

Ketamin-xylozin indukálta talamokortikális lassú hullámú aktivitás in vivo elektrofiziológiai vizsgálata patkányban

Doktori tézisek

Fiáth Richárd Balázs

Semmelweis Egyetem
Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola



Konzulens: Dr. Ulbert István, DSc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Bódizs Róbert, dr. habil., tudományos főmunkatárs
Dr. Détári László, DSc., egyetemi tanár

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Kamondi Anita, DSc., egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Arányi Zsuzsanna, Ph.D., egyetemi docens
Dr. Czurkó András, Ph.D., tud. főmunkatárs

Budapest
2016

1. BEVEZETÉS

Az alvás az ember legalapvetőbb fiziológiai szükségletei közé tartozik. Életünk mintegy harmadát töltjük ebben a módosult tudatállapotban, mely során jelentős mértékben megváltoznak szervezetünk különböző fiziológiás mutatói az ébrenléti állapothoz képest. A leglátványosabb változások talán az agyunkban zajlanak. Elalváskor az éber, figyelő egyénre jellemző gyors agyi ritmusokat fokozatosan felváltják az egyre lassuló hullámok. A legmélyebb alvási fázisban az agy neuronjainak jelentős hányada már 1 Hz alatti membránpotenciál-oszcillációt mutat, mely során rövid, néhány száz milliszekundum hosszú, szinaptikus és sejtaktivitásban gazdag periódusok váltakoznak körülbelül ugyanilyen hosszúságú aktivitásmentes szakaszokkal.

A doktori munkám során a természetes lassú hullámú alvásban és bizonyos altatószerek hatására kialakuló lassú hullámú aktivitást (slow-wave activity, SWA) vagy más néven lassú oszcillációt vizsgáltam patkányok agykérgében. Az SWA altatásban, természetes alvás során és nyugodt ébrenlét alatt is regisztrálható, de agykérgi és talamokortikális agyszeleteken, *in vitro* körülmények között is indukálható, valamint különböző nagyságú, a többi agykérgi területtől izolált kérgi szövetrészben (cortical slab) is detektálható, *in vivo*. Az SWA-t az agy több területén is lehet regisztrálni: gyakorlatilag minden neokortikális területen (gliasejtekben és neuronokban), a talamuszban (minden talamokortikális és retikuláris idegsejtben), a hippocampusban, a törzsdúcokban, a cerebellumban és az amigdalában. Továbbá, több agyterületen találhatóak még olyan sejtcsoportok, melyek valószínűleg az SWA hatására maguk is 1 Hz körüli aktivitást mutatnak.

Az SWA-t az idegsejtek membránpotenciáljának két állapot közötti ingadozása hozza létre: egy depolarizált állapot (ahol a membránpotenciál közelebb van a tüzelési küszöb feszültséghez) alternál egy hiperpolarizált állapottal (ahol a membránfeszültség negatívabb az átlagos értékhez képest és gyakorlatilag nem detektálható sejttüzelés). A depolarizált állapotot aktív fázisnak vagy 'up-state'-nek nevezzük, a hiperpolarizált szakaszt pedig inaktív fázisnak vagy 'down-state'-nek hívjuk. Macska vagy patkány agykérgéből lamináris extracelluláris multielektrodával elvezetett agykérgi lokális mezőpotenciál az aktív fázisok alatt a felső kérgi rétegekben pozitív előjelű, míg a mélyebb kérgi rétegekben negatív polaritású. Az inaktív fázisok során fordított helyzet

áll fenn: a kéreg felszínéhez közel negativitás, infragranulárisan pedig pozitivitás figyelhető meg. Az up-state-ek alatt gyorsabb oszcillációk is megjelennek (pl. orsók, gamma ritmus), míg a down-state nem tartalmaz más ritmusokat.

Az SWA egy haladó hullámként is leírható, mely az agykéreg egy adott pontjáról indul és innen különböző irányokba terjed tovább. Ezt a haladó hullám tulajdonságot patkányokban és emberben is megfigyelték. Humán vizsgálatokban kimutatták, hogy az EEG-vel regisztrált lassú hullámok az agykéreg bármely területén kialakulhatnak, és tetszőleges irányban terjedhetnek. Leggyakrabban azonban a frontális területeken jöttek létre, majd anteroposterior irányú terjedéssel a frontális agyi területekről a hátsó kérgi régiók felé haladtak. Hasonló hullámterjedés megfigyelhető volt állatokban is.

A lassú oszcilláció spontán alakul ki altatás alatt és a természetes alvás mélyalvás fázisában, de külső ingerléssel is kiválthatóak a lassú ritmus ciklusai. Kimutatták, hogy a hangingerlés képes vezérelni a lassú oszcillációt a talamuszban, vagyis a lassú oszcilláció frekvenciájához hasonló ütemben érkező hangingerek az esetek nagy százalékában kiváltanak egy-egy up-state-et, és így az SWA fázisai az ingerekhez kötötten alakulnak ki. Az SWA indukálható transzkraniális mágneses ingerléssel és akusztikus ingerléssel emberben, valamint elektromos, optogenetikai, és szomatoszenzoros ingerléssel patkányban. A transzkraniális mágneses ingerléssel kiváltott lassú hullámok mind morfológiájukban, mind terjedési tulajdonságaikban hasonlítanak a spontán lassú hullámokhoz.

A lassú oszcillációt hagyományosan a neokortikális hálózatok által generált ritmusnak tartják. Ennek okai a következők: egyrészt megmarad a neokortexben talamikus roncsolás után is, de megszűnik a talamuszban dekortikáció után. Az intrakortikális szinaptikus kapcsolatok megszüntetése pedig a távoli kérgi területek közötti szinkronizáció megszűnését vonja maga után. Az elmúlt pár év kutatási eredményei azonban megkérdőjelezték az oszcilláció tisztán kérgi eredetét. Többen is rámutattak a talamusz jelentős szerepére az SWA generálásában. Talamikus agyszeleteken is regisztrálhatunk az SWA-hoz hasonló aktivitást, ha a talamokortikális vagy retikuláris neuronok metabotróp glutamát receptorait aktiváljuk. Az egyik hipotézis szerint az SWA kialakulásában három agyi struktúra játszik fő szerepet: a kérgi hálózatok, a talamokortikális idegsejtek, valamint a retikuláris neuronok. Ennek a három, egymástól

független oszcillátornak az együttműködésére van szükség a lassú oszcilláció fiziológias kifejeződéséhez.

