedése lényegesen megváltozott. A Parkinson kórra utaló tünetek egy, másfél nap után megfigyelhetők voltak és az első 3-4 nap során kifejezettebbekké váltak. Az állat mozgása lelassult, bizonytalaná vált, a mozgásnak kitüntetett iránya nem volt. Ez az 1.5 stádiumnak felelt meg. Az állat mindkét oldalon keltett zajra reagált. A bal és jobb oldali pupilla átmérője azonos volt, s ez később sem változott. Magatartása barátságosná vált. Táplálékot magától nem fogyasztott, csak ha mi adtuk oda a gyümölcsöt. A 3. naptól kezdve nem használta a jobb karját. Egy nappal később ugyanez a probléma jelentkezett a jobb lábán is és ehhez újabb egy nap múlva rángás és remegés társult. A műtét után hat nappal az állat rendkívül merev volt, jobb karját nem használta, jobb lábán remegést figyeltünk meg. Táplálékfelvétele normalizálódott. Ez a 2. stádiumnak felel meg.

A műtét után egy héttel Charliet kivettük a ketrecből és beleültettük a székbe. Az állat rendkívül merev volt és rögtön balra fordult. A jobb (kontralaterális) oldal felől érkező ingereket figyelmen kívül hagyta. A féloldalas testhelyzet miatt az elektrofiziológiai kísérlet elvégzése nehézségekbe ütközött. Charlie, bár nézte a képernyőt, semmit nem csinált, s a

felajánlott almalevet sem fogadta el.

16 nappal az MPTP kezelés után a Parkinson kórra utaló tünetek az ellenoldalon még jelen voltak. 60 % target valószínűség mellett befejezett egy szériát, rendkívül lassan dolgozva, hosszú szünetekkel. Teljesítménye 40 %-os volt. A regisztrátumon sem P70-et sem P300-at nem lehetett látni. Charlie képtelen volt hosszabb ideig figyelni a feladatra. A kísérletet öt alkalommal ismételtük egy hónap alatt a műtét után, de semmiféle javulást nem tapasztaltunk. 30 nappal a műtét után az ellenoldalon még mindig domináltak a Parkinson kór tünetei.

A következő alkalommal az elektrofiziológiai teszt előtt egy órával Sinemet-et (250 mg L-dopa + 25 mg carbidopa) adtunk almalében oldva az állatnak. A Parkinson kór külső tünetei fokozatosan megszűntek, Charlie egyenesen ült a székben és a jobb karját is ugyanolyan mértékben használta, mint a balt. Rendkívül izgatott volt, a pedált intenzíven nyomogatta, de a képernyőt nem mindig nézte, képtelen volt a feladatra hosszabb ideig koncentrálni. Egy 50 ingerből álló szériát (50% target valószínűség) befejezett, de ez értékelhetetlen volt. A Sinemet beadása után Charlie fokozatosan az ellenoldal felé kezdett fordulni, egyre erősebben, míg végül 180 fokkal elfordulva ült a székben. A Sinemet alkalmazását két egymás utáni kísérletben megismételtük. P70-et vagy P300-at egyik alkalommal sem láttunk. A Parkinson kór motoros tünetei a Sinemet beadása után kb egy órával eltűntek, de kb hat óra múlva ismét megjelentek.

39 nappal az MPTP infúzió után 375 mg (50 mg/kg) ALC-t adtunk Charlie-nak almalében oldva. 20 perccel az ALC beadása

után megkezdtük az elektrofiziológiai tesztet. Charlie elkezdte a feladat végrehajtását, de néhány perc után megállt, később ismét folytatta. Az állat nyugodt volt, egyenesen ült a székben és láthatóan figyelt a képernyőre. Egy 50 ingerből álló sorozatot befejezett ötven perc alatt (az MPTP beadása előtt mindez 5-8 percet vett igénybe). A teljesítménye 66 % volt. Sem P70-t, sem P300-at nem lehetett a regisztrátumon látni. Az ALC-nek nem volt hatása a Parkinson kór motoros tüneteire. Az ALC adagolását öt napon keresztül folytattuk. Az ALC adagolás harmadik napján ismét megkíséreltük az elektrofiziológiai vizsgálatot. Charlie teljesítménye 50 %-os volt, eseményfüggő potenciálok a regisztrátumon nem voltak, de az állat viselkedése sokkal barátságosabb volt. Az ALC adagolás 5. napján Charlie lassan, de befejezett egy 50 ingerből álló sorozatot. A kísérlet egész ideje alatt a képernyőre figyelt. A teljesítménye 68 % volt. P70-t nem láttunk a regisztrátumon, de 400 ms-nál egy kis pozitív hullámot figyeltünk meg kizárólag a target ingerre a Cz-Fz pontokból elvezetve (17. ábra). A reakcióidő rendkívül széles skálán, 600 és 1200 ms között mozgott.

II.4.2. Magatartási megfigyelések

Egy 30 X 40 cm-es, 1 cm mélységű tálca két oldalára 10 - 10 darab gyümölcsszeletet helyeztünk. A tálcát oly módon tartottuk az állat elé, hogy az mindkét oldalt egyenlő mértékben láthassa. Mértük azt az időtartamot, amely idő alatt az állat a gyümölcsdarabokat felveszi illetve megfigyeltük, hogy melyik oldalról hány darabot vesz el.

A Sinemet beadása előtt minden esetben először a bal oldaláról (ípszilaterális) vette el a gyümölcsdarabokat, kizárólag a bal kezét használva és viszonylag nagy (3-5 perces) szünet után kezdte meg a másik oldalon lévő gyümölcsök elfogyasztását, de ezen az oldalon mindig maradt néhány gyümölcs, amit nem vett el. Ha ezeket a darabokat átraktuk a bal oldalra, akkor rögtön megette őket.

Másfél órával a Sinemet beadása után megismételtük a kísérletet. Ekkor Charlie mindkét kezét használta a ketrecben folytatott tevékenységére, de a gyümölcsöket mindig a bal kezével vette el, a jobb kezével csak segítette a gyümölcs megfogását. A Sinemet beadása után is volt különbség a két oldalról választott gyümölcsök gyakorisága között, a bal oldalt a választás kezdetén előnyben részesítette, de miután megette a bal oldalon található gyümölcsöket rögtön a jobb oldaliak elfogyasztásához kezdett. Több alkalommal a bal oldal fogyasztása közben a másik oldalról is választott néhány darabot.



III. AZ EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

Az elmúlt néhány év során egyre inkább megújult az érdeklődés olyan állatkísérletek iránt, amelyekkel a kognitív funkciók egyes betegségeken történő elváltozásai modellezhetők. Ez az érdeklődés részben azoknak a kutatásoknak köszönhető, amelyek a neurodegeneratív megbetegedések, így pl. az Alzheimer vagy Parkinson kór patofiziológiai hátterét próbálják pontosabban felderíteni. Az eseményfüggő potenciálok vizsgálata éppen abban segíthet, hogy alkalmazásukkal humán és nem humán agyi folyamatok összehasonlíthatókká válnak, így az egyes betegségek állatmodelljei közvetlenül értékelhetők.

Eredményeink azt mutatják, hogy majomban két, csak orientációjukban különböző csíkokból álló mintázat, "oddball" paradigmát alkalmazva, P300-at vált ki. Ez a potenciál csak egy bizonyos tréning időszak után fejlődött ki, csak a target ingerre jelentkezett és a szemmozgással semmiféle kapcsolatot nem mutatott. A feladat végrehajtásában az állatnak aktívan kellett közreműködnie a pedál felengedésével vagy lenyomva tartásával.

Egyetértésben korábbi P300 vizsgálatával kapcsolatos munkákkal, amelyek hang- (Glover et al 1986, Pineda et al 1988) és fény- (Glover et al 1991) ingereket egyaránt használtak, megfigyeltük, hogy a P300 amplitúdója fordítottan függött a target inger valószínűségének változásától. A P300 latenciája 400 ms körüli volt, amely összehasonlítva a korábbi tanulmányokban hangingerre kapott 300 ms-os válasszal soknak tűnik, de egybevág a fényingerrel kiváltott, majomban (Glover et

al 1991) és emberben (Pang et al 1990) megfigyelt P300 paramétereivel.

A P300 alakját tekintve, az egy 400 ms körüli pozitív hullámból állt, ellentétben azokkal a szerzőkkel, akik két csúcsot regisztráltak (240 és 380 ms-nál, Pineda et al 1988), de egyetértésben néhány korábbi tanulmánnyal (Glover et al 1986, 1991; Arthur és Starr 1984).

A P300-nak az anatómiája és a farmakológiája is kevésbé ismert. Dolgozatunkban különböző agonisták és antagonisták alkalmazásával arra is kerestük a választ, hogy hogy mely neurotranszmitter rendszerek, folyamatok játszhatnak szerepet a P300 létrehozásában és módosításában.

A kolinerg rendszerről már több, mint 20 éve ismert, hogy részt vesz a memória és a tanulás folyamataiban (Longo 1966, Drachman et al 1974, 1977, Bartus 1976, 1978.). A kolinerg rendszer károsodása általában jelentős kognitív károsodással is jár, mint azt Alzheimer és Parkinson kór esetében megfigyelték (Dubois et al 1983, 1987, Perry et al 1985, Candy 1986), és ilyenkor a P300 is kórosan elváltozhat (Bodis-Wollner 1988, Ito et al 1987, Stanzione et al 1991). Valószínűnek tűnt az a feltevés, hogy a P300 és a kolinerg rendszer kapcsolatban állnak. Ezért egy kolinerg neuroaktív anyagot (ALC-t) majd egy antikolinerg anyagot (szkopolamint) adtunk az állatnak a fenti hipotézis vizsgálatára.

Eredményeink azt mutatják, hogy az ALC-nek jelentős hatása van a majom vizuális "oddball" paradigmával kiváltott P300-ára, míg a primer vizuális válaszokra gyakorolt hatása nem szignifikáns. Az ALC akut hatása a P300 latenciájának

csökkentése volt. A P300 amplitúdója bifázisosan változott, egy kezdeti növekedés után az amplitúdó csökkent. Ez az eredmény némileg különbözik azoktól, amelyeket egy korábbi kísérletsorozatban kaptak, passzív paradigma felhasználásával (Onofrj et al 1987).

Az ALC hatása a P300 amplitúdójára valószínűleg azzal magyarázható, hogy ALC alkalmazás után a feladat mentálisan könnyebbé vált az állat számára. Emberek esetében is ismert, hogy a P300 amplitúdójának és latenciájának növekedése egy "oddball" rendszerben a feladat nehézségi fokának emelkedését jelzi (Squires et al 1973, 1977). A megnövekedett latencia a nehezebb feladat megoldásához szükséges időtartam növekedését tükrözi, míg az amplitúdónövekedés a feladat újdonságát, megváltozását fejezi ki. Így a 15-20 perc után megfigyelt P300 amplitúdó és latencia csökkenés azt jelezheti, hogy az ALC a feladatot automatikusabbá, kevésbé elgondolkoztatóvá tette. Elképzelhető, hogy az ALC ily módon az aktív vizuális memóriefolyamatokra hat (Friedman és Goldman Rakic 1989, Funahashi 1989).

Már a bevezetőben említettük, hogy az ALC-nek rendkívül széleskörű hatása van a központi idegrendszerre (Bodis-Wollner 1990, review). Idős patkányoknál krónikus ALC adagolás javította a diszkriminációs és térbeli tanulási folyamatokat, növelte az élettartamot és javította a hosszú távú memóriát anélkül, hogy bármilyen hatással lett volna a motoros rendszerre (Ghirardi et al 1989, Markowska et al 1990). Dementiában szenvedő betegekben az ALC javított a betegség egyes funkcionális és kognitív jellemzőin (Cucinotta et al 1988), így az ALC-nek potenciális

szerepe lehet egyes demenciával járó megbetegedések gyógyításában (Spagnoli et al 1992). Az ALC hatásmechanizmusa pontosan még nem tisztázott. Az bizonyított, hogy a hippokampuszban és a sztriátumban egy Ca^{++} - függő tetrodotoxin érzékeny mechanizmus segítségével növeli az acetilkolin felszabadulását (Imperato et al 1989). Hatását valószínűleg nem csak a kolinerg rendszerre fejti ki. Megfigyelték, hogy öt napon át ismételt intraperitoneális beadása után egerek substantia nigrájában a GABA szintje emelkedett (Fariello et al 1988). A striatális dopamin tartalom is növekedett hosszabb idejű ALC adagolás után egerekben (Sershen et al 1991).

A kolinerg neurotranszmisszió szerepének további bizonyítására egy kolinerg antagonistát, szkopolamint adtunk Charlienak. A szkopolamin képes átmenni a vér-agy gáton és kialakítja az ún. szkopolamin demencia-át, amely a memória zavaraival és a kognitív funkciók károsodásával jellemezhető (Drachman 1974).

Szkopolamin hatására a hangingerrel kiváltott P300 amplitúdója humán kísérletekben csökkent (Hammond et al 1987, Meador et al 1987). A vizuális ingerrel kiváltott P300 latenciája alacsony dózisú ($5.7 \mu\text{g}/\text{kg}$) szkopolamin hatására növekedett (Rugg 1989). Egy speciális vizuális feladat felhasználásával (stimulus evaluation/response selection task) szintén a P300 latenciájának szignifikáns növekedését figyelték meg szkopolamin hatására (Callaway et al 1985, 1991). Ezekben a kísérletekben a szkopolaminnak nem volt hatása a kísérleti alanyok teljesítményére. Mi azt találtuk, hogy a korábbi kísérletekkel összehasonlítható dózisú ($0.02-0.01 \text{ mg}/\text{kg}$)



szkopolaminnak konstans és szignifikáns hatása volt nemcsak az elektrofiziológiai válaszokra de az állat viselkedésére és teljesítményére is. Míg az állat izgatottá, arrogánssá vált és a teljesítménye csökkent, a P300 latenciája növekedett, amplitúdója csökkent. Az alacsonyabb dózisnak (0.005 mg/kg) gyenge hatása volt az állat teljesítményére, de a P300 latenciájára gyakorolt hatása öt kísérletből háromban hasonló volt.

Amikor a szkopolamint az ALC-vel együtt alkalmaztuk, a P300 igen komplex módon változott: a latenciája nőtt, mintha csak a szkopolamin hatása érvényesülne, úgyszintén az amplitúdó, mintha csak az ALC hatása érvényesülne. Ezen eredmények alapján úgy tűnik, mintha a szkopolamin részlegesen közömbösítené az ALC P300-ra gyakorolt hatását. A P300 amplitúdója és latenciája között fellépő disszociációt jelenleg megmagyarázni nem tudjuk, további kísérletekre van szükség, amelyek az alkalmazott drogok molekuláris hatásmechanizmusát és a P300-zal való kapcsolatát tisztázzák.

