

MTA Doktori Értekezés

**Fiziológiás és pathológiás állapotfüggő agyi aktivitások
mechanizmusai**

Dr. Lőrincz László Magor

SZTE TTIK Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék



2022

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke.....	3
2. Köszönetnyilvánítás	5
3. Bevezetés és irodalmi háttér	6
3.1 Az állapotfüggő agyi aktivitás	6
3.2 A thalamokortikális rendszer	7
3.2.1 A thalamokortikális rendszer anatómiája.....	8
3.2.2 A thalamokortikális neuronok fiziológiája.....	9
3.3 A thalamokortikális rendszer fiziológiás oszcillációi	10
3.3.1 α (8-13 Hz) és θ (4-7 Hz) oszcillációk.....	10
3.3.2 Lassú (< 1 Hz) oszcillációk.....	12
3.3.3 Infralassú (< 0.1 Hz) oszcillációk	14
3.4 A thalamokortikális rendszer működésének neuronális szabályzása.....	14
3.5 A thalamokortikális rendszer patológiás oszcillációi.....	15
3.5.1 Az absence epilepszia túskehullám kisülései	15
3.5.2 A túske-hullám kisülések mechanizmusai	18
4. Célkitűzések.....	20
5. Anyagok és módszerek	21
5.1 <i>In vitro</i> elektrofiziológia	21
5.2 Szimultán egysejtaktivitás mérés és lokális anyagbeadás szabadon mozgó állatokban 22	
3.3 Extra- és intracelluláris regisztráció szövetszövetben, altatott és éber állatokban.....	22
3.4 Gyors, specifikus stimuláció optogenetikai módszerrel.....	24
3.5 Pupilometria	25
3.6 Farmakológia	25
3.7 A regisztrált neuronok azonosítása	25
3.8 Agyi állapotok meghatározása.....	26
6. Eredmények és következtetések.....	27
6.1 A fiziológiás agyi állapotok mechanizmusai és szerepei	27
6.1.1 A spontán thalamokortikális aktivitás állapotfüggése.....	27
6.1.2 Thalamikus α oszcillációk generálásának mechanizmusai.....	34
6.1.3 Thalamikus α oszcillációk lehetséges szerepei.....	44
6.1.4 A thalamikus infralassú oszcillációk generálásának mechanizmusai	49
6.1.5 A kérgi lassú oszcilláció sejtspecifikus aspektusai	51
6.1.6 A szerotonin szerepe a szaglókérgi információfeldolgozásban	59

6.1.7	A szerotonin sejt-specifikus szerepei a szaglókéregben.....	65
6.1.8	A raphe-hipotalamikus kölcsönhatások szerepe az ébrenlétben	68
6.2	A patológiás agyi állapotok mechanizmusai és szerepei a thalamokortikális rendszerben.....	70
6.2.1	Az absence rohamok generálásának thalamokortikális mechanizmusai.....	70
6.2.2	Az intrinszek thalamokortikális mechanizmusok szerepei.....	74
7.	Összefoglalás	76
7.1	A thalamokortikális neuronok tüzelési módjai	76
7.2	A sejt-specifikus állapotfüggő thalamikus aktivitás	77
7.3	Az α hullámok keletkezésének thalamikus mechanizmusai.....	78
7.4	Az α hullámok lehetséges szerepei.....	80
7.5	Az infralassú oszcillációk thalamikus mechanizmusai	81
7.6	A kolinerg rendszer szerepe az alvási lassú oszcillációban.....	82
7.7	Szerotonerg neuromoduláció a szaglókéregben.....	83
7.8	A laterális hipotalamusz és a raphe magok közötti interakció szerepe az ébrenlétben	85
7.9	Az absence epilepsziás rohamok keletkezésének intrinszek és szinaptikus mechanizmusai a thalamuszban.....	86
8.	Irodalom.....	88
8.1	Az értekezés alapjául szolgáló jelölt saját közlemények jegyzéke	88
8.1.1	Eredeti közlemények	88
8.1.1	Összefoglaló közlemények, könyvfejezetek a témából.....	89
8.2.	Az értekezés általános irodalomjegyzéke.....	90