Az SWA-nak többek között jelentős szerepe lehet memóriakonszolidációs és szinaptikus plaszticitási folyamatokban, valamint bizonyos alvászavarok is ebben a fázisban alakulnak ki, mint például az alvajárás (szomnambulizmus), vagy az éjszakai felrettenések (pavor nocturnus). Az SWA komplex téridőbeli dinamikát mutat: az agykéregben kialakuló oszcilláció terjed mind horizontálisan a különböző kérgi területek között, mind pedig vertikálisan a kortikális rétegek között, de a talamuszban is megfigyelhetünk terjedést a sejtaktivitás szintjén. A különböző kérgi rétegekben található neuronok más mértékben és más szerepben vehetnek részt az SWA genezisében és szabályozásában, ezért az agykérgi lassú hullámok alatti neuronális aktivitás rétegelemzése új és jelentős folyamatokat fedhet fel.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A lassú hullámú aktivitás jelentős szerepet játszik több élettani folyamatban, mint például a memóriakonszolidációban, ezért az SWA-t létrehozó és fenntartó mechanizmusok megértése fontos feladata az alváskutatásnak és az idegtudománynak.

Korábbi kísérletekben kimutatták, hogy a lassú oszcilláció aktív fázisa legnagyobb valószínűséggel az infragranuláris kérgi rétegekben keletkezik. Azonban léteznek olyan kísérleti bizonyítékok is, melyek arra utalnak, hogy a talamusznak is jelentős szerepe van a lassú hullámok szabályozásában. Ez utóbbi agyi struktúra erőteljes, reciprok összeköttetésben van az agykéreggel: az elsődleges szenzoros kérgi áréak IV. rétegét idegzi be a legnagyobb mértékben, valamint az V. és VI. kortikális rétegekből kap bemenetet. A fentiek alapján valószínűsíthető, hogy az agykéreg bizonyos területein a spontán módon az infragranuláris rétegekben kezdődő up-state-ek mellett a granuláris rétegből is kiindulhatnak up-state-ek, melyek a talamikus aktivitás következményei lehetnek.

A doktori tanulmányaim során ketamin-xylazinnal altatott patkányok agykérgéből regisztrálható lassú hullámú aktivitást vizsgáltam elektrofiziológiai módszerekkel. Az agyi elektromos jelek elemzése során a különböző agykérgi rétegeknek a lassú ritmusban

betöltött szerepét vettem szemügyre, melyet szövettani vizsgálatokkal is igyekeztem alátámasztani.

A fentiek ismeretében kísérleteinkben a következő célokat tűztük ki magunk elé:

1. Meghatároztuk patkányok elsődleges szomatoszenzoros agykérgének törzsi és hátsó lábi régiójából elvezetett, ketamin-xylazin által indukált lassú ritmus generátorainak rétegek közötti eloszlását a lokális mezőpotenciál (LFP), a lokális mezőpotenciál grádiens (GRD), az áramforrás-sűrűség (CSD) és a soksejt-aktivitás (MUA) vizsgálatával. Az aktív fázisokat hosszúság szerint három csoportra osztottuk, annak érdekében, hogy megvizsgáljuk vannak-e hossz-specifikus különbségek az up-state-ek generátorainak rétegek közötti eloszlásában.
2. Meghatároztuk ugyanezekben az agykérgi régiókban a szomatoszenzoros ingerrel kiváltott up-state-ek generátorainak rétegek közötti eloszlását a CSD és a MUA vizsgálatával és összehasonlítottuk ezeket a spontán módon keletkező up-state-ekkel.
3. Megvizsgáltuk, hogy a soksejt-aktivitás alapján mely kérgi rétegekben kezdődhetnek a spontán kialakuló és a szomatoszenzoros ingerléssel kiváltott up-state-ek.

3. MÓDSZEREK

3.1 Műtét és altatás

Az akut kísérleteket felnőtt Wistar patkányokon végeztük ($n = 20$, súly: 308 ± 88 g, $180-460$ g, hímek és nőstények egyenlő arányban). Minden eljárást a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont Kognitív Idegtudományi és Pszichológiai Intézetének etikai bizottsága által felállított szabályzat szerint végeztünk (engedély száma: 22.1/4228/003/2009). A patkányokat intraperitoneálisan adott ketamin-xylazin keverékkel altattuk a testtömegükhöz viszonyított mennyiséggel. A kísérletek során az állatok további ketamin-xylazin adagokat kaptak intramuszkulárisan az altatás megfelelő mélységének fenntartása érdekében. A kraniotómia elkészítése után az

elvezetésekhez használt elektródát a sztereotaxiás célzókészülék mikromanipulátorának segítségével a megfelelő célterület fölé mozgattuk (elsődleges szomatoszenzoros kéreg törzsi (S1Tr) vagy hátsó lábi régiója (S1HL)) és lassú sebességgel beszúrtuk kb. 3 mm mélyre az agyszövetbe.

3.2 *Elektródák és elektrofiziológiai elvezetések*

Az agyi elektromos jelek rögzítéséhez használt multielektroda egy 7 mm hosszú szilícium túból áll, mely 80 μm vastag, 280 μm széles és 24 darab, négyzet alakú (30x30 μm) platina elvezetési kontaktussal rendelkezik. A lineárisan elhelyezkedő elvezetési pontok középpontjai között 100 μm távolság van, az első kontaktus pedig 660 μm távolságra helyezkedik el az elektróda csúcsától. Az állat nyakizmába szúrt két rozsdamentes acél tű szolgált földelő és referencia elektródaként. Az agyi jeleket egy saját készítésű elő- és főerősítővel erősítettük fel (erősítés: 1000, sáváteresztő szűrő: 0.1-7000 Hz), majd az analóg jeleket 24 csatornán, 20 kHz-es mintavételezési frekvenciával mintavételeztük és 16 bites felbontással digitalizáltuk. Az elektromos agyi jeleket egy LabVIEW környezetben készített szoftverrel rögzítettük, majd a kapott fájlokat egy személyi számítógép merevlemezén tároltuk utólagos feldolgozásra. Átlagosan 15 perc hosszúságú regisztrátumokat készítettünk és egy kísérleti alkalommal történő adatgyűjtés körülbelül 3-5 óráig tartott. Több kísérlet esetén az elvezetések után pozitív áramot (1.5 μA) vezettünk át 1-2 percen keresztül három vagy négy, egymástól meghatározott távolságra található kontaktuson léziókat létrehozva a szövetben, a kérgi rétegek határainak későbbi, pontosabb meghatározása érdekében. Az elektróda csúcsától legtávolabb elhelyezkedő kontaktusról nem vezettünk el elektromos aktivitást, az ehhez tartozó 24. csatorna a szomatoszenzoros ingerlés során keletkező ingerimpulzusokat regisztrálta (triggercsatorna). Megvizsgáltuk azt is, hogy vajon befolyásolja-e az elektróda típusa, anyaga vagy geometriája az adatok elemzése és feldolgozása után kapott eredményeket. Ehhez két, a használt szilícium-alapú regisztráló eszköztől eltérő paraméterekkel rendelkező lineáris multielektrodával is elvégeztünk néhány kísérletet (rozsdamentes acél multielektroda: $n = 5$ kísérlet; SU-8 polimer-alapú multielektroda: $n = 4$ kísérlet).