A szkopolaminnak nem volt szignifikáns hatása a primer válaszok pozitív komponensére (P70), mint ahogy azt korábban vártuk. 30 perccel a szkopolamin beadása után a P70 amplitúdója csökkent, de ez a változás nem volt jelentős. Ezek az eredmények hasonlóak azokhoz, amelyeket humán vizsgálatokban tapasztaltak. 0.6 mg szkopolaminnak s.c. adva nem volt szignifikáns hatása a mintázattal kiváltott primer vizuális válaszokra (Bajalan et al 1986, Sloan et al 1992). Szintén nem figyeltek meg változást 0.4 mg szkopolamin i. m. alkalmazása során. Ugyanerre a dózusra azonban nőtt a villanófénnyel kiváltott primer pozitív válasz

amplitúdója (Daniels 1992). 0.5-0.6 mg szkopolamin lassította a villanófénnyel kiváltott primer válasz késői komponenseit (Bajalan et al 1986, Sannita et al 1987). Szkopolamin hatása alatt a szinuszoidális mintázattal és villanófénnyel kiváltott primer vizuális válaszok különbségei hasonlóak azokhoz, amelyeket Alzheimer kórbán szenvedő betegeknél lehet találni (Bajalan et al 1986). A jelenség magyarázata valószínűleg abban rejlik, hogy a villanófény, amely sokkal erősebb inger, mint a mintázat, aktiválja a kolinerg természetű nem specifikus extracerebrális felszálló pályákat is, így ezekre a szkopolamin, mint antikolinerg anyag gátlást gyakorol. A szinuszoidális mintázat gyengébb inger (hosszabb időtartama miatt habituálódhat is), valószínűleg nem kolinerg természetű (GABAerg, glutaminerg) pályákat aktivál, így ezzel az ingerrel kiváltott primer válaszok sem szkopolamin hatása alatt, sem Alzheimer kóros betegekben nem változnak.

Eredményeink alapján azt mondhatjuk, hogy a szkopolamin hatása alatt a vizuális ingerrel kiváltott P300 latenciája és az állat viselkedése parallel módon változott. Alacsony dózisu szkopolamin így alkalmas a vizuális kogníció vizsgálatára.

Kísérleteink a kolinerg rendszer meghatározó és igen fontos szerepét bizonyítják a kognitív folyamatokban, de ez a szerep valószínűleg nem kizárólagos. Ezért a kolinerg rendszerre ható szerek mellett olyan anyagokat is vizsgáltunk, amelyek a katekolaminerg rendszer és ezen belül is a dopamin működését befolyásolják. A dopamin lehetséges szerepét a kognitív folyamatokban több dolog támasztja alá. A Parkinson kórbán szenvedő betegeknél gyakoriak a kognitív problémák (Dubois et al

1983, 1987, Lees and Smith 1983) és mivel a betegséget a nigrostriatális rendszer dopaminerg sejtjeinek pusztulása jellemzi, önkéntelenül is párhuzamot lehet vonni a dopaminerg neurotranszmisszió csökkenése és a kognitív leépülés között. Másrészt MPTP-vel kezelt majmoknál a dopamin szintje az agy több területén kórosan csökkent (putamen, nucl. caudatus, substantia nigra; Burns et al 1983). Ezeknél a majmoknál a P300 az MPTP beadása után eltűnt (Glover et al 1988). Már korábban említettük, hogy egyes kutatók a Parkinson kórban fellelhető kognitív hanyatlást a striatumban (nucl. caudatus, putamen) és a frontális asszociációs kéregben bekövetkező dopaminerg sejtpusztulással hozzák összefüggésbe (Taylor et al 1986), míg mások a kolinerg felszálló rendszer károsodásával (Dubois et al 1990). Parkinson kór esetében nem minden esetben tapasztalható kognitív hanyatlás azonban a dementiában nem szenvedőknél is kimutatható a nigrostriatális dopaminerg sejtek pusztulása mellett a szubkortikális kolinerg pályarendszer neuronjainak részleges károsodása illetve a kéregben az acetilkolin-transzferáz aktivitásának szignifikáns csökkenése (Dubois et al 1983, Perry et al 1985). Azoknál a betegeknek, ahol intellektuális hanyatlás nem tapasztalható, valószínűleg a megmaradt kolinerg neuronok hiperaktivitással kompenzálják a gyengült kolinerg működést. Ezen hipotézis értelmében a kognitív hanyatlás akkor kezdődik, amikor a kolinerg neurotranszmisszió olyan nagymértékben csökken, hogy a kiesett működés már nem kompenzálható (Agid et al 1984). A fenti adatok értelmében a Parkinson kórban fellelhető kognitív hanyatlás a nigrostriatális pályarendszer dopamin szintjének csökkenésével

egyértelműen nem magyarázható. Valószínűleg a kolinerg és dopaminerg neurotranszmisszió együttes csökkenése alakítja ki ezeknél a betegeknél a dementiát.

A dopaminerg neurotranszmisszió szerepének vizsgálatához kísérleteink során először egy D2 antagonistát, sulpiridet, majd MPTP-t adtunk az állatnak.

Nagyobb dózisú sulpiride adagolás után a P300 latenciája és amplitúdója egyaránt növekedett, míg szignifikáns hatást a primer válaszokra nem figyeltünk meg. Sulpiride hatása alatt az állat teljesítménye nem változott. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a feladat végrehajtásához szükséges időtartam növekedett és ez hatással volt a P300 latenciájára. Korábbi adatok szerint a P300 latenciája és a feladat megoldásához szükséges idő kapcsolatban állnak egymással (Kutas et al 1977). Eredményeink arra is utalnak, hogy az eseményfüggő potenciálok valószínűleg sokkal érzékenyebb indikátorai a kognitív feladatok nehézségi fokának, mint az időhöz nem köthető magatartás és a teljesítménymérések.

A D2 receptorok még viszonylag új tagjai a katekolaminerg receptorcsaládnak, hiszen csak három éve sikerült először klónozni őket. Szerkezetükre és működésükre nézve nagyon hasonlítanak az M2 muszkarin és α_2 adrenerg receptorokhoz, amelyek gátló működésekben vesznek részt (Vallar and Meldolesi 1989). Mennyiségük és elhelyezkedésük az agy különböző területein nem teljesen tisztázott ezért pontos szerepük az egyes neurofiziológiai folyamatokban még bizonyításra vár.

Amióta az első közlemények megjelentek az MPTP neurotoxicitásáról és Parkinson kórra jellemző tünetek

kialakításáról (Burns et al 1983, Lees et al 1983), jelentős eredmények születtek az MPTP hatásmechanizmusára nézve. A kutatások főképpen majmok felhasználásával történnek és főként a motoros (Burns et al 1983), neuropatológiai (Forno et al 1988), elektrofiziológiai (Filion et al 1988) vagy farmakológiai (Brucke et al 1986) problémák köré csoportosulnak. Viszonylag kevés azon tanulmányok száma, amelyek nem a Parkinson kór illetve az MPTP-vel kialakított Parkinson kór legjellemzőbb tünetével, a motoros válaszok deficitjével foglalkoznak, hanem a sokszor fellépő kognitív problémákra koncentrálnak. Számos tanulmányban leírják ugyan az állat viselkedését MPTP injekció után (Burns et al 1983, Nomoto et al 1985) vagy mérik valamely tevékenység elvégzésére irányuló mozgás időtartamát (Doudet et al 1985), de ezek nem adnak teljes képet a szellemi változásokról és nem hasonlíthatók össze a Parkinson kórban szenvedő betegek kognitív zavaraiival. Azonban az a tény, hogy majmok esetében is lehetőség van az eseményfüggő potenciálok objektív vizsgálatára, továbbá mesterségesen, MPTP beadásával elő lehet állítani a Parkinson kór közel tökéletes állatmodelljét, nagy távlatokat nyit a Parkinson kórban lezajló szenzoros és kognitív folyamatok változásainak hosszútávú tanulmányozására.

MPTP intrakarotikus adása után a fényinger "oddball" rendszerben nem váltott ki P300-at. Ez igazodik a korábbi megfigyelésekhez, amelyek MPTP adagolás után a hangingerrel kiváltott P300 megszűnését írták le (Glover et al 1988) és azokhoz a tanulmányokhoz, amelyekben MPTP kezelést követően kognitív hanyatlás lépett fel majmokban (Schneider és Kovelowski

1990, 1992). Eredményeink azonban nem egyértelműek, mert az állat magatartásában is olyan mélyreható változások következtek be, amelyek következtében a feladatot jól végrehajtani nem tudta: az első időben a figyelem és érdeklődés teljes hiányát figyeltük meg. Ehhez az ellenoldal (jobb) elhanyagolása társult. Ez némely esetben Parkinson kóros betegeknél is megfigyelhető, főleg akiknél a tünetek a test bal oldalára lokalizáltak (Barber et al 1985). Egyoldali MPTP kezelésre az egyik térfél vizuális elhanyagolását (visual neglect) észleltük, összhangban több szerzővel (Bankiewicz et al 1990, Brooks et al 1987, Roeltgen et al 1989). Ezt jól bizonyítják azok a kísérletek, amelyekben az állatnak a tálca két oldalán lévő gyümölcsökből kellett választania. Sinemet hatására a Parkinson kór motoros tünetei visszafejlődtek, de lényeges javulás a kognitív hanyatlásban nem volt. A gyógyszer hatására a csak bal oldalát (ipszilaterális) figyelembe vevő hemiparkinson kóros majom fokozatosan csak az ellenoldal felé kezdett fordulni. Ez valószínűleg azzal magyarázható, hogy a dopamin a károsodott oldalon javított az MPTP hatására bekövetkező motoros deficiten, de a másik oldalon, amelyet MPTP valószínűleg kevésbé érintett, túlsúlyba került. Egyoldali MPTP kezelés hatására ugyanis megfigyelték a dopamin mennyiségének nagymértékű csökkenését az ipszilaterális nigrosztriális rendszerben, ugyanakkor a kérgi területeken szignifikáns különbség nem volt (Bankiewicz et al 1991).

ALC hatására az állat viselkedésében nagymértékű javulás következett be, ugyanakkor a Parkinson kór motoros tünetei nem javultak. Érdeklődése a feladat végrehajtása felé irányult, teljesítménye elérte azt a szintet, amelyen normális állatban

P300 már megjelenik. Ugyanakkor vizuális "oddball" paradigmával P300-at nem tudtunk kiváltani, csak egy P300-szerű kis pozitív hullámot figyeltünk meg. Hogy valójában ez az ALC kezelés hatására jött létre, vagy bizonyos fokú gyógyulási folyamat eredménye, amelyet például passzív "oddball" rendszerben hangingerrel kiváltott P300 esetében MPTP-vel kezelt majmokon megfigyeltek (Glover et al 1988), kérdéses. Az ALC több mint öt napon keresztül történő alkalmazása valószínűleg egyértelműbbé tette volna a hatást, de erre technikai okokból nem volt lehetőségünk. Ugyanakkor bizonyított, hogy az ALC előkezelés az MPTP toxikus hatását képes kivédeni (Bodis-Wollner et al 1991).

A primer válaszok MPTP kezelés után szintén eltűntek és ezeknél javulást később sem tapasztaltunk. Ennek az egyik oka valószínűleg az volt, hogy középső térbeli frekvenciáknál (2.5-3.5 cpd) a vizuális válaszok jobban károsodnak, mint az ezeknél kisebb vagy nagyobb térbeli frekvenciákon (Ghilardi et al 1988, Bodis-Wollner et al 1991). Ezért lehetséges az, hogy a 2.5 cpd alkalmazása miatt nem kaptunk kognitív választ sem, hiszen ezen térbeli frekvenciánál a primer bemenet már eleve gyengült. Jelenleg erre a kérdésre válaszolni kísérletesen nem tudunk, mivel Charlie csak erre az egy térbeli frekvenciára volt kondicionálva.

Az ALC és Sinemet hatását külön-külön figyelembe véve a két drog együttes alkalmazása valószínűleg pozitív eredménnyel járt volna a Parkinson kór motoros és kognitív tüneteire. A kísérlet elvégzésére nem volt lehetőségünk.

Az endogén eseményfüggő potenciálok kutatásában még mindig tisztázatlan, hogy mely neurotranszmitter vagy neuromodulátor

rendszerek vesznek részt a kognitív válaszok, így a P300 generálásában. Kísérletsorozatainkban mi is erre a kérdésre kerestük a választ. Csak egy majom tanulmányozására volt lehetőségünk, de ennek az egy majomnak a vizsgálatával igyekeztünk több oldalról is megközelíteni a felmerült kérdéseket. Véleményünk szerint a P300 keletkezése nem köthető egy neurotranszmitter folyamathoz, ezek a hullámok valószínűleg több neurotranszmitter rendszer, így a kolinerg, katekolaminerg, noradrenerg stb. rendszerek együttes, organizált működése révén jönnek létre. Ennek megfelelően anatómiailag az agynak több olyan területe van, amely részt vehet a P300 képzésében. Már a hetvenes évek elejétől ismert, hogy a striatalis ACh szint DA agonisták hatására nő, antagonisták hatására csökken. Ezek a hatások a D2 receptorok működése révén valósulnak meg, amelyek a kolinerg interneuronokon helyezkednek el (Enz et al 1990). A kolinerg interneuronok azonban a striatalis interneuronoknak csak néhány %-át teszik ki, emellett még a GABAerg és somatostatinergerg interneuronok száma is jelentős (Stoof et al 1992, commentary). A nucl. caudatus és a putamen (és a frontális kéreg) ugyanakkor feltételezhetően szerepet játszanak a kognitív folyamatokban (Aleksander et al 1986). A fentiek alapján és figyelembe véve a striatum szerepét a mentális megbetegedésekben valószínűnek tűnik, hogy ez a szubkortikális struktúra részt vesz az EFP-ok képzésében.

A P300 képzésében jelentős szerepet játszhat a limbikus rendszer is. Mind a dopaminerg, mind a kolinerg rendszer szerepe bizonyított a hippokampális működésben (Bischoff 1986) és emellett állat és humánkísérletek is igazolták a P300

feltételezhető limbikus rendszeri eredetét (Halgren et al 1980, Okada et al 1983). A hippokampusz már régóta ismert az emocionális és motivációs folyamatokban játszott szerepéről is (Bischoff 1986). A hippokampusz gyrus dentatusában a noradrenerg neurotranszmisszió is képviselteti magát, ez a terület átfedést mutat a katekolaminerg átvivőanyagokat nézve. Az amygdala és a hippokampusz a striatum ventrális részével anatómiailag kapcsolatban állnak, így az együttes működés a kognitív folyamatokban nem tekinthető kizártnak.

A P300 klinikumban történő alkalmazásának gátat szab, hogy a vizsgálatában tapasztalható esetleges eltéréseknek a molekuláris neurológiai háttere kevésbé ismert. A P300 molekuláris alapjainak feltárása az alap kutatásban utat nyit majd a P300 széleskörű elterjedésének a klinikumban, mint fontos diagnosztikai jelentőségű vizsgálatnak. A P300 kutatás egyik problémája, hogy azonosítása a különböző modalitású és nehézségi fokú feladatok alkalmazásával egyre nehezebb. A probléma megoldását a P300 neuronális jellemzőinek feltárása jelentené. Habár az elmúlt két évtized alatt a P300-ról hihetetlen mennyiségű tanulmány látott napvilágot, az alapkérdésre, hogy mi is valójában a P300, hol és hogyan generálódik, még nem született válasz. A jövő P300 kutatóinak ígéretes lehetőségei vannak, hogy a neuronális alapmechanizmusok feltárásával a P300 rejtélyét megoldják.