1. Rövidítések jegyzéke

5-HT: 5-hidroxitriptamin, szerotonin

A2AR: adenzin A2A receptor

ACh: acetilkolin

AChR: acetilkolin receptor

aCSF: artificial cerebro spinal fluid

ADP: afterdepolarizing potential (utódepolarizációs potenciál)

AÉ: aktív ébrenlét

AÉC: alvás-ébrenléti ciklus

AMPA: 2-amino-3-(5-metil-3-oxo-1,2-oxazol-4-il) propánsav

aPC: anterior piriform cortex

ATP: adenzin trifoszfát

BEA: bazális előagy

BO: bulbus olfactorius

Cch: karbakol

CGL: corpus geniculatum laterale

ChR2: channelrhodopsin

CGL: corpus geniculatum laterale

CS: colliculus superior

DA: dopamin

DMH: dorsomediális hipotalamusz

DnPGi: dorzális paragigantocelluláris mag

DR: dorzális raphé magvak

EEG: elektroencefalogram

GABA: gamma amino vajsav

GAERS: Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg

GP: griseum pontis

HT: high threshold, magas küszöbű

ILO: infralassú oszcilláció

KA: kainát

LA: lassú hullámú alvás

LC: locus coeruleus

LFP: local field potential, lokális mezőpotenciál

dc_1964_21

LH: laterális hipothalamusz

LTD/PPT: nucleus tegmentalis posterolateralis / nucleus tegmentalis pedunculopontinus

LT: low threshold, alacsony küszöbű

LTS: low threshold spike, alacsony küszöbű akciós potenciált

mAChR: muszkarinikus acetilkolin receptor

MD-Thal: mediodorzális thalamus

mGluR: metabotróp glutamát receptor

NA: noradrenalin

N. Acc: nucleus accumbens

NMDG: N-metil D-glukonát

nRT: nucleus reticularis thalami

NTM: nucleus tuberomamillaris

NyÉ: nyugodt ébrenlét

PA: paradox alvás

PBN: nucleus parabrachialis

PFZ: parafaciális zóna

PPT: nucleus tegmentalis pedunculopontinus

RMTg: nucleus tegmentalis rostralis

S1: elsődleges szomatoszenzoros kéreg

S2: másodlagos szomatoszenzoros kéreg

SLD: nucleus sub-laterodorsalis

STG: Stargazer

SuM: nucleus supramamillaris

TC: thalamokortikális

TO: tractus olfactorius

V1: elsődleges vizuális kéreg

VLPO, ventrolaterális preoptikus terület

VTA: ventrális tegmentalis area

VIPAG: ventrolaterális periaqueductalis szürkeállomány

ZI: zona incerta

2. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretném megköszönni mentoraimnak – Vincenzo Crunelli-nek, Stuart Hughes-nak, Zach Mainen-nek és Juhász Gábornak – az évek során nyújtott önzetlen és feltétlen szakmai és emberi támogatást.

Hálásan köszönöm egykori és mostani munkatársaimnak – Ying Bao-nak, Furdan Szabinának, Győri Fanninak, Eran Lotten-nek, Mészáros Ádámnak, Molnár Benedeknek, Piszár Ildikónak, Raffai Timeának, Sere Péternek és Zsigri Nikolettnek –, hogy munkájukkal közvetlenül hozzájárultak közösen elért kutatási eredményeinkhez.

Hálásan köszönöm együttműködő partnereinknek – Acsády Lászlónak, Berényi Antalnak, Antoine Adamantidis-nak, Mátyás Ferencnek, Tamás Gábornak és Záborsky Lászlónak –, hogy tudásukkal, kemény munkájukkal nagymértékben hozzájárultak kutatási eredményeink létrejöttéhez. Köszönettel tartozom mindenkori kollégáimnak – Ábrahám Istvánnak, Molnár Gábornak, David Cope-nak, Oláh Gáspárnak, Barabás Klaudiának, Szegő Évának, Zoe Atherton-nak, Szepesi Zsuzsának, Kocsis Katalinnak, Averkin Robernek, Szemenyei Viktornak –, hogy segítségükre mindig számíthattam.

Hálásan köszönöm az SZTE ÁOK Élettani Intézet vezetőjének, Sáry Gyulának, valamint az SZTE TTIK Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék egykori és mostani vezetőinek, Toldi Józsefnek és Varga Csabának, hogy kutatói és oktatói munkámat támogatták.