3.3 Szomatoszenzoros ingerlés

Egy saját készítésű léptetőmotoros mechanikus ingerlővel ingereltük az állat törzsén vagy hátsó lábán a bőrt. Az ingerlés paramétereit egy PC-n keresztül lehetett szabályozni egy LabVIEW alapú szoftverrel. Az ingerimpulzusok 50 vagy 100 ms hosszúak voltak. Az ingerlés során több frekvenciát is alkalmaztunk az 1-2 Hz-es tartományban (1, 1.25, 1.5, 2 Hz), a legtöbbször azonban a 1.5 Hz-es ingerlési frekvenciát használtuk, mely megfelel a ketamin-xylazin által indukált lassú hullámú aktivitás általunk mért átlagos csúcshullámfrekvenciájának. Az egyik kísérlet során az ingerlést kvázivéletlen hosszúságú ingerek-közi időintervallumokkal végeztük. A véletlen számok a 0.5-0.7 másodperces időtartományból kerültek ki, ami az 1.43-2 Hz-es frekvenciatartománynak felel meg. Az ingerlő mozgatható vége kb. 5 mm távolságra helyezkedett el az állatok bőrétől és a felhasználó által megadott frekvenciával érintette meg az állat bőrét egy-egy rövid pillanatra, az inger hosszúságától függő szögsebességgel (50 ms – 400°/s, 100 ms – 200°/s). Az ingerimpulzusok időpontja az elektrofiziológiai jelekkel együtt került rögzítésre, egy külön triggercsatornán.

3.4 Hisztológia

A kísérletek végeztével transzkardiálisan perfundáltuk a patkányokat először 100 ml fiziológiás sóoldattal, melyet 300 ml, 4%-os paraformaldehid oldat követett (0.1 M foszfát pufferben, pH = 7.4). Az agyakat eltávolításuk után posztfixáltuk 4 °C-on, 4%-os paraformaldehid oldatban egy éjszakán keresztül. A fixált agyakat ezután vibratómmal (Leica VT1200) lemetszettük 60 µm vastag koronális szeletekre, majd a lemetszett szeletek egy krómzselatinnal feltöltött Petri-csészébe kerültek. Ezt követően a szeleteket tárgylemezre helyeztük, krezilbolyával megfestettük, majd dehidráltuk xilolban. Végül lefedtük őket fedőlemezzel DePex alkalmazásával. A tárgylemezeken található metszeteket egy DP70 digitális kamerával felszerelt Axioplan 2 típusú mikroszkóp alatt lefényképeztük, hogy meghatározhassuk az elektróda által szúrt csatorna helyét és megbecsülhessük, milyen agyterületről vezettünk el, valamint, hogy meghatározhassuk a kérgi rétegek határait. Négy kísérlet során az elektródák hátsó oldalát vörös színű fluoreszcens festékkel (DiI) kentük be, hogy pontosan meghatározhassuk az elektróda csúcshullámfrekvenciájának pozícióját az agyszövetben.

3.5 Adatfeldolgozás

A lassú oszcilláció fázisainak detektálása. Az elvezetett szélessávú jelből (0.1-7000 Hz) megfelelő szűréssel szétválasztottuk az alacsonyabb frekvenciakomponenseket tartalmazó lokális mezőpotenciált (frekvenciatartomány: 0.6-500 Hz) és a soksejt-aktivitást (frekvenciatartomány: 500-5000 Hz). A soksejt-aktivitás kinyeréséhez egy 500 és 5000 Hz közötti fázistolás nélküli sáváteresztő szűrőt használtunk, 24 dB/oktávos meredekséggel. A szűrt jelet egyenirányítottuk, majd a kapott fájlokat alumintavételeztük az eredeti 20 kHz-es mintavételezési rátáról 2 kHz-re. Ezt követően egy további szűrővel kinyertük az egyenirányított MUA jel burkológörbáját (30 Hz-es aluláteresztő szűrő, véges-impulzusválasz, zero-fázistolás, 24 dB/oktáv). Végül a 23 szűrt csatornából kinyert burkológörbék értékeit mintapontonként összeadtuk, mely az intracellulárisan elvezetett lassú oszcillációhoz hasonló görbét eredményezett. Utolsó lépésként egy küszöbértéket számoltunk ki a következőképpen: kiszámoltuk 50 véletlenszerűen kiválasztott (100 ms-nál hosszabb) down-state esetén ezek hosszának felénél található MUA értékek átlagos amplitúdóját (AVG) és a szórását (STD). A detekcióhoz használt küszöbértéket ezt követően $AVG + 3 * STD$ értékre állítottuk be, mellyel megfelelő minőségű MUA jel esetén detektálni tudtuk az up- és down-state-ek kezdőidőpontjait. Az előzetes vizsgálataink és tapasztalataink alapján a detekciós algoritmusban a minimális up-state hosszt 50 ms-ra állítottuk be, míg a legrövidebb down-state-eket 100 ms-nak választottuk. Az up-state-ek kezdő és befejező időpontjai azok a mintapontok lettek, ahol a származtatott burkológörbe metszette a kiszámolt küszöbértéket. Ezeket az időpontokat regisztrátumonként külön fájlokban tároltuk el.

Áramforrás-sűrűség és lokális mezőpotenciál grádiens. A lokális mezőpotenciált szűréssel kaptuk meg az eredeti, szélessávú jelből (0.3–500 Hz-es sáváteresztő szűrő, zero fázistolással és 24 dB/oktáv meredekséggel). A lokális mezőpotenciál grádiens az LFP jel első térbeli deriváltja és a szomszédos elektróda-kontaktusok közötti feszültségkülönbségekből számolható. Az áramforrás-sűrűség az LFP negatív második térbeli deriváltjaként becsülhető meg. Mi a következő hárompontos formulát alkalmaztuk az áramforrás-sűrűség kiszámolására:

$$CSD_j = -(u_{j-1} - 2u_j + u_{j+1})/rh^2,$$

ahol u_j a mezőpotenciál értéke a j -edik kontaktuson μV -ban megadva, r a szövet fajlagos ellenállása $\Omega\cdot\text{cm}$ -ben, h pedig az elektróda kontaktusai közötti távolság ($100\ \mu\text{m}$). Jelen tanulmányban homogén szöveti konduktivitást feltételeztünk. A számítások során mind r és h konstans volt, értéküket az 1 mértékegység nélküli számmal helyettesítettük. A magas térbeli frekvenciákból adódó zajt és a határhatásokat Hamming-ablak alapú simítással és interpolációval csökkentettük.