IV. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteink során fekete-fehér szinuszoidális mintázattal "oddball" paradigmát alkalmazva sikerült egy *Macaca fascicularis* majomban P300-at kiváltani. A komponens latenciája és amplitúdója a target inger valószínűségének függvényében változott és független volt a motoros választól.

Az ALC a P300 latenciáját akut és krónikus kísérletekben is csökkentette, míg a szkopolamin a latenciát növelte és az amplitúdót csökkentette és az állat viselkedése is döntően megváltozott. Az ALC és szkopolamin együttes alkalmazása során a P300 komplex módon változott, a latencia a szkopolamin, az amplitúdó inkább az ALC hatását követte.

Nagyobb dózisú sulpiride hatására a P300 latenciája és amplitúdója is növekedett, habár az állat teljesítménye és viselkedése nem változott.

Az MPTP intrakarotikus beadása után az állaton kialakultak a Parkinson kór tünetei és a P300 eltűnt. L-DOPA adagolása csak a motoros tüneteket javította, kognitív változás nem következett be. ALC hatására viszont kognitív javulást figyelhettünk meg, bár ez a spontán felgyógyulás folyamatát is jelezhetette.

Kísérleteink alapján több neurotranszmitter rendszer részvételét tételezhetjük fel a P300 keletkezésében és ezek között a kolinerg és katekolaminerg rendszerek döntő szerepet játszhatnak. A P300 neuronális mechanizmusának feltárásához a jövőben még olyan kísérletekre van szükség, amely más neurotranszmitter és neuromodulátor rendszerek szerepét is tisztázzák.

V. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőimnek, Dr. Toldi Józsefnek és Dr. Bódis-Wollner Ivánnak, akiknek szakmai útmutatása, a kísérletek kivitelezésében nyújtott segítsége nélkülözhetetlen volt a számomra. Külön szeretném megköszönni Bódis-Wollner professzor úrnak, hogy lehetővé tette, hogy több, mint egy évig a laboratóriumában végezzek kutatómunkát és megírjam ezt a dolgozatot.

Köszönöm Dr. Fehér Ottó egyetemi tanárnak, hogy értékes szakmai tanácsaival a dolgozat megírásában segített és Dr. Erdélyi Lajos tanszékvezető egyetemi docensnek, hogy az Egyesült Államokba való kiutazásomat támogatta.

Itt szeretném megköszönni a Mount Sinai Medical Center V.E.P. laboratóriumában dolgozóknak - Dr. Iván Bódis Wollnernek, Dr. Julie Brannannek, Dr. Michele Tagliatinak, Lee Mylinnak, Caroline Leakenek, Olie Bódis-Wollnernek - a sok türelmet, bátorítást, kedvességet és a jó munkahelyi légkört, amivel munkámat elősegítették.

Köszönöm az Összehasonlító Élettani Tanszék minden dolgozójának, külön Kis Zsoltnak a dolgozat technikai kivitelezésében nyújtott segítségét.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni férjem bátorítását és a dolgozat megírásában nyújtott szakmai és technikai segítségét.

Tanulmányutamat a Soros Alapítvány, a Magyar Tudományért Alapítvány, a Magyar Tudományos Akadémia TMB bizottsága és a Sigma-Tau gyógyszergyár (Olaszország) támogatta. Köszönöm segítségüket.

VI. TÁBLÁZATOK

I. TÁBLÁZAT

idő (min)	HIT (ms)	SD
pre ALC	633	58
10	631	68
20	642	68
30	626	38
40	628	49

A táblázat egy akut kísérletben a pedál felengedésének átlagos időtartamát mutatja ms-ban. Az adatok azt mutatják, hogy ALC hatására nem változott a reakcióidő.

II. TÁBLÁZAT

P70

	pre-LAC	post-LAC
latencia	74.2 ± 1.8	75.6 ± 8.1
amplitúdó	20.7 ± 4.6	24.2 ± 6.8

P300

	pre-LAC	post-LAC
latencia	432.0 ± 15.0	397.8 ± 15.5*
amplitúdó	32.4 ± 2.1	34.3 ± 4.2

* $p < 0.05$, ANOVA

50 mg/kg ALC akut hatása a primer és a kognitív válaszokra. Minden érték átlagot jelöl (uV és ms) az ALC beadás előtt és a hatás maximumában (öt kísérlet). Szignifikáns hatást csak a P300 latenciájánál tapasztaltunk.



III. TÁBLÁZAT

Napok	Latencia	Amplitúdó
Predrug -	430.00 ± 15.0	32.4 ± 2.1
2.	413.75 ± 23.4	33.9 ± 3.1
3.	397.10 ± 12.5*	32.4 ± 3.0
7.	408.60 ± 22.0	38.5 ± 3.8
9.	407.00 ± 16.8	35.0 ± 3.7
15.	405.00 ± 28.7	41.1 ± 5.6*
17.	396.00 ± 16.9*	31.5 ± 4.4
24. -	423.00 ± 15.6	32.5 ± 4.7
29.	399.00 ± 26.7	34.1 ± 5.0
31.	393.30 ± 16.0*	37.0 ± 4.7
40. -	430.00 ± 8.2	33.3 ± 1.3

- Ezekon a napokon nem volt ALC beadás

* ANOVA ($p < 0.05$).

Az ALC krónikus hatása a primer és kognitív válaszokra. A táblázat a P300 átlagolt latencia és amplitúdó értékeit mutatja. Ha az ALC alkalmazása akár néhány napra is szünetelt, a P300 latenciája növekedett.

IV. TÁBLÁZAT

P300

Idő	Szkopolamin				Szkopolamin+ALC			
	L	SD	A	SD	L	SD	A	SD
Predrug	434	10.0	32.3	2.8	434	12.0	34.6	3.5
15	435	14.7	39.0	5.9				.
20					432	12.0	40.0	10.0
24	447	5.8	33.0	1.0				.
25					466	18.0	44.0	10.0
30	480*	14.2	32.8	7.8	474	27.0	40.5	9.0
35					473	40.0	43.0*	4.1
40	462	17.5	35.5	2.5	477*	28.0	44.0*	3.8
46	450	20.0	39.0*	1.0	475*	27.0	45.0	5.6
53	470	29.0	41.7	2.4				.
55					454	15.0	38.0	6.4

P70

	Szkopolamin				Szkopolamin+ALC			
	L	SD	A	SD	L	SD	A	SD
Predrug	74.2	1.8	18.6	4.6	74.2	1.8	18.8	4.6
15	66.0	4.0	18.5	1.5				.
20					77.0	0.5	20.0	0.2
24	74.7	3.3	19.7	3.8				.
25					78.0	1.4	21.0	2.8
30	72.0	7.1	14.0	5.4	72.8	5.1	20.3	5.4
35					73.0	7.9	20.0	5.7
40	73.5	3.5	18.0	1.0	71.8	5.8	16.0	3.7
46	72.3	3.3	16.3	1.0	75.3	3.0	15.9	2.8
53	74.5	3.3	15.7	3.3				.
55					76.5	1.8	18.0	2.8

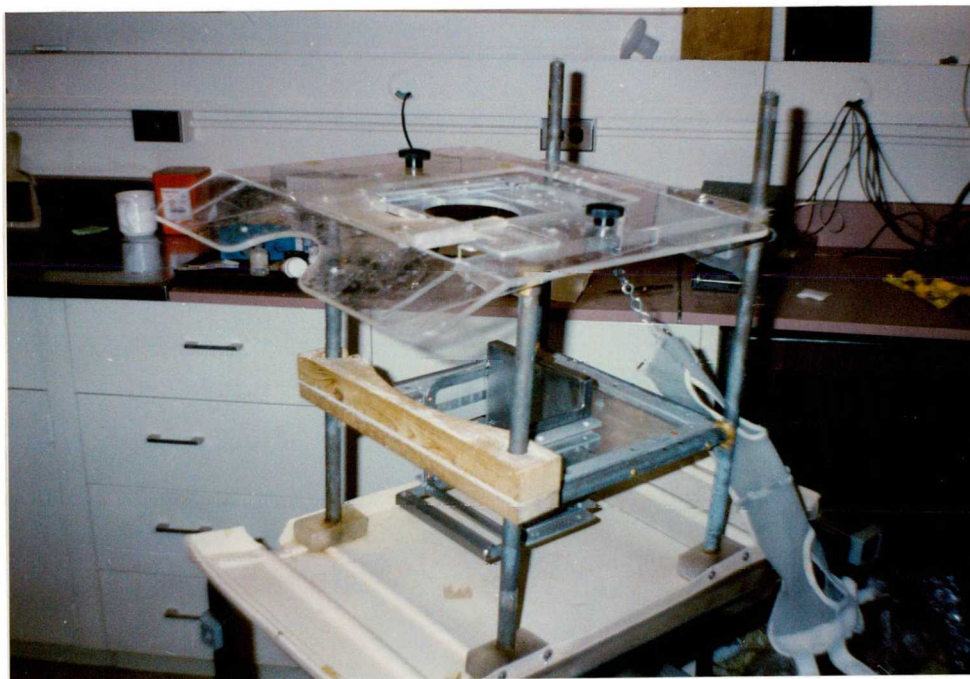
A szkopolamin és a szkopolamin + ALC akut hatása a primer és a kognitív válaszokra. A táblázat az átlagolt latencia (ms) és amplitúdó (μV) értékeket mutatja az anyagok beadása előtt és után. A csillagok a szignifikáns változást jelzik ($p < 0.05$).

V. TÁBLÁZAT

	P70				P300			
	L	SD	A	SD	L	SD	A	SD
Predrug	67.8	3.4	17.4	3.3	426	17.3	36.8	1.5
10 min	74.0	4.0	17.5	4.0	440	20.0	45.0	4.2
15 min	70.0	2.0	15.3	2.1	450	21.6	45.3	2.4
21 min	74.0	4.0	13.3	3.4	475	25.0	43.5	11.0
27 min	70.0	2.0	17.3	3.3	480*	16.3	50.0*	1.0
35 min	65.0	1.0	17.5	0.5	467	17.0	47.7	7.1

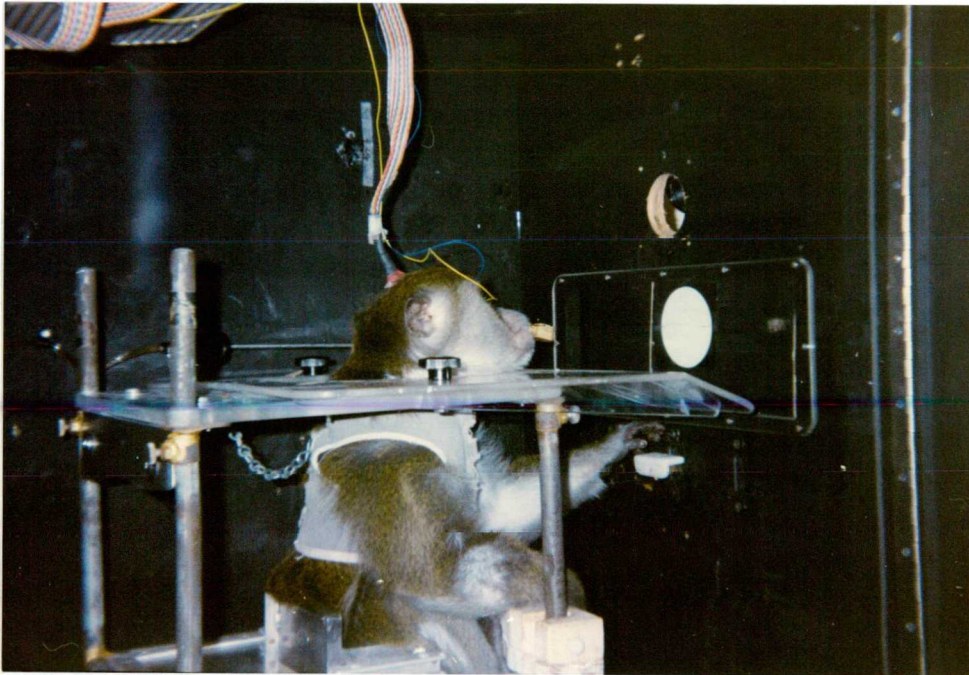
A sulpiride akut hatása a primer és kognitív válaszokra (latencia ms, amplitúdó μV). A csillagok szignifikáns változást mutatnak ($p < 0.05$).

VII. ÁBRÁK



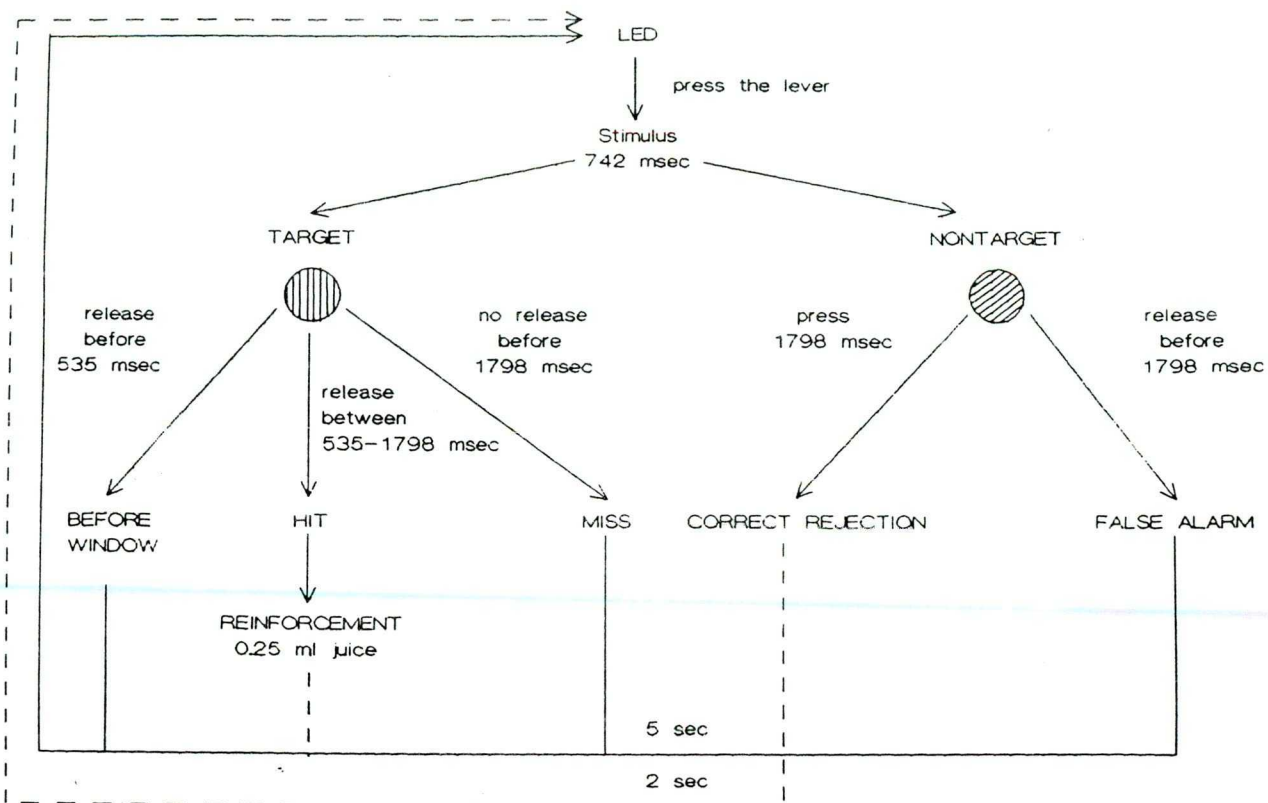
1. ábra

A primate chair, amelyben Charlie a kísérlet alatt tartózkodott. A műanyag gallér korlátozta a majom vertikális karmozgásait, míg a székhez rögzített mellény a nagymértékű oldalirányú elfordulást akadályozta.