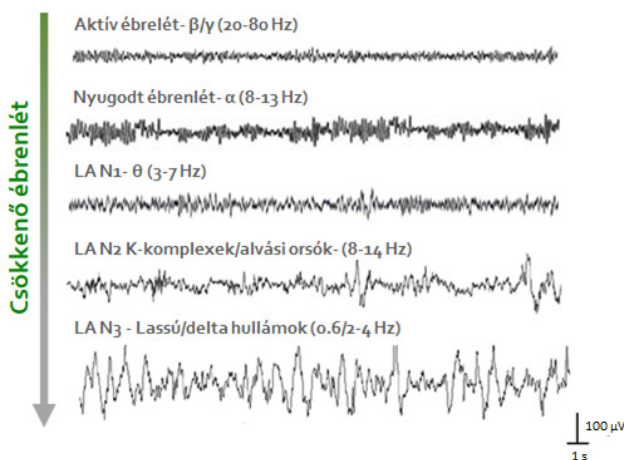
Köszönöm barátaimnak – Ákosnak, Gergőnek, Gobecnek és Sándornak –, a mindenkori feltétlen támaszt és szeretetet.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni a családomnak: a feleségemnek, Évának, hogy mindig mellettem áll, a gyermekeinknek – Jankának, Lujzinak és Klárinak – pedig azt a rengeteg szeretetet és melegséget, ami minden árnyat láthatatlanná tesz. Köszönöm szépen Édesapámnak és Édesanyámnak az évek során kapott feltétlen szeretetet és támogatást. Sajnos Édesapám nem élhette meg a jelen dolgozat létrejöttét; ezt a munkát az Ő emlékének ajánlom.

3. Bevezetés és irodalmi háttér

3.1 Az állapotfüggő agyi aktivitás

Már a korai elektroencefalogram (EEG) regisztrációk során felfigyeltek arra a tényre, hogy az agyi elektromos aktivitás állapotfüggő. Hans Berger megfigyelte, hogy a szem lehunyását követő nyugodt ébrenléti állapotban az okcipitális EEG-n 8-12 Hz frekvenciájú hullámok jelennek meg, amelyeket elsőrendű, vagyis α hullámoknak nevezett el, feszült figyelem esetén viszont egy kisebb amplitúdójú, de nagyobb frekvenciájú aktivitás dominál

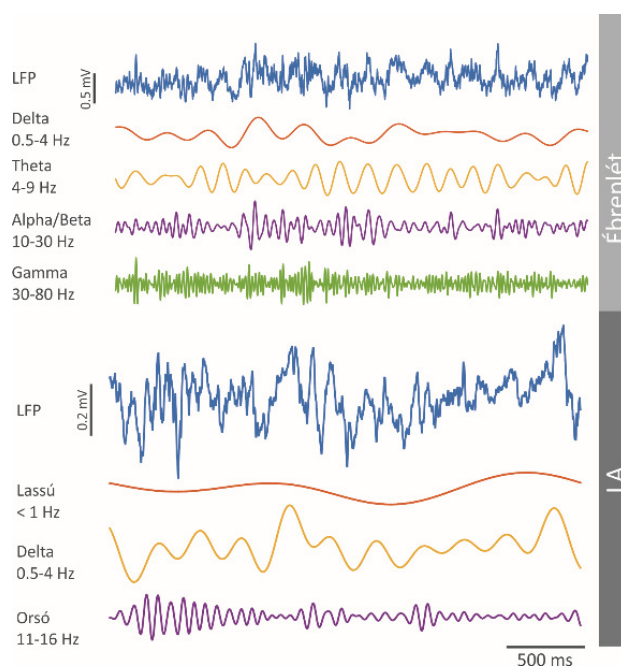


1. ábra. A humán EEG állapotfüggése. A regisztrált EEG hullámok domináns frekvenciája és amplitúdója az AÉC különböző szakaszai során változik. Részletek a szövegben. Az ábra (Horne, 1988) -as könyvében megjelent ábra módosított változata.