A különböző kérgi rétegekben induló aktív fázisok detektálása. Az up-state kezdetek pontosabb térbeli lokalizációja érdekében minden csatornán detektáltuk a fáziskezdeteket a kinyert MUA burkológörbéket felhasználva, vagyis ebben az esetben nem adtuk össze a görbék mintapontjait. A kiszámolt küszöbérték minden csatorna esetén az adott csatornán számolt átlagos down-state amplitúdó és egy fix, minden csatornára vonatkozó globális érték összege volt. Mivel a MUA szintje ketamin-xylazin altatás alatt nagyon alacsony az I. és II. kérgi rétegekben, valamint a VI. réteg fehérállományhoz közeli, alsó felében, ezért azokat a csatornákat, melyek ezeknek a területeknek az elektromos aktivitását vezették el, figyelmen kívül hagytuk az elemzés során a pontatlan eredmények elkerülése érdekében. Ez után minden detektált up-state-re meghatároztuk, hogy melyik csatornán (rétegben) indult legkorábban. Az összehasonlításokat mindig egy referencia csatorna up-state-jeihez képest végeztük. Ez a referenciacsatorna mindig a legerősebb és legnagyobb fluktuációt mutató MUA szinttel rendelkező csatorna volt (leggyakrabban az egyik V. rétegi csatorna), ahol az állapotdetekció a legpontosabb eredményt adta. Az összes detektált up-state számának ismeretében meghatároztuk, hogy mekkora valószínűséggel indult egy aktív fázis egy adott rétegből.

Idő-frekvencia analízis. A relatív spektrogramokat wavelet analízissel számoltuk ki a folytonos LFP jelből kivágott epochokból. Az epochok 10 másodperc hosszúságúak voltak, az állapotkezdettel a szakasz közepén. Az alapvonal a 10 mp hosszú szakasz első 500 ms-os része volt. A spektrogramon csak egy 1300 ms hosszú szakasz látható a 10 másodperces szakasz közepéről, ahol 500 ms az adott fázis előtti intervallum, míg a maradék 800 ms hosszú rész az adott fázis kezdete utáni intervallumot tartalmazza.

Szomatoszenzoros ingerléssel kiváltott up-state-ek elemzése. Az ingerléssel kiváltott aktív fázisok kinyeréséhez először detektáltuk az up-state-eket a detekciós algoritmusunkkal. Az ingerek időpontjaiból és a detektált up-state kezdetekből eseménykörüli időhisztogramot (peristimulus time histogram, PSTH) készítettünk, mely

megmutatta a kiváltott aktív fázisok mennyiségét és ezek időbeli késését az ingerkezdetekhez képest. A PSTH mellett fázishisztogramot is készítettünk, mely megmutatta, hogy adott szomatoszenzoros ingerek a lassú oszcilláció mely fázisba estek. A kiváltott up-state-eket az ingert jelző, triggercsatornán látható jel időpontja és az up-state kezdete közötti időkülönbség alapján határoztuk meg. Azokat az up-state-eket tekintettük kiváltott up-state-eknek, melyek 10-60 ms-al az ingerlés időpontja után kezdődtek és minimum 50 ms hosszúságúak voltak. Ezeket az eseményeket kiválogattuk, majd külön elemeztük a kiváltott up-state kezdetéhez kötött CSD és MUA mélységi profilok elkészítése után. Az eredményeket összehasonlítottuk a spontán kialakuló aktív fázisok mélységi profiljaival. Egy adott felvételben minden olyan detektált up-state-et, ami nem felelt meg a kiváltott up-state definíciójának, spontán aktív fázisnak osztályoztunk.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Patkány szomatoszenzoros agykérgéből elvezetett, ketamin-xylazin által indukált spontán lassú hullámú aktivitás fázisainak időtartam szerinti eloszlása

A detekciós algoritmusunk eredményei alapján az átlagos up-state hossz 292.77 ± 111.73 ms-nak adódott (időtartomány: 50-894 ms), míg a down-state-ek átlagosan 305.29 ± 94.17 ms hosszúak voltak (időtartomány: 100-819 ms). Egy teljes lassú oszcillációs ciklus 601.73 ± 162.15 ms hosszú volt átlagosan (időtartomány: 151-1473 ms). Az aktív fázisok hossza alapján három csoportot vizsgáltunk: rövid (50-200 ms), átlagos hosszúságú (200-400 ms) és hosszú (> 400 ms) up-state-eket. A három up-state csoporton kívül analizáltuk még a 200-400 ms-os hossztartományba eső down-state-eket is.

Összesen 56263 up-state-et detektáltunk ($n = 20$ állatból), amiből 35520 (61.77%) eseménynek a hosszúsága esett 200 és 400 ms közé (átlagos hosszúságú up-state-ek). A két másik vizsgált csoportot lényegesen kevesebb up-state alkotta (rövid up-state-ek: $n = 11629$, 20.43%; hosszú up-state-ek: $n = 9114$, 17.8%). A műtermékek eltávolítása és az adatok ellenőrzése után (csak azokat az up-state-eket elemeztük, melyeket legalább 200

ms hosszú down-state-ek követtek és előztek meg) a megmaradt up-state-ek száma kb. 30%-al csökkent ez eredeti értékekhez képest (átlagos hosszúságú: 24513 db (66.6%), rövid: 5434 db (14.8%), hosszú: 6858 db (18.6%)).

Mivel nem találtunk szignifikáns különbséget a szomatoszenzoros kéreg törzsi és hátsó lábi régiójából elvezetett adatok elemzésének eredményei között, ezért a két régió eredményeit összevontuk.

4.2 A vizsgált szomatoszenzoros agykérgi területek rétegeinek vastagsága

Mivel a kérgi rétegek és az elektróda elvezető kontaktusainak kapcsolati viszonyait a szövettan alapján határoztuk meg, ezért a hisztológiai vizsgálatok után megbecsültük, hogy a szövettani protokoll során milyen dorzoventrális, illetve mediolaterális irányú méretbeli változás történt a koronálisan metszett agyszeleteken. A mediolaterális irányban történő méretbeli változások meghatározására több kísérlet során az elvezetések végeztével kihúztuk az elektródát az agyszövetből, majd az első penetráció helyétől párhuzamosan (laterálisan vagy mediálisan) - kimért távolságokra - ismét beszúrtuk és kihúztuk azt, egy új nyomot kialakítva. A lemetszett, tárgylemezre helyezett és kiszárított, azonban még festés előtt álló natív szeleteket lefényképeztük mikroszkóp alatt, amit a Nissl-festés után újra megismételtünk. Az elektróda által létrehozott két nyom közötti távolság alapján meg tudtuk határozni a szövet fixálás utáni, valamint a Nissl-festés utáni mediolaterális méretváltozását. A dorzoventrális iránybeli eltéréseket pedig az elektromos léziók közötti távolság alapján határoztuk meg. A kapott eredmények egy kb. 2-3% nagyságú szöveti duzzadást mutattak, mind a mediolaterális ($2.76 \pm 4.68\%$), mind pedig a dorzoventrális ($2.42 \pm 5.3\%$) tengely mentén. A natív és a Nissl-festett agyszeletek között nem találtunk jelentős méretbeli eltéréseket. Mivel a hisztológiai procedúrák során bekövetkező szöveti változás ilyen kismértékűnek adódott, ezért az elemzéseink során nem alkalmaztunk korrekciós faktort.