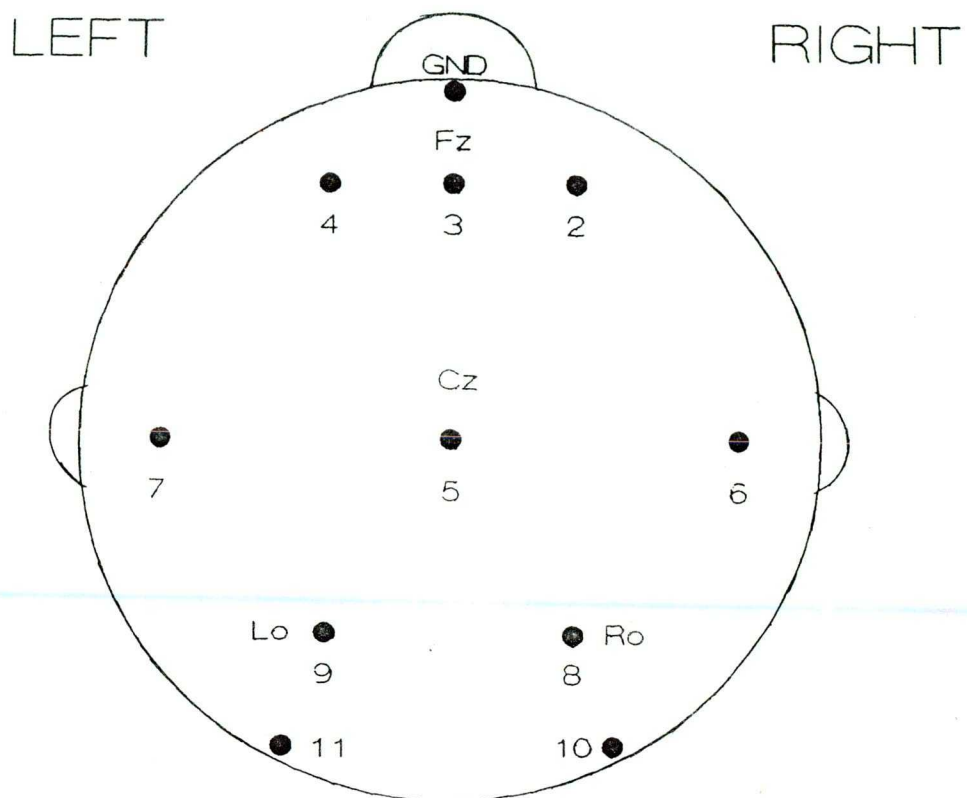
2. ábra

Charlie a kísérleti dobozban. Az állat szájánál végződött a fém adagoló, amelyen jutalomként gyümölcslevet kapott (HIT). A kísérleteket láthatóan jó hangulatban, nagy koncentrációval végezte.



3. ábra

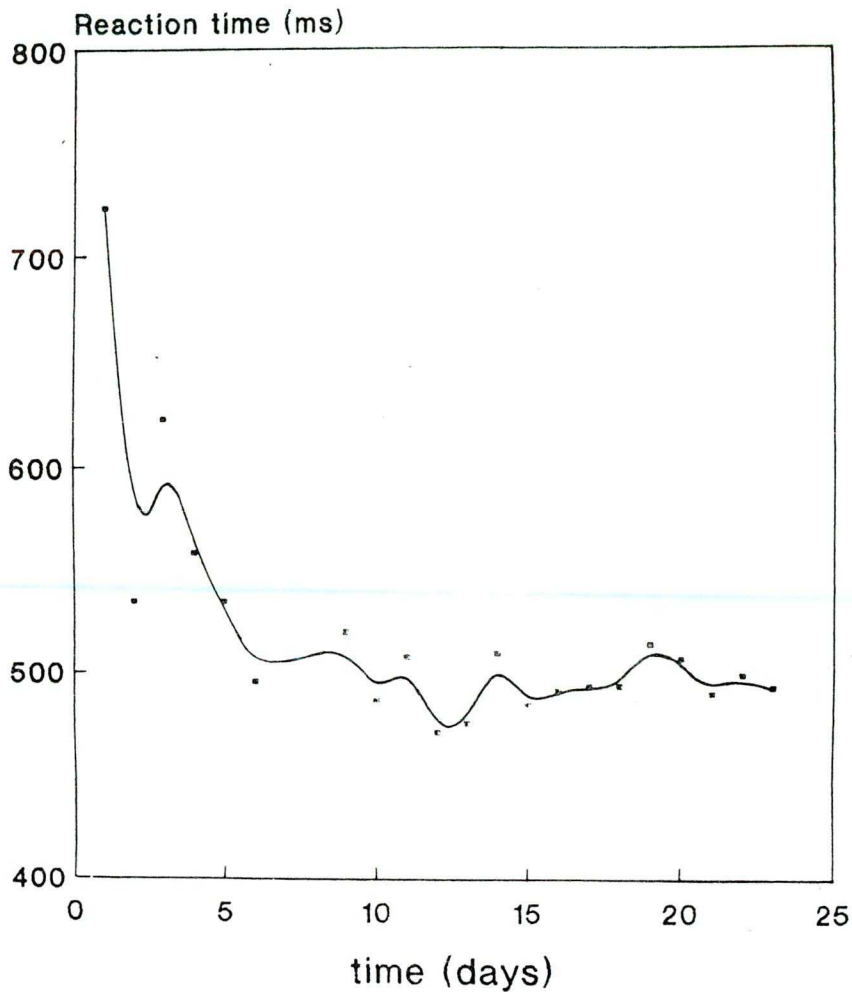
A kísérletben alkalmazott vizuális diszkriminációs paradigma vázolata. Bővebb magyarázatot lásd a szövegben.



4. ábra

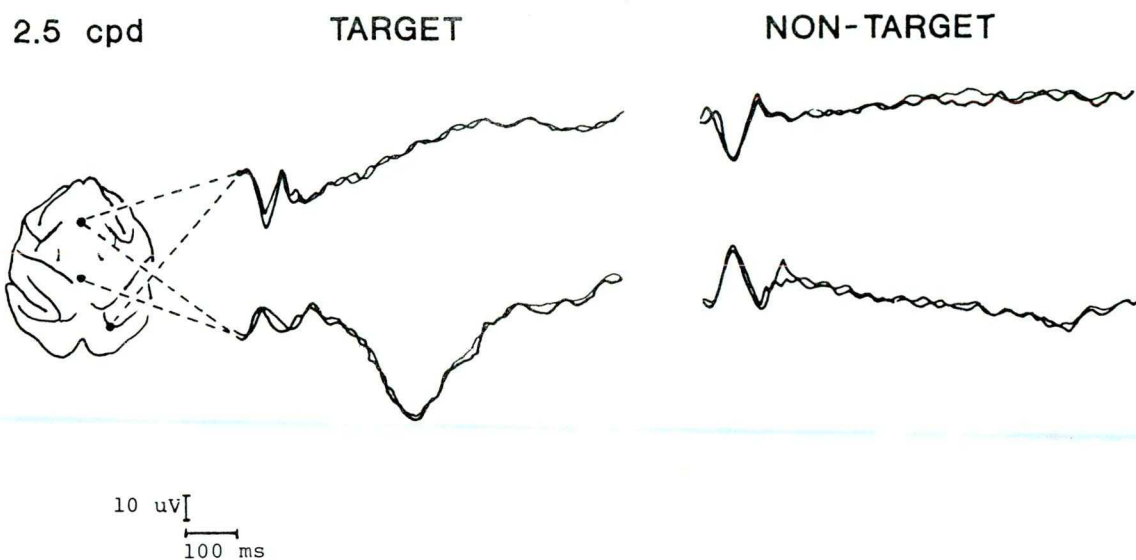
A dura felszínére beültetett elektródák elhelyezkedése. A primer válaszok elvezetése az Ro - Lo pontokból, míg a P300 elvezetése a Cz pontból történt (referencia Fz).

Reaction time (hits)



5. ábra

Az ábra a reakcióidőt (a pedál felengedéséig eltelt idő) mutatja a feladat újratartása alatt 435 ms-os response window használatával. A reakcióidő kb 15 nap után stabilizálódott. A response window alsó határát a mozgási artefaktumok esetleges P300-ra történő hatása miatt később felemeltük.

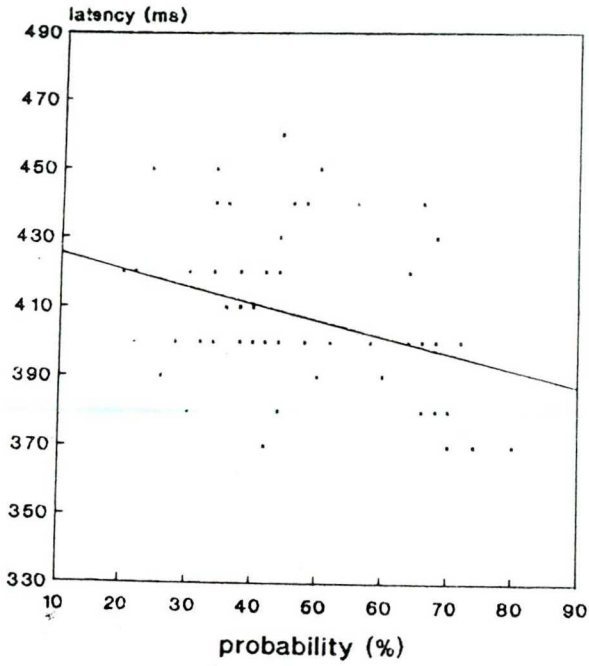


6. ábra

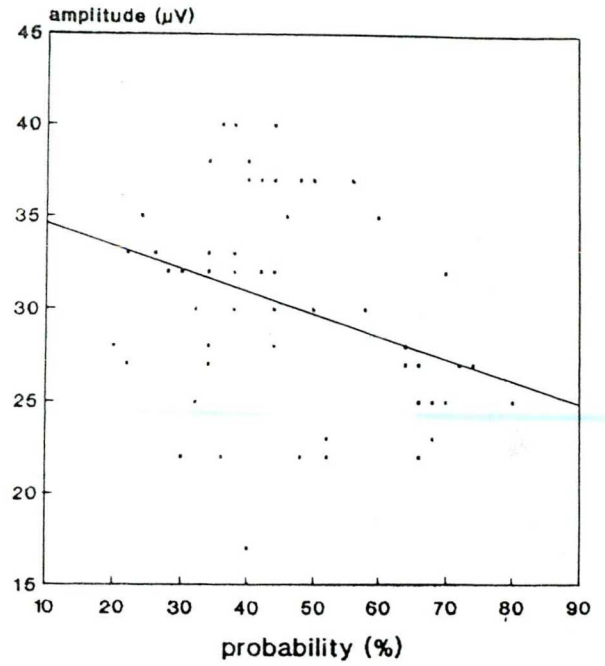
Az ábrán a target és non-target ingerekre elvezetett primer és kognitív válaszok láthatók. A primer választ az occipitális lebenyről, a P300-at a középpontból (Cz) vezettük el 30% target inger valószínűség mellett. P300-at csak a target ingerre kaptunk.



P300 latencies



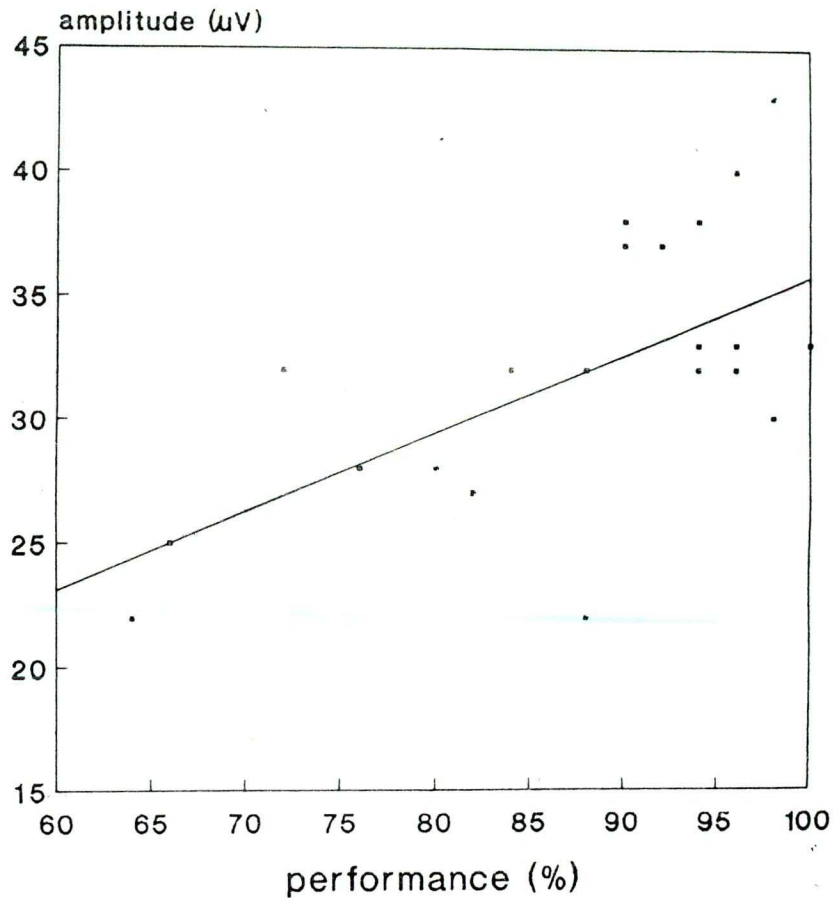
P300 amplitudes



7. ábra

A P300 amplitúdója és latenciája a target inger valószínűségének függvényében. A P300 mindkét paramétere a target inger valószínűségének emelkedésével csökkent (korrelációs koefficiensek 0.65 és 0.68.).