(Berger, 1929). Az alvás-ébrenléti ciklus (AÉC) különböző fázisaiban regisztrált EEG hullámok számottevő eltérést mutatnak a különböző állapotok között (**1. ábra**). Általában elmondható, hogy a különböző EEG hullámok amplitúdója növekedik, frekvenciája pedig csökken az ébrenlét csökkenésével (**1. ábra**). Figyelemre méltó tehát, hogy agyunk szenzoros bemenetek nélkül is képes változatos, állapotfüggő és rendkívül strukturált aktivitás-mintázatokat generálni.

A különböző EEG hullámok számos fiziológiai folyamatban játszanak fontos szerepet; közzismert például a gamma (γ) hullámok szenzoros kódolásban (Fries és mtsai., 2007), az alvási orsók és lassú hullámok memória-konzolidációban (Diekelmann és Born, 2010), illetve a theta (θ) oszcillációk térbeli navigációban (Buzsaki és Moser, 2013) játszott szerepe. Említést érdemel az a tény is, hogy általában az alacsonyabb frekvenciájú oszcillációk képesek a gyorsabb oszcillációk amplitúdóját befolyásolni (Lakatos és mtsai., 2008). Az EEG hullámok keletkezése alapján véve neuronális szinkronizáción alapul, viszont ez az egybehangolt neuronális aktivitás hatással van a hálózat számos alkotóelemének aktivitására, ezért keletkezésük sejtes és hálózati mechanizmusainak megértése mind alapkutatósi, mind pedig klinikai szempontból igen fontos feladat. Számos humán vizsgálat és állatkísérlet irányult az említett mechanizmusok feltárására. Mivel a neuronális aktivitás monitorozása többnyire

invazív módszereket igényel, ezért ezt többnyire állatkísérletek segítségével vizsgálják. Meglepő módon, a rendkívüli méretbeli különbségek ellenére a közkedvelt kísérleti alanyok, a rágcsálók agyi aktivitása és annak állapotfüggése számos hasonlóságot mutat a humán agyi funkciókkal (**2. ábra**). A fent említett állapotfüggés tetten érhető mind makroszkópikus (EEG), mind pedig az egyedi neuronok elektromos aktivitásának szintjén. Mivel az EEG regisztrációkor a jelek nagy részét a neokortikális neuronok aktivitása határozza meg, az ezek háttérében zajló sejtés és hálózati mechanizmusok feltárása érdekében legtöbbször a neokortikális neuronok, illetve a velük kapcsolatban levő agyi területek neuronjainak aktivitását monitorozzák.

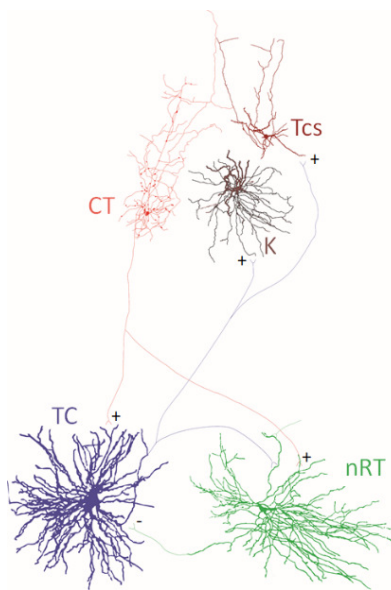


2. ábra. Egerek kérgi lokális mezőpontenciáljainak állapotfüggése. Az ébrenlét és lassú hullámú alvás (LA, alul) alatt készült regisztrátumok különböző frekvenciatartományú komponensei különíthetők el. Az ábra Lőrincz és Adamantidis 2017-es publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

3.2 A thalamokortikális rendszer

A szenzoros periféria, az agytörzs, a bazális ganglionok és az előagy komplex neuronhálózatai közé ékelődött thalamikus magvak funkciói rendkívül sokfélék, de közös vonásuk, hogy az agyműködésünket adaptív működésre hangolják ébrenlét alatt és kapuzzák alvás alatt. A régi nézet, amely szerint a thalamusz egy egyszerű átkapcsoló állomás, napjainkban idejétmúltnak számít, kiderült ugyanis, hogy a bemeneteinek megfelelő szelekciója és a kimenetek hangolása közé egy komplex, dinamikus és kölcsönös kérgi párbeszéd illeszkedik, amelynek során olyan működéseket koordinál, mint például az alvás, a figyelem, a memória, vagy a beszéd (Steriade és mtsai., 1997).