A Nissl-festett agykérgi metszeteken aránylag könnyen be lehet azonosítani a hat fő kérgi réteget. Az ebben a tanulmányban vizsgált szomatoszenzoros kérgi régiókban az I. réteget körülbelül $150 \mu\text{m}$ vastagnak mértük (S1Tr: $137 \pm 23 \mu\text{m}$; S1HL: $160 \pm 23 \mu\text{m}$). Ez a réteg egy relatíve világos és sejtekben ritka sáv, melyet a vékony ($\sim 100 \mu\text{m}$), nagy sejtdenzitású II. réteg követ (sötétebb sáv; S1Tr: $88 \pm 20 \mu\text{m}$; S1HL: $95 \pm 16 \mu\text{m}$). A II. réteget gyakran egybevonják a III. réteggel. Utóbbinak átlagos vastagsága ezen a kérgi területen kb. $400 \mu\text{m}$ és főként piramis sejteket tartalmaz (S1Tr: $375 \pm 56 \mu\text{m}$; S1HL: 401

$\pm 59 \mu\text{m}$). A III. réteg alatt található kb. $150 \mu\text{m}$ vastag, sötét sáv a nagyrészt tüskés csillagsejtekből álló talamorecipiens IV. réteg (S1Tr: $146 \pm 29 \mu\text{m}$; S1HL: $143 \pm 18 \mu\text{m}$). Ez alatt helyezkedik el az V. réteg, melyben az összes réteg közül a legnagyobb méretű piramis sejtek találhatóak. Az V. réteget a szomatoszenzoros kéregben két alrétegre oszthatjuk, a vékonyabb és kevesebb sejtet tartalmazó, világosabb, kb. $150 \mu\text{m}$ vastag Va rétegre (S1Tr: $142 \pm 36 \mu\text{m}$; S1HL: $153 \pm 24 \mu\text{m}$), mely elsősorban kisméretű dendritbojttal rendelkező (slender-tufted) piramis sejtet tartalmaz, valamint a kb. $300 \mu\text{m}$ vastagságú, nagyobb sejtsűrűségű Vb rétegre (S1Tr: $300 \pm 59 \mu\text{m}$; S1HL: $347 \pm 64 \mu\text{m}$), mely főként nagyméretű dendritbojttal rendelkező (thick-tufted) piramis sejtet tartalmaz. A VI. réteg, mely legventrálisabban és közvetlenül a fehérállomány felett található, a legvastagabb az összes közül, több mint fél mm-es átlagos vastagsággal (S1Tr: $589 \pm 91 \mu\text{m}$; S1HL: $669 \pm 136 \mu\text{m}$). Szignifikáns különbséget találtunk a két vizsgált terület vastagságában: a hátsó lábhoz tartozó szomatoszenzoros régió átlagosan kb. $200 \mu\text{m}$ -el volt vastagabb a törzsi régióénál (S1Tr vs S1HL; 1777 vs $1969 \mu\text{m}$; $p=0.0009$). Ez a különbség elsősorban az Vb és VI. rétegek közötti méretkülönbségekből adódik (Vb réteg: $300 \mu\text{m}$ vs $347 \mu\text{m}$, $p=0.0243$; VI. réteg: $589 \mu\text{m}$ vs $669 \mu\text{m}$, $p=0.036$).

4.3 A ketamin-xylazin által indukált spontán lassú hullámú aktivitás spektrális tulajdonságai

Saját kísérleteinkben a ketamin-xylazinnal indukált SWA átlagos csúcsfrekvenciája 1.5 ± 0.26 Hz volt, mely valamivel magasabb, mint a macskákban megfigyelt $0.6-1$ Hz-es frekvenciatartomány, azonban megfelel más csoportok által patkányokban talált eredményeknek. A csúcsfrekvenciák minden esetben 1 és 2 Hz között helyezkedtek el (tartomány: $1.098-1.952$ Hz). Az LFP-ből számolt teljesítményprofilon megfigyelhető, hogy az SWA spektrális teljesítménye viszonylag egyenletesen oszlott meg a rétegek között (egy I. rétegi és egy V. rétegi csúccsal), míg a gradiens jel teljesítményprofilján két nagyobb csúcs volt látható: az első a II.-IV. rétegekben található, míg a második, kisebb csúcs a VI. rétegben helyezkedett el. Az up-state kezdetekhez kötött epochokból számolt relatív spektrogramok erős teljesítménynövekedést mutattak az aktív fázisok alatt a $0.6-100$ Hz-es frekvenciasávban, míg a down-state-ek alatt teljesítménycsökkenés volt látható, mely megfelel a szakirodalomban található adatoknak.

4.4 A lassú hullámú aktivitás szomatoszenzoros kérgi rétegek közötti korrelációja és koherenciája

A lassú hullámok hullámalakjainak rétegek közötti hasonlóságát a csatornák közötti korreláció és a 0.3-3 Hz-es sávban számolt koherencia kiszámolásával vizsgáltuk. Az LFP-t vizsgálva a szomszédos vagy egymáshoz közel elhelyezkedő csatornák között a korreláció és koherencia magas értékeket eredményezett, egymástól távolabb elhelyezkedő csatornák között pedig alacsonyabb értékeket. Ez azt jelzi, hogy az LFP fokozatosan változik a távolság függvényében. A GRD-nél számolt korreláció és koherencia-értékek alapján azt találtuk, hogy a szupragranuláris kérgi rétegek között erősebb kapcsolat van, de magas a két számolt mennyiség értéke a VI. réteg és a szupragranuláris I.-III. rétegek között is. Hasonló eredményeket láttunk minden kísérletnél. A legkisebb értékeket az V. réteg és a szupragranuláris rétegek között kaptuk.

4.5 A spontán kialakuló, átlagos hosszúságú aktív fázisok lamináris mélységi profilja a szomatoszenzoros kéregben

Az up-state kezdetek meghatározása után a folytonos jelekből 1300 ms hosszú szakaszokat vágtunk ki, melyek 500 ms hosszú részt tartalmaztak a detektált fáziskezdetek előtt és egy 800 ms hosszú szakaszt utána. A 0 ms-os időpont jelölte az up-state kezdetet. Mind az LFP-re, mind a MUA-ra és két származtatott jelre (GRD, CSD) kiszámoltuk az up-state kezdethez kötött átlagokat. Az átlagolt görbékből a szomszédos csatornák értékeinek térbeli interpolálásával hőterképeket készítettünk. Az up-state kezdetekhez kötött főátlagok esetén az aktív fázisok két részét vizsgáltuk: az up-state elejét (25-50 ms-os szakasz) és up-state közepét (125-175 ms-os szakasz). A normalizált főátlagok kiszámításához átlagoltuk ezeket a szakaszokat, majd az időbeli átlagokat az egy rétegbe tartozó csatornák szerint is átlagoltuk. Az így kapott értékeket normalizáltuk, végül a kísérletek között is átlagoltunk, megkapva a főátlagot. Ezeket az LFP, GRD, CSD és MUA jelekre egyaránt kiszámoltuk. A MUA értékek pontosabb meghatározása érdekében kiszámoltuk az egyes csatornához tartozó zajszintet, melyet a down-state-ek alatti aktivitás-mentes tartományból becsültünk. A zaj értékét utána levontuk a MUA átlagokból.