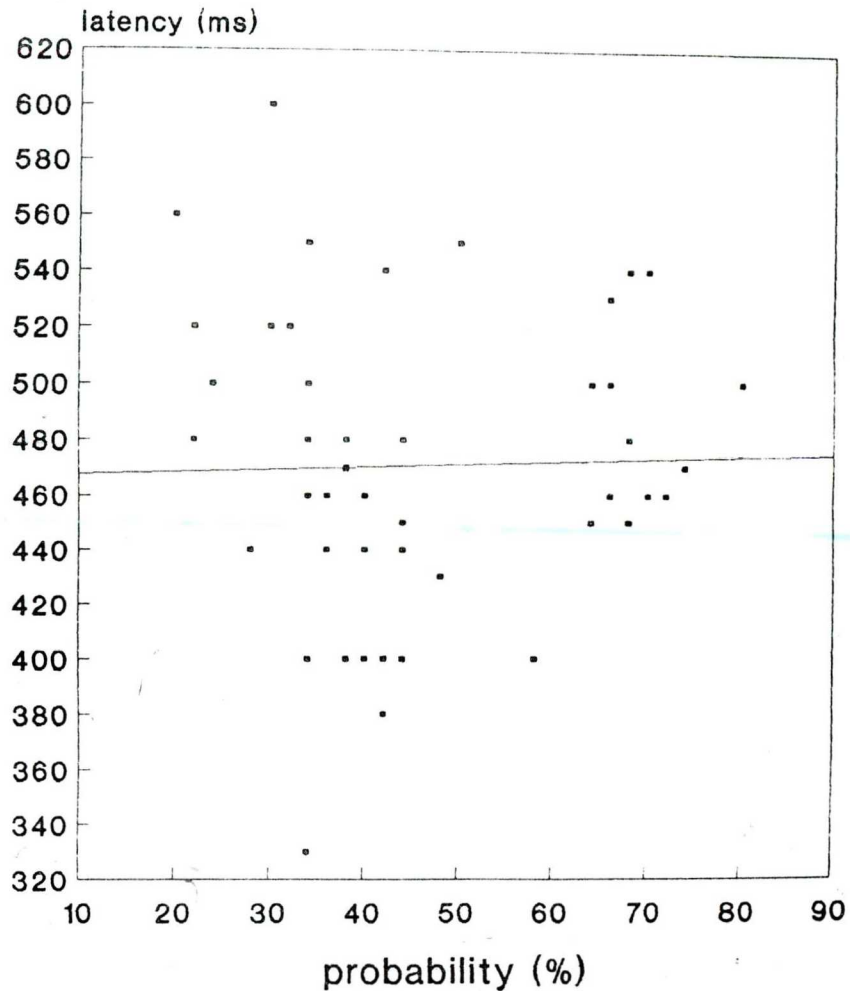
P300 amplitude and the performance



8. ábra

A P300 amplitúdója az állat teljesítményének függvényében. Gyengébb teljesítmény esetén az amplitúdó kisebb, míg magasabb teljesítménynél nagyobb volt (35% target inger valószínűség, korrelációs koefficiens 0.74).

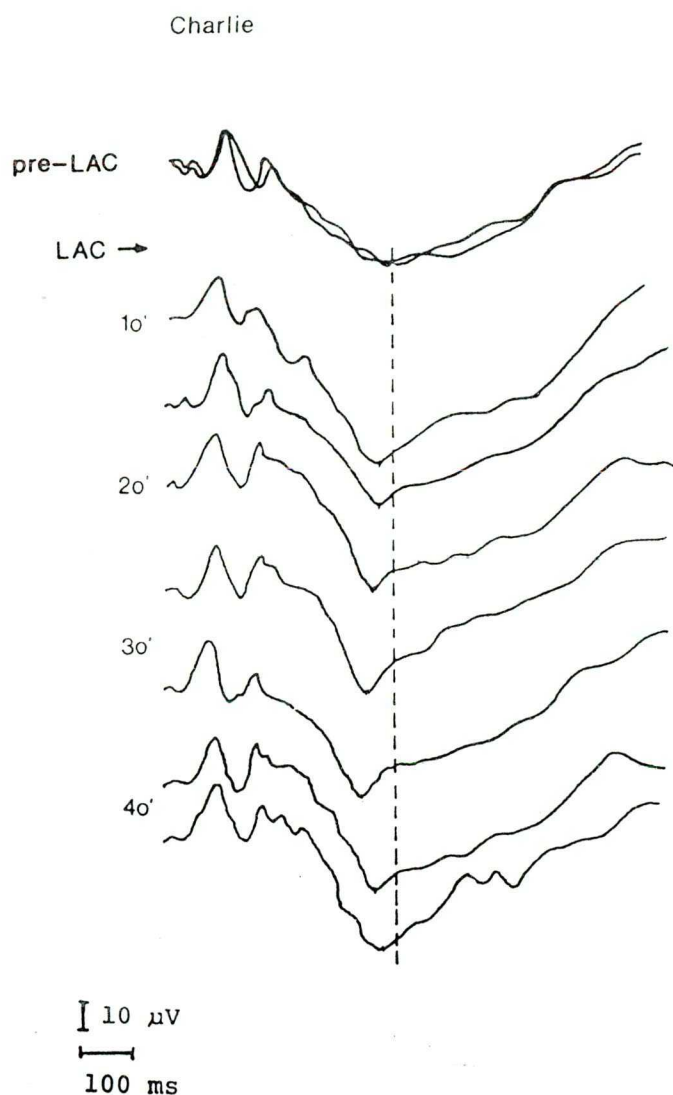
Eyemovement latencies



9. ábra

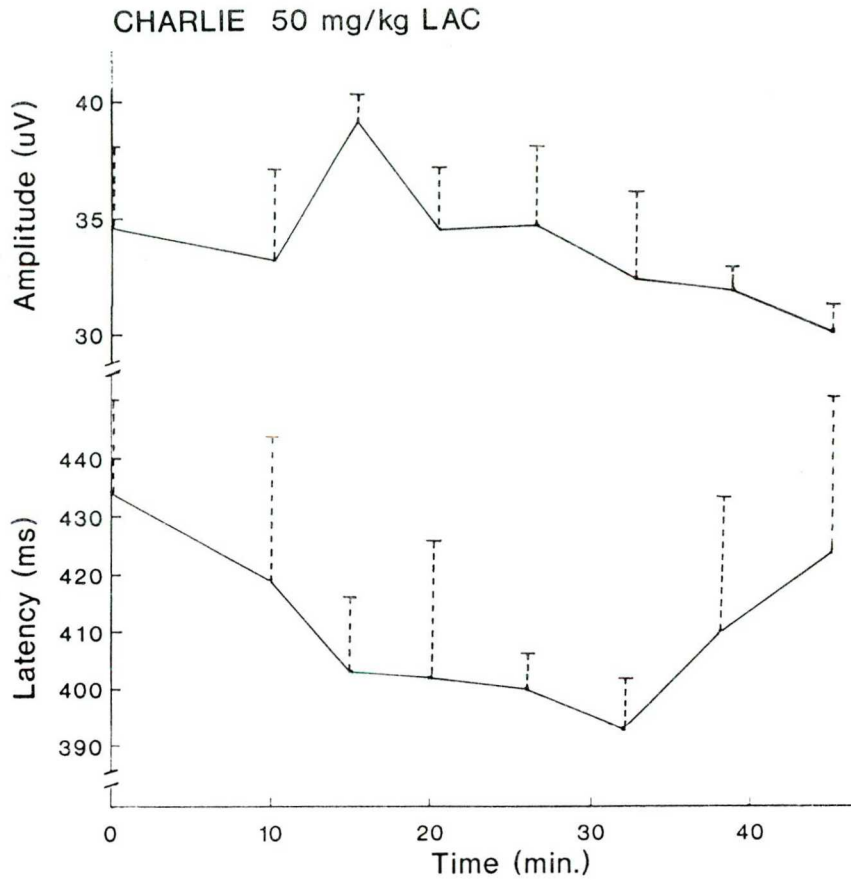
A target inger bemutatását követő lefelé irányuló szemmozgás latenciája a teljesítmény függvényében. A szemmozgás latenciája rendkívül véletlenszerű volt és nem mutatott összefüggést az állat teljesítményével és a P300-zal.

ACUTE LAC TREATMENT



10. ábra

A P300 latenciája csökkent az ALC beadása után (akut kísérlet). A legnagyobb csökkenést 26 és 32 perc között mértük. Ezután a P300 latenciája ismét emelkedett, de a kísérlet ideje alatt nem tért vissza a kiindulási értékre (target inger valószínűség 30%).

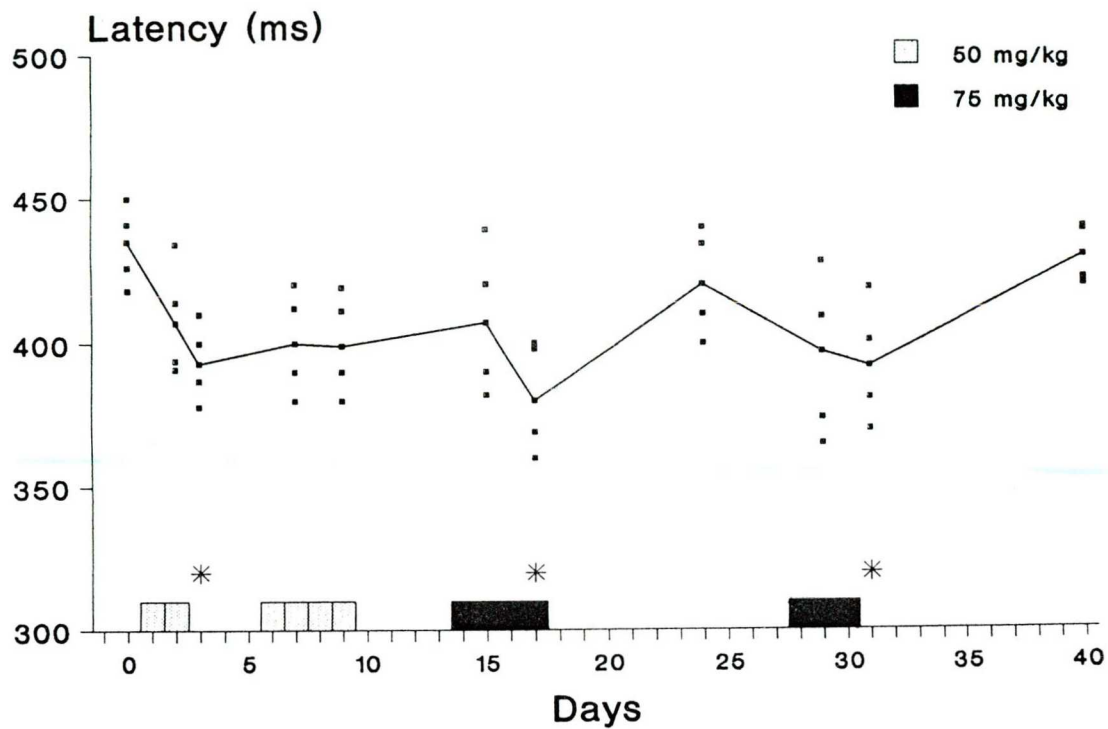


11. ábra

A P300 latenciájának és amplitúdójának átlagos értékei az akut kísérletek alatt (5 kísérlet átlaga). A latenciacsökkenés 26 - 32 percknél szignifikáns volt ($p < 0.05$). Az amplitúdó először növekedett, majd csökkent.

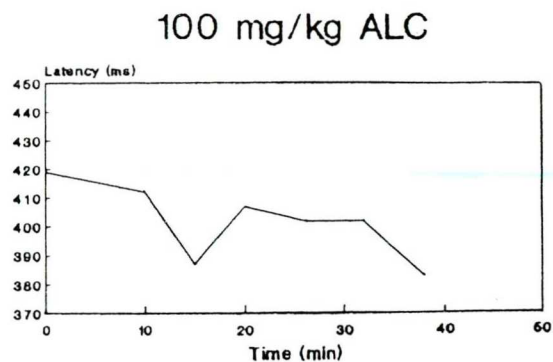
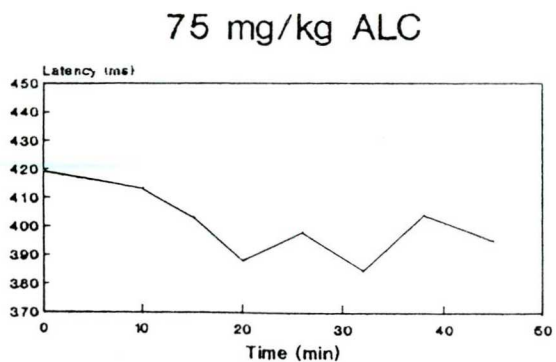
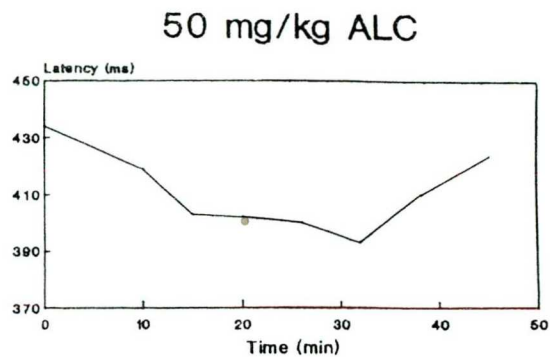
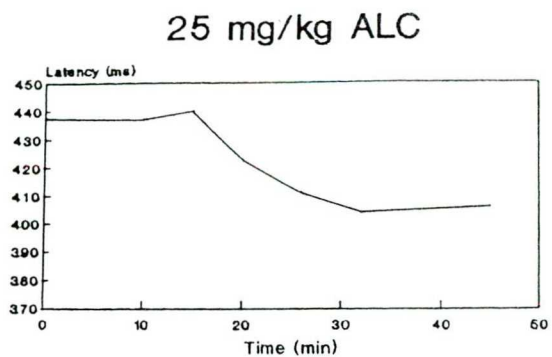


Charlie: chronic LAC treatment



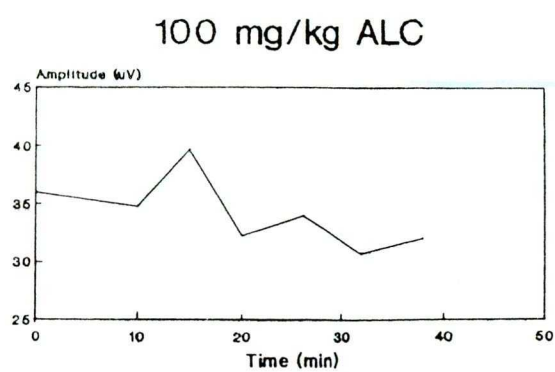
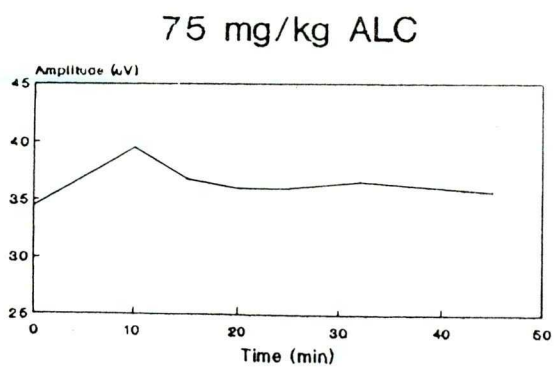
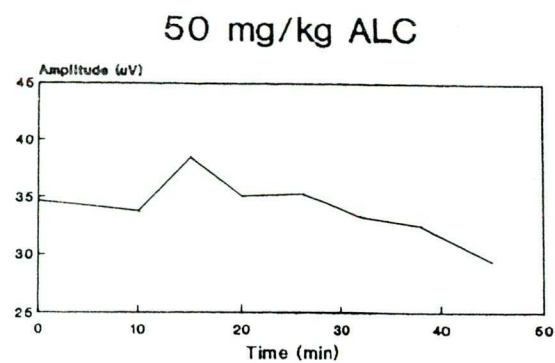
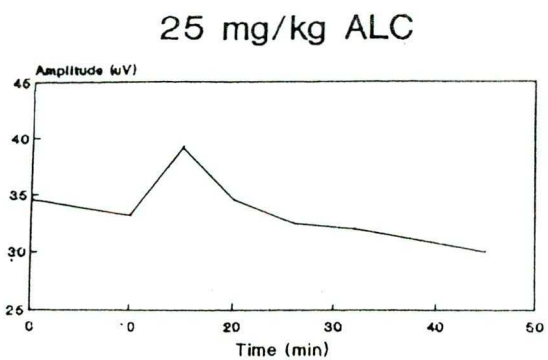
12. ábra

Az ábra a P300 latenciájának változását mutatja a krónikus ALC kezelés ideje alatt. A csillagok a szignifikáns csökkenést jelzik ($p < 0.05$). Már néhány napos ALC megvonás is a P300 latenciájának emelkedését eredményezte. A pontok a kísérleti napon előfordult P300 latencia értékeket jelzik.