3.2.1 A thalamokortikális rendszer anatómiája

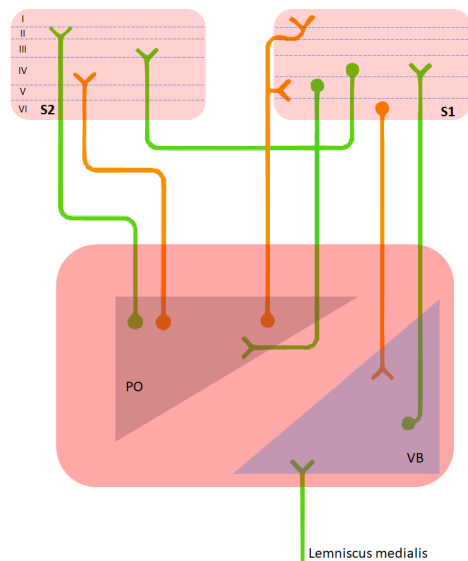


3. ábra. A thalamokortikális rendszer sejtjei és a közöttük levő kapcsolatok. Részletek a szövegben. Az ábra Crunelli és mtsai-nak 2020-as publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

A dorzális thalamusz specifikus relémagokból, asszociációs és intralamináris magokból áll. A specifikus szenzoros relémagokat és az asszociációs magokat domináns bemenetük eredete határozza meg, ez a relémagok esetében az illető szenzoros modalitás perifériás része, asszociációs magok esetén pedig az agykéreg (Sherman és Guillery, 1998; Bickford, 2015). A thalamikus magok domináns sejtjei a thalamokortikális (TC) neuron, de bizonyos thalamikus magokban lokális interneuronok is találhatóak. A thalamuszt hagymahéjszerűen körülvevő nucleus reticularis thalami (nRT) gátlósejtjei nem vetítenek az agykéregbe, viszont a thalamikus gátlás fontos elemei (3. ábra). A primer szenzoros TC neuronok fokálisan, a megfelelő modalitás elsődleges kérgi reprezentációjába, főleg ennek granuláris rétegébe vetítenek. Az asszociációs magok TC neuronjainak vetítése diffúz, és nem korlátozódik a granuláris rétegre, számottevő asszociációs TC axon végződik az első kérgi rétegben (4. ábra). A TC projekciók a kérgi granuláris réteg tüskés csillagsejtjeit, piramissejtjeit és különböző interneuronjait innerválják (3. ábra). Az infragranuláris rétegek kortikothalamikus piramissejtjei visszavetítenek a thalamuszba, ahol a TC neuronokat és az nRT neuronokat is serkentik. A kortikothalamikus bemenetek az nRT sejtek esetén jóval erősebb serkentést valósítanak meg, mint a TC sejtek esetén (Golshani és mtsai., 2001).

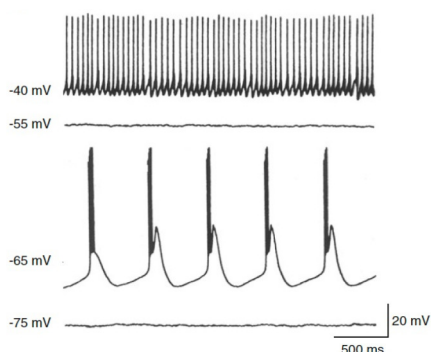
A dorzális thalamusz specifikus relémagokból, asszociációs és intralamináris magokból áll. A specifikus szenzoros relémagokat és az asszociációs magokat domináns bemenetük eredete határozza meg, ez a relémagok esetében az illető szenzoros modalitás perifériás része, asszociációs magok esetén pedig az agykéreg (Sherman és Guillery, 1998; Bickford, 2015). A thalamikus magok domináns sejtjei a thalamokortikális (TC) neuron, de bizonyos thalamikus magokban lokális interneuronok is találhatóak. A thalamuszt hagymahéjszerűen körülvevő nucleus reticularis thalami (nRT) gátlósejtjei nem vetítenek az agykéregbe, viszont a thalamikus gátlás fontos elemei (3. ábra). A primer szenzoros TC neuronok fokálisan, a megfelelő modalitás elsődleges kérgi