A lokális mezőpotenciál mélységi profilján az up-state elejét negatív potenciál jellemezte, IV. rétegi csúccsal, mely csak a VI. rétegben fordult át pozitivitásba. Röviddel

az első 50 ms után a felső rétegekben az up-state már pozitív polaritásra váltott. Az aktív fázis közepén a polaritásváltás valahol a II.-III. rétegek között található. Az ezek alatt elhelyezkedő rétegekből már negatív amplitúdójú up-state-eket vezetünk el. Ebben az időtartományban (125-175 ms) voltak megfigyelhetőek az LFP jelek maximális amplitúdóértékei is. A gradiens jelet megvizsgálva azt találtuk, hogy az up-state elején egy pozitív polaritású, II. rétegbeli csúcs fordul át negatívba a III.-IV. rétegben, melynek legmagasabb értéke az V. rétegben található. Az aktív fázis közepén ez a mély rétegi negativitás pozitívításba váltott át, csupán az V. réteg alján és a VI. rétegben maradt a gradiens kismértékben negatív. A CSD mélységi profilja egy nagykiterjedésű és erős áramnyelőt mutatott az up-state elején, főként a III. és IV. rétegekben, valamint az V. réteg felső szegmensében. Ezt a - feltehetőleg aktív - áramnyelőt két passzív áramforrás vette körül, egy erősebb az I. rétegben, a kéreg tetején és egy gyengébb a VI. rétegben, a kéreg alján. Az átlagolt CSD profilokon a mély kérgi áramforrás az up-state közepére megszűnt, míg a felső, I. rétegi áramforrás kitartott az up-state végéig. Az áramnyelő amplitúdója lecsökkent és az up-state előrehaladtával a mélyebb kérgi rétegek felé tolódott. Az up-state kezdetekhez kötött átlagokon vizsgált MUA mélységi profilján azt találtuk, hogy a legnagyobb mértékű populációs aktivitás az V. kérgi rétegben alakult ki (azon belül is az Vb alrétegben) és az aktivitás erőssége fokozatosan csökkent mind a ventrális, mind pedig a dorzális irány mentén. Az I. és II. rétegekben a kísérletek többségében csak minimális mértékű sejtaktivitás volt detektálható. A populációs aktivitás az idő előrehaladtával is csökkent: az up-state elején körülbelül 30%-al volt erősebb a sejtaktivitás minden rétegben, mint az up-state közepén mért aktivitás. Az up-state-ek alatt az LFP jelek spektrális teljesítményében minden rétegben szignifikáns teljesítménynövekedést találtunk az 1-100 Hz-es frekvenciatartományban az up-state-eket megelőző down-state-ekhez képest. A másik két típusú elektródával (rozsdamentes acél és SU-8 polimer multielektroda) végzett kísérletek adatainak elemzése során hasonló mintázatú mélységi profilokat kaptunk, mint a szilícium elektródával regisztrált jelek analízisével. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy a kísérletekhez használt mérőelektroda típusa nincs jelentős hatással a kapott eredményekre.

Mind a CSD, mind pedig a MUA is arra utal, hogy az up-state első 50 ms-os szakasza során a legerősebb az aktivitás, mely aztán az idő előrehaladtával csökken. Az up-state közepe utáni csökkenés viszont részben már a különböző hosszúságú up-state-

ek összeátlagolásának következménye. A spontán kialakuló aktív fázisok elejét megvizsgálva azt láttuk, hogy átlagosan az V. kérgi rétegben indult el lefelől a sejtaktivitás, melyhez egy gyenge áramnyelő társult. A soksejt-aktivitás innen terjedt tovább a szupragranuláris és infragranuláris rétegek irányába. Néhány kísérlet esetén azonban az átlagolt MUA IV. rétegi indulást mutatott, és a legkorábbi áramnyelő is ebben a rétegben volt megfigyelhető. Utóbbi kísérleteket általában nagymértékben szinkronizált, ritmikus orsó aktivitás jellemezte az aktív fázisok alatt.

4.6 A rövid és hosszú spontán aktív fázisok lamináris mélységi profilja

A rövid és hosszú spontán kialakuló aktív fázisok mélységi profiljainak elemzése során csak minimális kvantitatív különbségeket találtunk az átlagos hosszúságú up-state-ek elemzése során bemutatott eredményekhez képest. A sejtaktivitás és a CSD mintázatai is hasonlóak voltak a 200-400 ms hosszú up-state-eknél látottakhoz, mind az aktív fázis elején, mind pedig az aktív fázis közepén. Mind a rövid, mind a hosszú up-state-ek kezdeteihez kötött, átlagolt mélységi profilokon megfigyelhető a forrás-nyerő-forrás konfiguráció az up-state elején, bár a rövid up-state-ek esetén a mély kérgi áramforrás valamivel kisebb intenzitású, mint az átlagos és a hosszú up-state-eknél megfigyelt. Az átlagos hosszúságú aktív fázisokhoz hasonlóan a rövidnek és hosszúnak minősített aktív fázisok is egy V. rétegi áramnyelővel kezdődtek az esetek többségében, valamint a sejtaktivitás is ebben a rétegből indult és terjedt a kéreg felszíne és alsó része felé.

4.7 A spontán kialakuló down-state-ek rétegelemzése

A spontán kialakuló down-state rétegelemzése során a legnagyobb különbséget a sejtaktivitásban találtuk. Az irodalmi adatoknak megfelelően a down-state során egyik rétegben sem volt detektálható sejtaktivitás, sem a down-state elején, sem a down-state közepén. A down-state kezdetéhez kötött, átlagolt CSD mélységi profil alapján először a III.-IV. rétegekben jelent meg egy áramforrás, melytől ventrálisan egy áramnyelő helyezkedett el. Néhány milliszekundummal a down-state kezdet után ezt az áramforrás-áramnyelő párt egy további agyfelszíni áramnyelő egészítette ki, mely a down-state során végig megmaradt. A mély kérgi áramnyelő az inaktív fázis közepén már nem volt látható, a granuláris réteg területén kialakuló áramforrás pedig fokozatosan lejjebb húzódott a mélyebb rétegekbe.