13. A. ábra

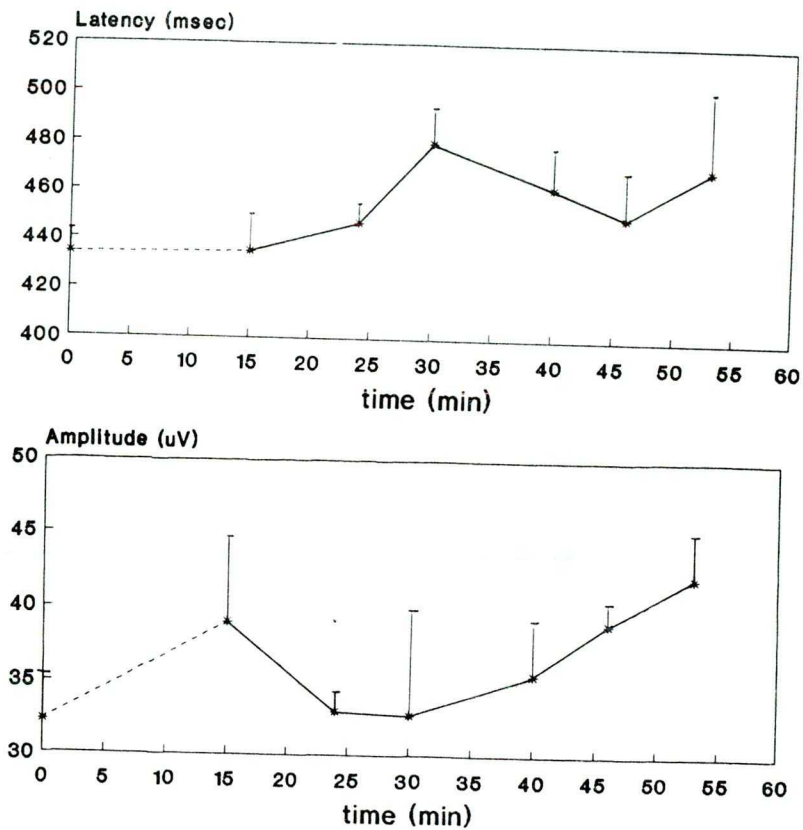
A P300 latenciájának változása akut kísérletekben az ALC beadástól számított idő függvényében. A latencia mindegyik dózis esetében csökkent, de különböző mértékben.



13. B ábra

A P300 amplitúdójának változása akut kísérletekben különböző dózisú ALC hatására a beadástól mért idő függvényében. Az amplitúdó minden dózis esetében 10-15 percnél növekedett, később csökkent.

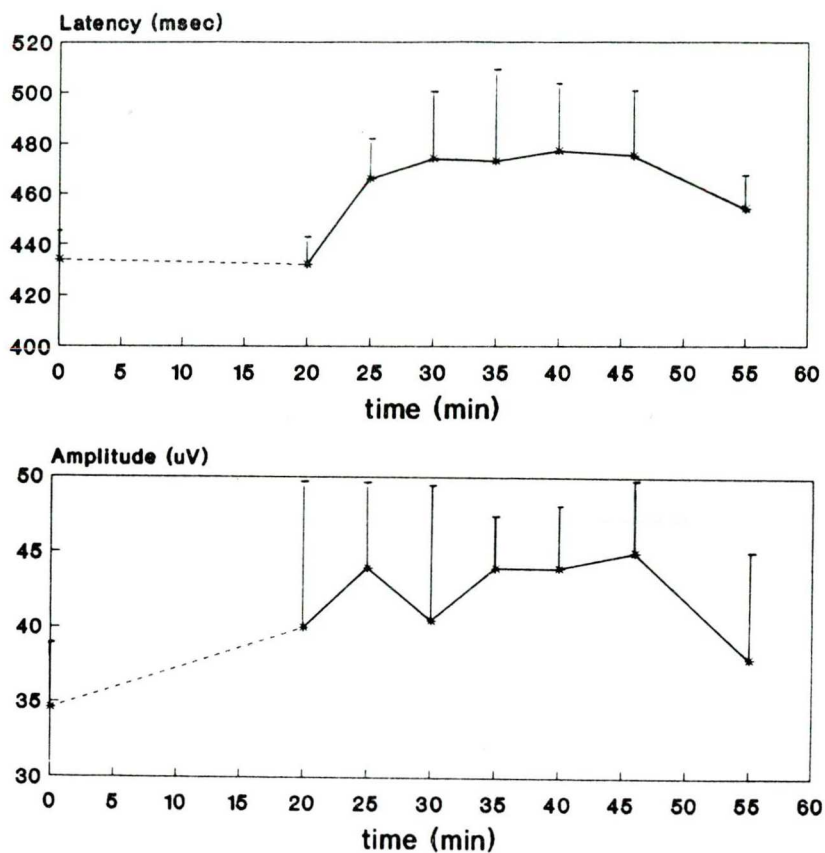
SCOPOLAMINE



14. ábra

A P300 latenciájának és amplitúdójának változása 0.005 mg/kg szkopolamin hatására. A latencia 20 perccel az anyag beadása után csökkent, amplitúdója növekedett. A szkopolamin hatás 30 - 40 perc között szignifikáns volt.

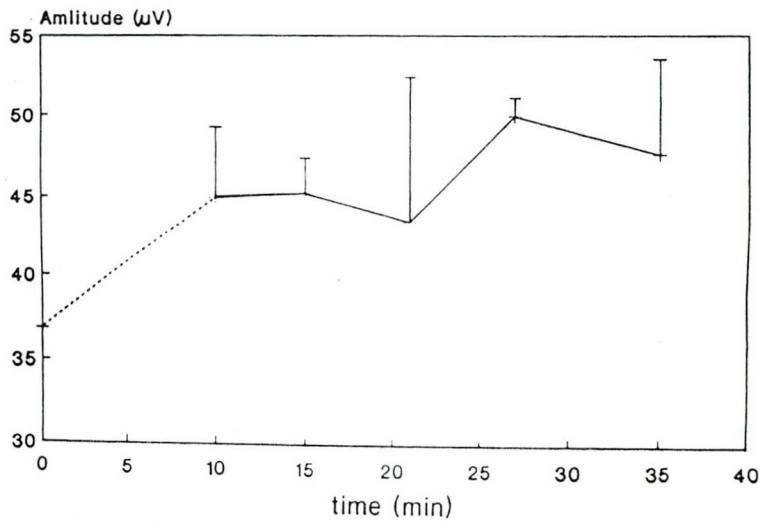
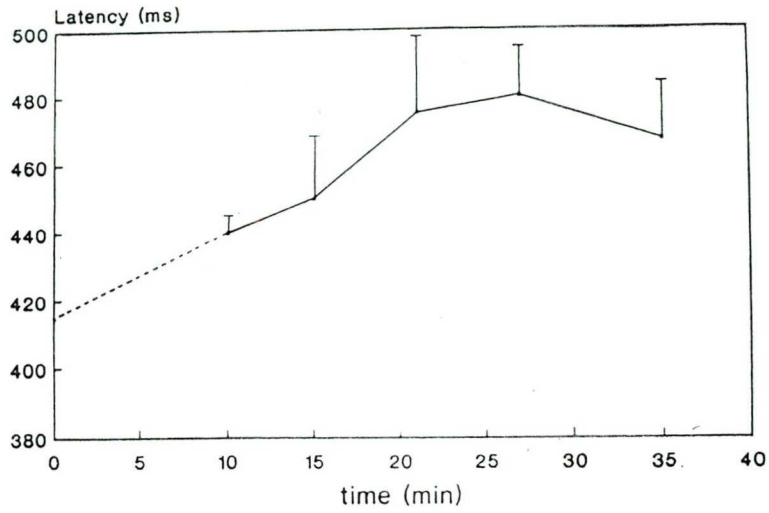
SCOPOLAMINE + ALC



15. ábra

A P300 latenciájának és amplitúdójának változása szkopolamin és ALC (0.005 mg/kg és 50 mg/kg) együttes alkalmazása során. Mindkét paraméter növekedett az anyagok beadása után, szignifikáns hatást 35 perccel a szkopolamin beadása után tapasztaltunk.

Sulpiride



16. ábra

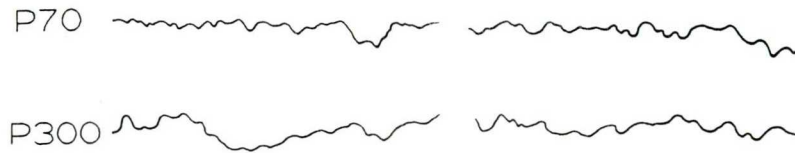
1.05 mg/kg sulpiride hatására a P300 latenciája és amplitúdója is növekedett (4 kísérlet átlaga). 26 perc után a hatás szignifikánsnak bizonyult ($p < 0.05$).

Pre-MPTP



Post-MPTP + ALC

44. nap



10 μ V I
—
100 ms

17. ábra

Az ábrán target és non-target ingerekre bekövetkező primer és kognitív válaszok láthatók MPTP kezelés előtt és a kezelést követő 44. napon, amikor ALC adtunk az állatnak. 400 ms körül egy kis pozitív hullámot figyelhettünk meg.

VIII. IRODALOM

Agid Y, Ruberg M, Dubois B, Javoy-Agid F (1984) Biochemical substrates of mental disturbances in Parkinson's disease. In: Hassler RG, Christ JF (Eds): Parkinson-Specific Motor and Mental Disorders. Adv in Neurology, Vol 40:211-218. Raven Press, New York.

Aleksandrov IO and Maksimova NE (1987) Slow brain potentials and their relation to the structure of behavior: Data on cortical unit activity. Electroenceph. and Clin. Neurophysiol., Supplement 40:3-7.

Alexander GE, DeLong MR, Strick PL (1986) Paralell organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. A. Rev. Neurosci, 9:357-381.

Andersen PH, Gimgrich JA, Bates MD, Dearry A, Falardeau P, Senogles SE, Caron MG (1990) Dopamine receptor subtypes: beyond the D1/D2 receptor classification. Trends in Pharmacol., 11:231-236.

Anger WK (1991) Animal test systems to study behavioral dysfunctions of neurodegenerative disorders. NeuroTox., 12:403-414.

Antal A, Bodis-Wollner I, Ghilardi M.F, Glover A, Mylin L, Onofrj M, Toldi J. (1992) The effect of levo-acetyl carnitine on visual "cognitive" evoked potentials in the behaving monkey. Electroenceph. Clin. Neurophys. (in press)

Armstrong DM, Saper CB, Levey AI, Wainer BH, Terry RD (1982) Immunocytochemical localization of choline acetyltransferase in the brain rat. Soc. Neurosci. Abstr., 8:662.

Arthur DL and Starr A (1984) Task-relevant positive component of the auditory event-related potential in monkeys resembles P300 in humans. Science, 233:186-188.

Bajalan A.A., Wright C.E., van der Vliet V.J. (1986) Changes in the human visual evoked potential caused by the anticholinergic agent hyoscine hydrobromide: comparison with results in Alzheimer's disease. J. Neurol. Psychiatry, 49(2):175-182.

Bankiewicz KS, Oldfield EH, Plunkett RJ, Schuette WH, Cogan DG, Hogan N, Zuddas A, Kopin IJ (1991) Apparent unilateral visual neglect in MPTP-hemiparkinsonian monkeys its due to delayed initiation of motion. Brain Res. 541:98-102.

Barbeau A, Campanella G, Butterworth R.F, Yamada K. (1975) Uptake and efflux of 14-C-dopamine in platelets:evidence a generalized defect in Parkinson's disease. *Neurology*, 25:1-9.

Barber J, Tomer R, Sroka H, Mylobodsky MS (1985) Does unilateral dopamine deficit contribute to depression? *Psychiatry Res.* 15:17-24.

Bartus RT and Johnson RT (1976) Short-term memory in the rhesus monkey: disruption from the anticholinergic scopolamine. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 5:39-46.

Bartus RT (1978) Evidence for a direct cholinergic involvement in the scopolamine-induced amnesia in monkeys: effects of concurrent administration of physostigmine and methylphenidate with scopolamine. *Phar. Biochem. and Behav.*, 9:833-836.

Bernheimer H, Birkmeyer W, Hornykiewicz O et al (1973) Brain dopamine and syndromes of Parkinson and Huntington. *J. Neurol. Sci*, 20:415-445.

Bischoff (1986) Mesohippocampal dopamine system. Characterization, functional and clinical implications. In: The hippocampus, Vol. 3. Isaacson R.L, Pribram K.H. (Eds) Plenum Publ. Corp. New York, pp:1-88.

Blum K, Seifter E, Seifter J (1971) The pharmacology of D and L-acetylcarnitine: comparison with coline and acetylcholine. *J. Pharm. Exp. Ther.*, 178(2): 331-335.

Bodis-Wollner I, Yahr MD and Mylin LH (1984) Nonmotor functions of the basal ganglia. In: Hassler RG and Christ JF (eds), Advances in Neurology, Vol. 40, New York: Raven Press, pp:289-297.

Bodis-Wollner I, Borod J and Glover A (1988) Abnormal P300 and cognitive dysfunction in Parkinson's disease and related disorders. In: Agnoli A, Cahn J, Lassen N, Mayeux R (eds), John Libbey Eurotext, Paris, pp:309-315.

Bodis-Wollner I. (1990) Physiological effects of Acetyl-levo-carnitine in the central nervous system. *Int. J. Clin. Pharm. Res.* 10:109-114.

Bodis-Wollner I, Pang s, Falk A, Ghilardi M.F, and Mylin L (1991) Vision and visual discrimination in Parkinson's disease. In: Bernardi G, Carpenter M.B, Di Chiara G, Morelli M, Stanzione P (Eds), The basal ganglia III., pp.743-750.