4.8 A szomatoszenzoros ingerléssel kiváltott up-state-ek rétegelemzése

Szomatoszenzoros ingerlést végeztünk az állatok törzsének és hátsó lábának különböző területein a lassú oszcilláció frekvenciájának megfelelő ingerlési frekvenciával annak érdekében, hogy megvizsgáljuk a kiváltott up-state-ek alatt kialakuló áramok és sejtaktivitás rétegek közötti eloszlását. Az ingerlések rövid, kb. 50 ms hosszúságú kiváltott válaszokat eredményeztek egy korai erős áramnyelővel a III.-IV. rétegekben, melyhez egy felszíni és egy V. rétegi áramforrás, valamint nagymértékű sejtaktivitás társult, IV. rétegi indulással. A szomatoszenzoros ingerlés eredményeként megfigyelt kiváltott up-state-eket egy nagy csúcs indikálta a PSTH-n, kb. 15-30 ms-al az ingeradás után. A fázishisztogramon is a kiváltott up-state-ekre utaló csúcsot figyeltünk meg: az adott ingerek nagy hányada közvetlen az up-state-ek kezdete előtt volt látható. Az ingerek körülbelül harmada-negyede ($25.49 \pm 7.29\%$) váltott ki up-state-et és több esetben akár másodperceken keresztül vezérelte a lassú oszcillációt (vagyis az egymást követő up-state-eket mind egy-egy szomatoszenzoros stimulus váltotta ki). Vizsgálataink azt mutatták, hogy a detektált kiváltott up-state-ek száma csökkent, amennyiben távolabb ingereltünk attól a helytől, ahol a legerősebb kiváltott szomatoszenzoros MUA válaszokat kaptuk.

A kiváltott up-state-eket a spontán kialakuló up-state-ekhez hasonlóan elemeztük, vagyis az aktív fázisok alatt kialakuló áramok és sejtaktivitás lamináris eloszlását vizsgáltuk: összehasonlítottuk a kiváltott aktív fázisok mélységi profiljait a spontán kialakuló up-state-ek mélységi profiljaival. Az up-state elején kialakuló áramok és sejtaktivitás szignifikánsan erősebb volt a kiváltott up-state-ek esetében. Ezt valószínűleg a kiváltott választ létrehozó, a mérőelektrodához közel elhelyezkedő neuronpopuláció szinkron aktivitása okozhatta. A spontán esetben - az aktív fázisok elején - megfigyelt forrás-nyelő-forrás konfigurációt kiváltott up-state-ek esetében egy további, erős V. rétegi áramforrás egészítette ki, mely közvetlenül a markáns III.-IV. rétegi áramnyelő alatt volt megfigyelhető. A soksejt-aktivitás a kiváltott up-state-ek elején minden rétegben szignifikánsan erősebb volt a spontán up-state-ekben látottakhoz képest, és általában a IV. rétegben kezdődött. A legkorábbi áramnyelő a III.-IV. rétegben volt látható. Az első 50 ms után a kiváltott up-state-ek időbeli lefutása hasonló volt, mint amit a spontán up-state-ek esetén megfigyeltünk.

4.9 Az up-state-ek alatti sejtaktivitás agykérgi rétegek közötti indulásának vizsgálata

Spontán up-state-ek vizsgálata esetén a sejtaktivitás az up-state kezdetéhez kötött átlagokon a legtöbb kísérlet esetén a nagy piramissejteket tartalmazó Vb rétegben kezdődött, míg a kísérletek kb. ötödénél és a kiváltott up-state-ek esetén a talamorecipiens IV. rétegben láttuk a legkorábbi MUA-t. Ezeknek az eredményeknek a tükrében megvizsgáltuk a spontán módon kialakuló up-state-ek alatti sejtaktivitás indulásának rétegek közötti eloszlását.

Az alkalmazott állapotdetekciós módszerrel a legtöbb csatornán megfigyelhető volt korai MUA (kivételesen az I. és II. rétegben elhelyezkedő csatornákon, mivel ott a sejtaktivitás szintje alacsony volt), de volt néhány réteg, ahol az up-state-ek alatti sejtaktivitás korai indulásának valószínűsége jelentősen nagyobb volt a többi réteghez képest. Spontán esetben az aktív fázisok alatti MUA a legtöbb vizsgált állatban a legnagyobb valószínűséggel (> 50%) az Vb rétegben indult. Több kísérletünk során azonban nagyszámú, IV. rétegben detektált korai MUA-t detektáltunk (> 20%), sőt, némely esetben, a IV. rétegből induló események száma nagyobb volt, mint az V. rétegből kiinduló sejtaktivitást mutató up-state-ek száma.

Megvizsgáltuk azt is, hogy vajon hogyan változnak meg a spontán esetben mért MUA-indulási valószínűségek rétegek közötti eloszlása ingerlés hatására. Eredményül azt kaptuk, hogy a spontán elvezetésekhez képest ingerlés során jelentős mértékben megnőhet a IV. rétegben detektált korai sejtaktivitás száma, míg ezzel egyidejűleg az V. rétegből induló up-state-ek mennyisége jelentősen lecsökkenhet. A IV. rétegből induló up-state-ek nagy többsége kiváltott up-state volt.

Az eredményeink alapján tehát azt találtuk, hogy az up-state-ek alatti sejtaktivitás minden vizsgált rétegből kiindulhat, de főként a IV. és Vb rétegekben kezdődik. A többi rétegből (III., Va és VI. rétegek) kiinduló up-state-ek száma viszonylag alacsony volt.

Ezt követően különválogattuk azokat az aktív fázisokat, melyek a MUA alapján a IV. és az Vb rétegekből indultak, majd kiszámoltuk az up-state kezdetéhez kötött, átlagolt CSD és MUA mélységi profiljaikat. Az Vb rétegből induló, up-state kezdetéhez kötött, átlagolt MUA mélységi profilon jól látszódik a sejtaktivitás Vb rétegi indulása, mely aztán továbbterjed, először elérve VI., majd a IV., végül pedig a III. kérgi réteget. A CSD mélységi profilon egy gyenge, korai áramnyelő látható az V. rétegben, amit kb. 20 ms

múlva egy erősebb áramforrás-áramnyelő dipólus követ a granuláris és szupragranuláris rétegekben. Ezek megfelelnek a spontán up-state-ekből elkészített mélységi profilokon látható mintázatoknak, melyeket a korábbi fejezetekben bemutatattam.

Az esetek többségében a spontán elvezetésekben a detektált, IV. rétegből induló up-state-ek száma alacsony volt. A IV. rétegből induló MUA a terjedése során először elérte a III. réteget, majd az V.-et, legvégül pedig a VI. rétegre terjedt át az aktivitás. A IV. rétegi indulás ellenére a legnagyobb amplitúdójú sejtaktivitás ebben az esetben is az V. rétegben tapasztalható. A legkorábbi áramnyelő a III. réteg alján és a IV. rétegben volt látható, a sejtaktivitás kezdete pedig a IV. rétegre tehető.

5. KÖVETKEZTETÉSEK

Jelen tanulmány egyik célja az altatott patkányon kapott eredmények összehasonlítása volt a kutatócsoportunk egy másik, embereken végzett tanulmánya során kapott eredményekkel. Up-state alatt patkányban és gyógyszerrezisztens epilepsziás betegekben is egy nagy pozitívás figyelhető meg a szupragranuláris rétegekben a lokális mezőpotenciál gradiens mélységi profilján. Ennek a csúcsa mindkét esetben a II. kérgi rétegben helyezkedett el. Míg azonban patkányban az infragranuláris rétegekben a grádiens az up-state elején a negatív amplitúdók dominálják, mely az up-state második felében már pozitív értékeket vesz fel, addig humánban nem látható szignifikáns aktivitás a mély kérgi rétegekben. Az áramforrás-sűrűség mélységi profiljának szupragranuláris szegmense hasonló mintázatot mutatott mindkét vizsgált fajban: egy markáns forrásnyelő pár található a felső rétegekben. Az áramforrás az I. rétegben helyezkedett el patkányban és emberben egyaránt, azonban az áramnyelő térbeli kiterjedése patkányban nagyobb, az V. réteg felső részében is detektálható, ellentétben a humán CSD-vel, ahol a nyelő csak a IV. kortikális réteg tetejéig terjedt. Az infragranuláris rétegekben ismét jelentős különbségeket láthatunk állat és ember között. Míg humánban nem folynak erősebb áramok a IV.-VI. rétegekben, addig patkányban ketamin-xylazin narkózisban az up-state elején a felső forrásnyelő párt egy további, VI. rétegi áramforrás egészíti ki. Az up-state közepére a mély áramforrás helyét egy gyenge áramnyelő veszi át, míg a befelé folyó ionáramok sávja lejjebb húzódik az V. réteg alsó részébe. A soksejt-aktivitás mélységi profiljain jól látható, hogy emberben az I. réteg kivételével minden rétegben szignifikáns sejtaktivitás detektálható, mely a középső rétegekben a legerőteljesebb (III.

rétegi csúccsal és egy V. rétegi lokális maximummal). Patkányban a helyzet jelentősen különbözik: a legnagyobb mértékű sejtaktivitás az V. rétegben regisztrálható, a többi réteg aktivitása a IV. rétegbeli MUA kivételével alacsony. A megfigyelt eltéréseket több különböző faktor együttes hatása alakíthatja ki. Befolyásoló tényező lehet például a különböző vizsgált kérgi területek eltérő citoarchitektúrája (szomatoszenzoros kéreg patkányban vs. frontális vagy parietális kérgi területek emberben), a természetes alvás és az altatás közötti különbségek vagy akár a filogenetikai különbségek is (fejlettebb szupragranuláris rétegek emberben). Természetesen nem zárható ki teljesen annak a lehetősége sem, hogy a humán mélységi profilokon megfigyelt különbségek egy része patológiás eredetű.

Az általunk kapott eredmények sok tekintetben hasonlóak voltak más kutatócsoportok által különböző állatfajokon (macska, egér, patkány) kapott eredményekhez. A kinyert mélységi profilok különböző agyi területek között (hallókéreg, szomatoszenzoros kéreg) és különböző állapotokban (természetes alvás, ketamin-xylazin vagy uretán narkózis) is nagyfokú hasonlóságokat mutattak (domináns V. rétegi sejtaktivitás, áramnyelő a középső rétegekben és áramforrás az agyfelszínhez közel, illetve a mélyebb rétegekben), azonban jelentős különbségek is előfordultak.

A kísérletsorozatunk során a populációs aktivitás elemzésével azt találtuk, hogy a lassú oszcilláció spontán aktív fázisai alatti MUA a kéreg bármely rétegéből kiindulhatott, azonban legnagyobb valószínűséggel az Vb és IV. kérgi rétegekből indult. Mivel a szomatoszenzoros kéregben a IV. réteg a fő talamorecipiens réteg, ezért jogosan feltételezhetjük, hogy az itt detektált korai MUA valójában a talamokortikális sejtek aktivitásának eredményeképpen jött létre, vagyis ezeket az up-state-eket a talamusz indította el. Ez a talamusz SWA generálásában betöltött fontos szerepét támasztja alá.

A nagyszámú, IV. rétegből induló up-state viszont a kísérletek csak egy kis hányadában (kb. ötödében) volt megfigyelhető, a többi esetben az up-state-ek többsége (több mint a fele) V. rétegi indulást mutatott. A kapott eredmények egyik lehetséges magyarázata, hogy az állat légzése során a hasi bőrfelület egy része folyamatosan és ritmikusan ingerlődik, ami aktiválja a talamuszon keresztül a szomatoszenzoros kéreg törzsi régiójában található IV. rétegi neuronokat, vagyis ezek a spontánnak tekintett IV. rétegi up-state-ek valójában szomatoszenzoros ingerléssel kiváltott aktív fázisok.

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

6.1 *Az értekezés témáját adó saját közlemények*

Márton G, Orbán G, Kiss M, Fiáth R, Pongrácz A, Ulbert I. (2015) A multimodal SU-8 platinum – polyimide microelectrode array for chronic in vivo neurophysiology. PLoS One, 10: e0145307

Fiáth R, Kerekes BP, Wittner L, Tóth K, Beregszászi P, Horváth D, Ulbert I. (2016) Laminar analysis of the slow wave activity in the somatosensory cortex of anesthetized rats. Eur J Neurosci, 44: 1935-1951.

6.2 *Az értekezés témájától független közlemények*

Grand L, Pongrácz A, Vázsonyi E, Márton G, Gubán D, Fiáth R, Kerekes BP, Karmos G, Ulbert I, Battistig G. (2011) A novel multisite silicon probe for high quality laminar neural recordings. Sensors Actuat A-Phys, 166: 14-21.

Torfs T, Aarts AAA, Erismis MA, Aslam J, Yazicioglu RF, Seidl K, Herwik S, Ulbert I, Dombovári B, Fiáth R, Kerekes BP, Puers R, Paul O, Ruther P, Van Hoof C, Neves HP. (2011) Two-dimensional multi-channel neural probes with electronic depth control. IEEE Trans Biomed Circuits Syst, 5: 403-412.

Héja L, Nyitrai G, Kékesi O, Dobolyi Á, Szabó P, Fiáth R, Ulbert I, Pál-Szenthe B, Palkovits M, Kardos J. (2012) Astrocytes convert network excitation to tonic inhibition of neurons. BMC Biol, 10: 26.

Márton G, Fekete Z, Fiáth R, Baracskaý P, Ulbert I, Juhász G, Battistig G, Pongrácz A. (2013) In vivo measurements with robust silicon-based multielectrode arrays with extreme shaft lengths. IEEE Sensors J, 13: 3263-3269.

Dombovári B, Fiáth R, Kerekes BP, Tóth E, Wittner L, Horváth D, Seidl K, Herwik S, Torfs T, Paul O, Ruther P, Neves HP, Ulbert I. (2014) In vivo validation of the electronic depth control probes. Biomed Tech (Berlin), 59: 283-289.

Kárász Z, Fiáth R, Földesy P, Vazquez A. (2014) Tunable low noise amplifier implementation with low distortion pseudo-resistance for in vivo brain activity measurement. IEEE Sensors J, 14: 1357-1363.