Bodis-Wollner I, Chung E, Ghilardi MF, Glover A, Onofrj M, Pasik P, Samson Y (1991) Acetyl-levo-carnitine protects against MPTP-induced parkinsonism in primates. *J. Neural Transm.* 3:63-72.

Boysen ST and Bernston GG (1985) Visual evoked potentials in the great apes. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.* 62:150-153.

Brenner E, Mirmiran M, Overdijk J, Timmermann M, Feenstra MGP. (1987) Effect on noradrenergic derivation on task-related visual evoked potentials in rats. *Brain Research Bulletin*, 18:297-302.

Broks P, Preston GC, Traub M, Poppleton P, Ward C, Stahl SM (1988) Modelling dementia: effects of scopolamine on memory and attention. *Neurophysiologia*, 26:685-700.

Brooks BA, Eidelberg E, Morgan WW (1987) Behavioral and biochemical studies in monkeys made hemiparkinsonian by MPTP. *Brain Res.*, 419:329-332.

Brucke T, Bankewicz K, Harvey-White J, Kopin IJ (1988) The partial dopamine receptor agonist terguride in the MPTP-induced hemiparkinsonian monkey model. *Eur. J. Pharmacol.*, 13:445-448.

Burns RS, Chiueh CC, Markey S, Ebert MH, Jacobowitz DM, Kopin IJ (1983) A primate model of Parkinson's disease: selective destruction of substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons by N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80:4546-4550.

Callaway E, Halliday R, Naylor H, Schechter G (1985) Effects of oral scopolamine on human stimulus evaluation. *Psychopharmacology* 85:133-138.

Callaway E, Halliday R, Naylor H, Brandeis D (1991) Clonidine and scopolamine: differences and similarities in how they change human information processing. *Prog. Neuropsychopharm. Biol. Psychiatry* 15(4):497-502.

Candy JM., Perry EK., Perry RH., Court JA., Oakley AE., Edwardson JA. (1986) The current status of the cortical cholinergic system in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Prog. Brain Res.* 70(10):105-132.

Chayasirisobhon S, Brinkman SD, Gerganoff S, Gershon S, Pomara N, Green V (1985) Event-related potentials in Alzheimer's disease. *Clin. Electroenceph.*, 16:48-53.

Courcesne E, Hillyard SA, Galambos R (1975) Stimulus novelty, task relevance, and the visual evoked potential in man. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.*, 39:131-143.

Coyle JT and Schwarz R (1976) Lesion of striatal neurons with kainic acid provides a model for Huntington's chorea. *Nature*, 263:244-246.

Creel D.J., Dustman R.E., Beck C. (1973) Visually evoked potentials in the rat, guinea pig, cat, monkey and man. *Exp.*

Neurol., 40:351-366.

Csepe V, Karmos G, Molnar M (1987) Effects of signal probability on sensory evoked potentials in cats. *International Journal of Neuroscience*, 33:61-77.

Cucinotta D, Passeri M, Ventura S et al (1988) Multicenter clinical placebo-controlled study with acetyl-L-carnitine (LAC) in the treatment of mildly demented elderly patients. *Drug Dev. Res.*, 14:213-216.

Daniels R, Harding GFA, Padhiar S, Drasdo N, Anderson SJ (1992) The effect of systematic and topical hyoscine hydrobromide on the flash and pattern visual evoked potential. Abstract. XXX ISCEV Symposium, Vienna, pp:69.

Davis P and Feisullin S (1982) A search for discrete cholinergic nuclei in the human ventral forebrain. *J. Neurochem.*, 39: 1743-1747.

Desmedt JE, Debecker J (1979) Slow potential shifts and decision P350 interactions in tasks with random sequences of near-threshold clicks and finger stimuli delivered at regular intervals. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.*, 47:671-679.

Donchin E, Ritter W, McCallum WC (1978) Cognitive psychophysiology : the endogenous components of the ERP. In: Callaway E, Tueting P, Koslow SH (Eds) Event-Related Brain Potentials in Man. Academic Press, New York, 1978.

Donchin E (1979) Event-related brain potential: a tool in the study of human information processing. In: Begleiter H (ed), Evoked Brain Potentials and Behavior, Vol. 2, New York: Plenum Press, pp. 13-88.

Donchin E, Miller GA, Farwell LA (1986) The endogenous components of the event-related potential - a diagnostic tool? In: Swaab DF, Fliers E, Mirmiran M, Van Gool WA, Van Haaren F (Eds) Progress in Brain Research, Vol 70, Elsevier, pp:87-102.

Doudet D, Gross C, Lebrun-Grandie P, Bioulac P (1985) MPTP primate model of Parkinson's disease: a mechanographic and electromyographic study. *Brain Res.*, 335:194-199.

Drachman D, Leawitt J. (1974) Human memory and the cholinergic system. *Arch. Neurol.* 30:113-121.

Drachman, D.A. (1977) Memory and cognitive function in man: does the cholinergic system have a specific role? *Neurology*, 27:783-790.

Dubois B, Ruberg M, Javoy-Agid F, et al. (1983) A subcorticocortical cholinergic system is affected in Parkinson's disease. *Brain Res.* 288:213-218.

Dubois B, Danze F, Pillon B, Cusimano G, Lhermitte F, and Agid Y (1987) Cholinergic-dependent cognitive deficits in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* 22:26-30.

Dubois B, Pillon B, Lhermitte F, Agid Y (1990) Cholinergic deficiency and frontal dysfunction in Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 28:117-121.

Duncan CC (1988) Event-related brain potentials: a window on information processing in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 14:199-203.

Emmerson RY, Dustman RE, Shearer DE, Chamberlin HM (1987) EEG, visually evoked and event related potentials in young abstinent alcoholics. *Alcohol*, 4:241-248.

Enz A, Goldstein M, Meller E (1990) Dopamine agonist-induced elevation of striatal acetylcholine: relationship between receptor occupancy and response in normal and denervated striatum. *Molec. Pharmac.*, 37:560-565.

Evarts EV, Kimura M, Wurtz RH, Hikosaka O (1984) Behavioural correlates of activity in basal ganglia neurons. *Trend in Neurosci*, 7:447-453.

Fabiani M, Gratton G, Karis D, Donchin E (1987) The definition, identification and reliability of measurement of the P300 component of the event-related potential. In: Ackles PK, Jennings JR, Coles MGH (Eds) Advances in psychophysiology, Vol 2. JAI Press, Greenwich, CT, pp:1-78.

Fariello RG, Ferraro TN, Golden GT, DeMattei M (1988) Systematic acetyl-L-carnitine elevates nigral levels of glutathione and GABA. *Life Sci*, 43:289-292.

Filion M, Tremblay L, Bedard PJ (1988) Abnormal influences of passive limb movement on the activity of globus pallidus neurons in parkinsonian monkeys. *Brain Res.*, 444:165-176.

Flicker C, Sherby M, Ferris S.H. (1990) Scopolamine effects on memory language, visuospatial praxis and psychomotor speed. *Psychopharmacology - (Berl)*, 100:243-250.

Forno LS, Langston JW, DeLanney LE, Irwin I (1988) An electron microscopic study of MPTP-induced inclusion bodies in an old monkey. *Brain Res.*, 448:150-157.

Friedman D, Simson R, Ritter W, Papin I (1975) The late positive component (P300) and information processing in sentences. *Electrophysiol. and Clin. Neurophysiol.*, 38:255-262.

Friedmann HR and Goldman-Rakic PS (1988) Activation of the hippocampus and dentate gyrus by working-memory: a 2-deoxyglucose study of behaving rhesus monkeys. *J. Neurosci.*, 8:4693-4706.

Fritz IB, Schultz SK, Srere PA (1963) Properties of partially carnitine acetyltransferase. *J. Biol. Chem.*, 238(7):2509-2511.

Fuld P.A. (1984) Test profile of cholinergic dysfunction and of Alzheimer-type of dementia. *J. Clin. Neuropsychol.* 6:380-392.

Funahashi S, Bruce CJ, and Goldman-Rakic PS (1989) Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex. *J. Neurophysiol.* 61:331-349.

Gabriel M, Sparenborg SP, Donchin E (1983) Macropotentials recorded from the cingulate cortex and anterior thalamus in rabbits during the "oddball" paradigm used to elicit P300 in normal human subjects. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 9:1200.

Galambos R, Hillyard SA (1981) Electrophysiological approaches to human cognitive processing. *Neurol. Res. Prog. Bull.*, 20:141-248.

Gambi D, Onofrj M, Calvani M, Faricell A et al (1983) Neurophysiological studies of L-acetyl-carnitine administration in man. *Drugs Exp. Clin. Res.* 15(9):435-446.

German DC, Dubach M, Askaria S, Spiciale G, Bowden DM (1988) 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetra-hydropyridine-induced syndrome in *Macaca fascicularis*: Which mid-brain dopaminergic neurons are lost? *Neurosci.* 24:161-174.

Ghilardi MF, Bodis-Wollner I, Onofrj MC et al (1988) Spatial frequency-dependent abnormalities of pattern electroretinogram and visual evoked potentials in a parkinsonian monkey model. *Brain*, 111:131-149.

Ghilardi MF, Marx MS, Bodis-Wollner I, Camras CB, Glover AA (1989) The effect of intraocular 6-hydroxydopamine on retinal processing of primates. *Ann. of Neurology*, Vol. 25(4):359-364.

Ghirardi O, Milano S, Ramacci MT, Angelucci L (1988) Effect of acetyl-L-carnitine chronic treatment on discrimination models in aged rats. *Physiol. Behav.*, 44:769-773.

Ghoneim MM, Mewaldt SP (1975) Effects of diazepam and scopolamine on storage, retrieval and organizational processes in memory. *Psychopharmacologia* 44:257-262.

Glover A, Onofrj MC, Ghilardi MF and Bodis-Wollner I (1986) P300-like potentials in the normal monkey using classical conditioning and in an auditory "oddball" paradigm. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 65:231-235.

Glover A, Ghilardi MF, Bodis-Wollner I and Onofrj M (1988) Alterations in event-related potentials (ERPs) of MPTP-treated monkeys. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 71:461-468.

Glover A, Ghilardi MF and Bodis-Wollner I (1991) Visual cognitive evoked potentials in the behaving monkey. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 90:65-72.

Goodin DS, Squires KS and Starr A (1978) Long latency event-related components of the auditory evoked potential in dementia. *Brain*, 101:635-648.

Goodin DS and Aminoff MD (1987) Electrophysiological differences between demented and nondemented patients with Parkinson's disease. *Ann. Neurol.*, 21:90-94.

Halgren E, Squires N.K, Wilson C.L, Rohrbaugh J.W, Babb T.L, Crandall P.H. (1980) Endogenous potentials generated in the human hippocampal formation and amygdala by infrequent events. *Science*, 210:803-805.

Hammond E.J, Meador K.J., Aung-Din R., Wilder B.J. (1987) Cholinergic modulation of human P3 event-related potentials. *Neurology*, 37:346-350.

Herkenham M, Little MD, Bankiewicz K, Yang SC, Markey SP, Johannessen JN (1991) Selective retention of MPP+ within the monoaminergic systems of the primate brain following MPTP administration: an in vivo autoradiographic study. *Neurosci.* 40(1):113-158.

Hillyard SA, Galambos R (1967) Effects of stimulus and response contingencies on a surface slow potential shift in man. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.*, 22:297-302.

Hillyard SA, Kutas M (1983) Electrophysiology of cognitive processing. *Ann. Rev. Psychol.*, 34:32-61.

Hornykiewicz O., Kish S.J. (1986) Biochemical pathophysiology of Parkinson's disease. In: Yahr M, Bergman K. (Eds) Advances in Neurology, Vol. 45:19-34. Raven Press, New York.

Hosein EA, Orzech A (1963) Some physiological and biochemical properties of acetyl carnitine isolated from brain tissue extracts. *Biochem. Pharmacol.*, 12:160-161.

Imperato A, Ramacci MT, Angelucci L (1989) Acetyl-L-carnitine enhances acetylcholine release in the striatum and hippocampus of awake freely moving rats. *Neurosci-Lett.* 107 (1-3): 251-255.

Ito J, Yamao S, Fukuda H, Mimori Y, Nakamura S (1990) The P300 event-related potentials in dementia of the Alzheimer type. Correlations between P300 and monoamine metabolites. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.*, 77:174-178.

Janiri L, Tempesta E (1983) A pharmacological profile of

the effects of carnitine and acetyl carnitine on the central nervous system. *Int. J. Clin. Pharm. Res.* III. 4:295-306.

Janiri L, Falcone M, Persico A, Tempesta E. (1991) Activity of L-carnitine and L-acetylcarnitine on cholinceptive neocortical neurons of the rat in vivo. *J. Neural. Transm. Gen. Sect.* 86(2):135-146.

Javitch JA, D'Amato RJ, Strittmatter SM, Snyder SH (1985) Parkinsonism-inducing neurotoxin N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP): uptake of the metabolite N-methyl-4-phenylpyridine by dopaminergic neurons explains selective toxicity. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, 82:2173-2177.

Jensen R.J., Daw N.W., (1988) Effects of dopaminergic agents on the activity of ganglion cells on rabbit retina. In: Bodis-Wollner I. and Piccolino M. (Eds) Dopaminergic mechanisms in vision. Alan R. Liss, New York, pp:163-178.

Kebabian J.W. (1978) Multiple classes of Dopamine receptors in mammalian nervous system: the involvement of dopamine-sensitive adenylate cyclase. *Lfi. Sci.* 23:479-484.

Kimura H, McGeer PL, McGeer EG (1981) The central cholinergic system studied by choline acetyltransferase immunohistochemistry in the cat. *J. Comp. Neurol.*, 200:151-200.

Kopelman M (1986) The cholinergic neurotransmitter system in human memory and dementia: A review. *Quarterly J. of Exp. Psychology*, 38A, 535-573.

Krauhin G, Gordon E, Stamfield R, Meares R, Howson A (1986) P300 and the effects of aging: relevance to the diagnosis of dementia. *Exper. Aging Res.*, 12:187-192.

Krauhin C, Gordon E, Coyle S, Sara G, Rennie C, et al (1990) Normal latency of the event-related potential in mild-to-moderate Alzheimer's disease and depression. *Biol. Psychiatry*, 28:372-386.

Kutas M, McCarthy G and Donchin E (1977) Augmenting mental chronometry: the P300 as a measure of stimulus evaluation time. *Science*, 197:792-795.

Langston JW, Forno LS, Robert CS, Irwin I (1984) Selective nigral toxicity after systematic administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the squirrel monkey. *Brain Res.* 292:390-394.

Laschi R, Badiali de Giorgi L, Bonvicini F, Centurione L (1990) Ultrastructural aspects of aging rat hippocampus after long-term administration of acetyl-L-carnitine. *Int. J. Clin. Pharm. Res.*, 10:59-63.

Lees A.J, Smith E. (1983) Cognitive deficits in the early

stages of Parkinson's disease. *Brain*, 106:257-270.

Lines CR, Dawson C, Preston GC, Reich S, Foster C, Traub M (1991) Memory and attention in patients with senile dementia of the Alzheimer type and in normal elderly subjects. *J. Clin. Exp. Neuropsychology*, 13:691-702.

Longo VG (1966) Behavioral and electroencephalographic effects of atropine and related compounds. *Pharmacol. Rev.* 18(2): 965-996.

Marczynski TJ (1978) Neurochemical mechanism in the genesis of slow potentials: a review and some clinical implications. In: Otto D.A. (Ed.) Multidisciplinary perspectives in event-related brain potential research. U.S. Govt, Printing Office, Washington, DC, pp:25-35.

Markowska AL, Ingram DK, Barnes CA et al (1990) Acetyl-L-carnitine 1: effects on mortality, pathology and sensory-motor performance in aging rats. *Neurobiol. Aging*, 11:491-498.

Martucci N, Agnoli A, Manna V (1986) Is acetyl-L-carnitine a cholinergic substance? In: Bes A et al (Eds) Senile dementias: early detection. Masson, Milan, pp:1401-1407.

McCarthy G and Donchin E (1981) A metric for thought: a comparison of P300 latency and reaction time. *Science*, 211:77-80.

McCarthy G, Wood CC, Allison T, Goff WR, Williamson PD, Spencer DD (1982) Intracranial recordings of event-related potentials in humans engaged in cognitive tasks. *Soc. Neurosci. Abstr.*, 8:976.

Meador KJ, Loring DW, Patel BR, Davis HC (1987) Central cholinergic systems and the P3 evoked potential. *Int. J. of Neurosci.* 33:199-205.

Mesulam MM, Mufson EJ, Levey AI, Wainer BH (1983) Cholinergic innervation of cortex by the basal forebrain: cytochemistry and cortical connections of the septal area, diagonal and band nuclei, nucleus basalis (substantia innominata) and hypothalamus in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.*, 214:170-197

Neville HJ and Foote SL (1984) Auditory event-related potentials in the squirrel monkey: parallels to human late wave response. *Brain Res.*, 298:107-116.

Nicklas WJ, Vyas I, Heikkila RE (1985) Inhibition of NADH-linked oxidation in brain mitochondria by 1-methyl-4-phenylpyridine, a metabolite of the neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine. *Life Sci.*, 36:2503-2508.

Nomoto MP, Jenner and CD Marsden (1985) The dopamine D-2 agonist LY 141865, but not the D-1 agonist SKF 38393, reverses

parkinsonism induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) in the common marmoset. *Neurosci. Lett.*, 57:37-41.

O'Connor T and Starr A (1985) Intracranial potentials correlated with an event-related potential, P300, in the cat. *Brain Research*, 339:27-38.

Okada Y.C, Kaufman L, Williamson S.J. (1983) The hippocampal formation as a source of the slow endogenous potentials. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.*, 55:417-426.

Ollo C, Johnson R Jr, Grafman J (1991) Signs of cognitive change in HIV disease: an event-related brain potential study. *Neurology*, 41(2):209-215.

Onofrj M, Bodis-Wollner I, Ghilardi MF, Marx MS, Glover A (1986) Pattern vision in monkeys with parkinsonism: a stimulus-specific effect of MPTP on retinal and cortical processing. In: Markey SP, Castagnoli N Jr, Trevor AJ, Kopin IJ (Eds) A neurotoxin producing a parkinsonian syndrome. pp:683-688.

Onofrj M, Ghilardi M.F, Faricelli A, Bodis-Wollner I, Calvani M (1987) Effect of levo-acetylcarnitine on P300-like potentials of the normal monkey. *Drugs Exptl. Clin. Res.* 7:407-415.

Onofrj M, Bodis-Wollner I, Calvani M (1987) Effect of L-Acetyl-carnitine HCl on rat steady-state visual evoked potentials. Comparison with L-carnitine. *Drugs Exptl. Clin. Res.* XIII. pp 5.

Pang S, Borod JC, Hernandez A, Bodis-Wollner I, Raskin S, Mylin L, Coscia L and Yahr M (1990) The auditory P300 correlates with specific cognitive deficits in Parkinson's disease. *J. Neural Trans.* 2:249-264.

Paller KA, Zola-Morgan S, Squires LR, Hillyard SA (1982) Late positive event-related potentials in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Society for Neuroscience Abstracts*, 8:975.

Paller KA, Zola-Morgan S, Squire LR, Hillyard SA (1988) P3-like brain waves in normal monkeys and in monkeys with medial temporal lesions. *Behav. Neurosci.*, 102:714-725.

Paller K.A. (1991) The neuronal substrates of cognitive ERPs: A review of animal models of P3. In: Heinze H.J., Munte T.F., Mangun G.R. (Eds.) Cognitive electrophysiology: ERPs in basic and clinical research. Birkhauser, in press.

Passeri M, Ianucelli M, Ciotto G, Bonati PA et al (1988) Mental impairment in aging: selection of patients, methods of evaluation and therapeutic possibilities of acetyl-L-carnitine. *Int. J. Clin. Pharmacol. Res.*, 8:3670376.

Passeri M, Cucinotta B, Bonati PA, Ianucelli M et al (1990) Acetyl-L-carnitine in the treatment of mildly demented elderly patients. *Int. J. Clin. Pharm. Res.*, 10:75-79.

Perry EK, Curtis M, Dick DJ et al (1985) Cholinergic correlates of cognitive impairment in Parkinson's disease: comparisons with Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 48:413-425.

Picton TW, Hillyard SA (1974) Human auditory evoked potentials. II. Effects of attention. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.*, 36:191-200.

Pineda JA, Foote SL, Neville HJ and Holmes T (1987) Long-latency event-related potentials in squirrel monkeys: further characterization of wave form morphology, topography, and functional properties. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 67:77-90.

Pineda J.A., Foote S.L., Neville H.J., Holmes T. (1988) Endogenous event-related potentials in monkey: the role of task relevance, stimulus probability, and behavioral response. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 70:155-171.

Pineda JA, Foote SL, Neville HJ (1989) Effects of locus coeruleus lesions on auditory, long latency, event related potentials in monkey. *J. Neurosci.*, 9:81-93.

Polich J, Ehlers CL, Otis S, Mandell AJ and Bloom FE (1986) P300 latency reflects the degree of cognitive decline in dementing illness. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*, 63:138-144.

Polich J (1988) Bifurcated P300 peaks: P3 and Pb revisited? *J. Clin. Neurophysiol.*, 5:287-294.

Polich J (1991) P300 in the evaluation of aging and dementia. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol. Suppl.*, 42:304-323.

Price DL, Whitehouse PJ, Stuible RG, Clark AW, DeLong MR, Hedreau JC (1982) Basal forebrain cholinergic system in Alzheimer's disease and related dementias. In: Desmedt DE (Ed) Auditory evoked potentials in man. Psychopharmacological correlates of EPs. *Prog. Clin. Neurophysiol. Vol. 2.*, Karger, Basel, pp:175-207.

Ritter W, Vaughan HG Jr, Friedman D (1979) A brain event related to the making of a sensory discrimination. *Science*, 203:1358-1361.

Roeltgen M.G., Roeltgen D.P., Heilman K.M. (1989) Unilateral motor impersistence and hemispatial neglect from a right striatal lesion. *Neuropsychiat. Neuropsychol. Behav. Neurol.* 2:125-135.



Rohrbaugh JW, Syndulko K, Lindsley DB (1979) Cortical slow negative waves following nonpaired stimuli: effects of modality, intensity and rate of stimulation. *Electroenceph. and Clin. Neurophysiol.* 46:416-427.

Romani A, Merello S, Gozolli L., Zerbi F, Grassi M, Cosi V (1987) P300 and CT scan in patients with chronic schizophrenia. *Br. J. Psychiatry*, 151:506-513.

Rosenberg C, Nudleman K, Starr A (1985) Cognitive evoked potentials (P300) in early Huntington's disease. *Arch. Neurol.* 42:984-987.

Rosler F, Sutton S, Johnson R Jr, Mulder G, Fabiani M, Gorsel EP, Roth WT (1986) Endogenous ERP components and cognitive constructs. A review. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol. Suppl.* 38:51-92.

Ruchkin DS, Sutton S (1983) Positive slow wave and P300: Association and disassociation. In: Gaillard AWK and Ritter W (Eds) Tutorials in ERP Research: Endogenous Components. North Holland Publishing Company.

Rugg M.D., Potter D.D., Pickles C.D., Roberts R.C. (1989) Effects of scopolamine on the modulation of event-related brain potentials by word repetition (Abstract). *Soc. for Neurosci. Abstr.* 15:245.

Sannita W.G., Fioretto M., Maggi L., Rosadini G. (1987) Effects of scopolamine parenteral administration on the electroretinogram, visual evoked potentials, and quantitative electroencephalogram of healthy volunteers. *Doc. Ophthalmol.* 67(4):379-388.

Sass RL, Werness P (1973) Acetylcarnitine: on the relationship between structure and function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 55:736-742.

Schneider JS, Kovelowski CJ (1990) Chronic exposure to low doses of MPTP. I. Cognitive deficits in motor asymptomatic monkeys. *Brain Res.* 519:122-128.

Schneider J.S., McLaughlin M.S., Roeltgen D.P. (1992) Motor and nonmotor behavioral deficits in monkeys made hemiparkinsonian by intracarotid MPTP infusion. *Neurology*, 42:1565-1572.

Schneider T. and Zrenner E. (1991) Effects of D-1 and D-2 dopamine antagonists on ERG and optic nerve response of the cat. *Exp. Eye Res.* 52:425-430.

Schroeder CE, Tenke CE, Givre SJ, Arezzo JC, Vaughan HG Jr (1991) Striate cortical contribution to the surface-recorded pattern-reversal VEP in the alert monkey. *Vision Res.*, 31:1143-1157.

Schwarcz R, Whetsell WO, Mangano RM (1983) Quinolinic acid: an endogenous metabolite that produces axon-sparing lesions in rat brain. *Science*, 219:316-318.

Sershen H, Harsing LG, Banay-Schwartz M, Hashim A, Ramacci MT, Lajtha A (1991) Effect of acetyl-L-carnitine on the dopaminergic system in aging brain. *J. Neurosci. Res.* 30(3):555-559.

Simson R, Vaughan HG Jr, Ritter W (1976) The scalp topography of potentials associated with missing visual and auditory stimuli. *Electroenceph. and clin. Neurophysiol.*, 40:33-42.

Simson R, Vaughan HG Jr, Ritter W (1977) The scalp topography of potentials in auditory and visual discrimination tasks. *Electroenceph and Clin. Neurophysiol.*, 42:528-535.

Sloan E.P., Fenton G.W., Standage K.P. (1992) Anticholinergic drug effects on quantitative electroencephalogram, visual evoked potential, and verbal memory. *Biol Psychiatry*, 31(6):600-606.

Smith G (1988) Animal models of Alzheimer's disease: experimental cholinergic denervation. *Brain Res. Reviews*, 13:103-118.

Snyder E, Hillyard SA, Galambos R (1980) Similarities and differences among the P3 waves to detected signals in three modalities. *Psychophysiology*, 17:112-122.

Snyder SH and D'Amato RJ (1986) A neurotoxin relevant to the pathophysiology of Parkinson's disease. *Neurology* 36:250-258.

Spagnoli A, Lucca U, Menasce G, Bandera L, Cizza G, Ieracitano D et al (1991) Long-term acetyl-L-carnitine treatment in Alzheimer's disease. *Neurology*, 41(11):1126-1173.

Spano P.F., Stefanini E., Trabucchi M., Fresia P. (1979) Stereospecific interaction of sulpiride with striatal and nonstriatal dopamine receptors. In: Spano P.F., Trabucchi M., Corsini G.U., Gessa G.L. (Eds) Sulpiride and other Benzamides. Italian Brain Research Foundation Press, Milan, pp:11-31.

Squires KC, Hillyard SA and Lindsay PH (1973) Vertex potentials evoked during auditory signal detection: relation to decision criteria. *Percept. Psychophys.* 10:445-452.

Squires KC, Donchin E, Herning RI and McCarthy G (1977) On the influence of task relevance and stimulus probability on event-related potential components. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 42:1-14.

Stanzione P, Fattapposta F, Giunti P, D'Alessio C, Tagliati

M, Affricano C, Amabile G (1991) P300 variations in parkinsonian patients before and during dopaminergic monotherapy: a suggested dopamine component in P300. *Electroenceph. and clin. Neurophys.*, 80(5):446-453.

Stoof JC, Drukarch B, De Boer P, Westerink HC, Groenewegen HJ (1992) Regulation of the activity of striatal cholinergic neurons by dopamine. *Neurosci*, 47:755-770.

Sutton S, Braren M, Zubin J and John ER (1965) Evoked potential correlates of stimulus uncertainty. *Science*, 150:1187-1188.

Sutton S, Tueting P, Zubin J, John ER (1967) Information delivery and the sensory evoked potential. *Science*, 155:1436-1439.

Taylor AE, Saint-Cyr JA, Lang AE (1986) Frontal lobe dysfunction in Parkinson's disease. The cortical focus on neostriatal outflow. *Brain*, 109:845-883.

Tempesta E, Troncon R, Janiri L, Colusso I et al (1990) Role of acetyl-L-carnitine in the treatment of cognitive deficit in chronic alcoholism. *Int. J. Clin. Pharm. Res.* 10:101-107.

Tueting P (1978) Event related potentials, cognitive events and information processing. In: Otto DA (Ed) Multidisciplinary Perspectives in Event-Related Brain Potential Research. U.S. Goot. Printing Office, Washington, D.C. pp:159-169.

Ungerstedt U, Arbuthnott GW (1970) Quantitative recording of rotational behavior in rats after 6-hydroxy-dopamine lesions of the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res.*, 24:485-493.

Yingling CD, Hosobuchi Y (1984) A subcortical correlate of P300 in man. *Electroenceph. and clin. Neurophysiol.*, 59:72-76.

Valerio C, Clementi G, Spadaro F, D'Agata V, Raffaele R, Grassi M et al (1989) The effects of acetyl - L -carnitine on experimental models of learning and memory deficits in the old rat. *Funct. - Neurol.*, 4(4):387-390.

Vallar L, Meldolesi J (1989) Mechanism of signal transduction at the dopamine D2 receptor. *Trends in Pharm. Sci.* 10:74-77.

Willoughby J, Glover V, Sandler M, Albanese A, Jenner P, Mardsen CO (1988) Monoamine oxidase activity and distribution in marmoset brain: implications for MPTP toxicity. *Neurosci. lett.*, 90:100-106.

Wood CC, Allison T, Goff WR, Williamson PD, Spencer DD (1980) On the neural origin of P300 in man. In: Kornhuber HH, Deecke L (Eds) *Prog. in Brain Research*, Vol. 54. Elsevier, Amst, pp:51-86.

Woods DL, Ridgway SH, Carder DA, Bullock TH. (1986) Middle- and long latency auditory event-related potentials in dolphins. In: Schusterman RJ, Thomas JA, Wood FG (Eds) Dolphin cognition and behavior: A comparative approach. Erlbaum, New Jersey, 61-78.