reprezentációjába, főleg ennek granuláris



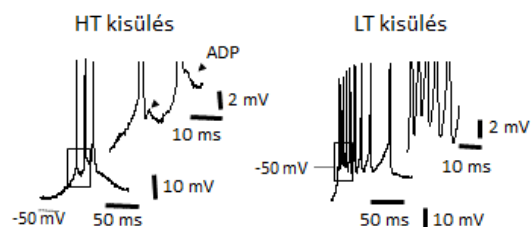
4. ábra. Primer szenzoros és asszociációs thalamikus magok kérgi kapcsolatai. A zöld nyilak a domináns projekciókat, a narancssárgák a modulatórikus projekciókat jelzik. Rövidítések: S1: primer, S2: szekunder szomatoszenzoros kéreg, PO: poszterior thalamikus mag, VB: ventrobazális thalamusz.

3.2.2 A thalamokortikális neuronok fiziológiája



5. ábra. Thalamokortikális neuron membránpotenciálfüggő tüzelési módjai. Részletek a szövegben. Az ábra Leresche és mtsai.-nak 1991-es publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

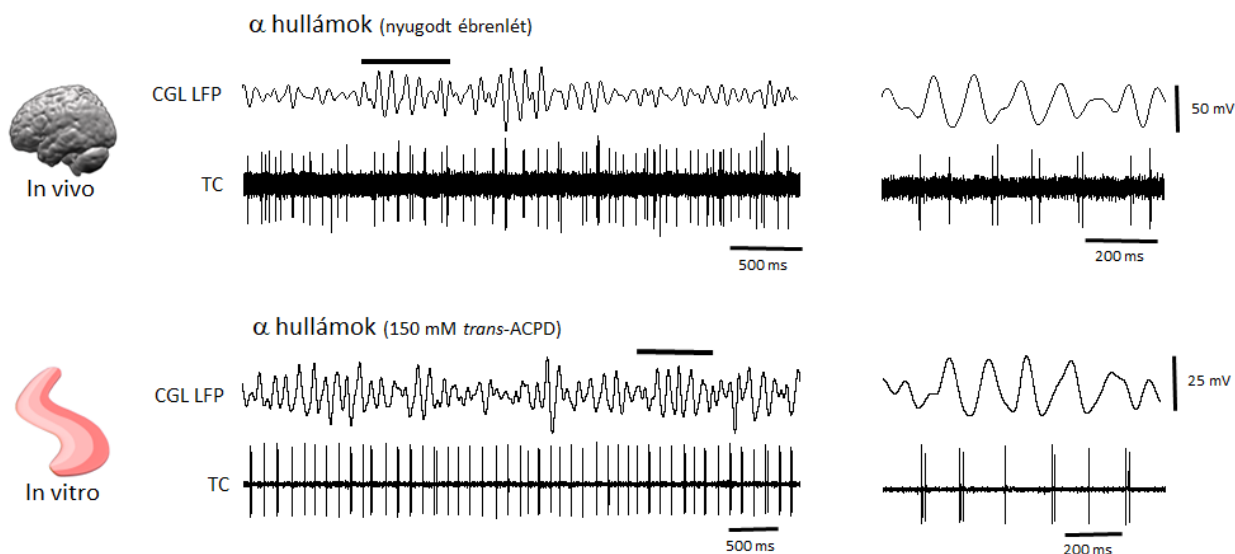
A TC neuronok kisüléssorozatos tüzelésére a 80-as évek elején végzett *in vitro* kísérletekben figyeltek fel legelőször (Llinas és Jahnsen, 1982). Hiperpolarizált membránpotenciál mellett egy küszöb alatti Ca^{2+} áram átmeneti lassú depolarizációt, ún. alacsony küszöbű akcióspotenciált [LTS, *low threshold spike*] hoz létre, amely viszont nagyfrekvenciás akciós potenciál kisüléssorozatot vált ki. Hamarosan fény derült a jelenség funkcionális jelentőségére, ugyanis állapotfüggő LTS alapú aktivitást figyeltek meg altatott és alvó állatok TC neuronjainak regisztrációja során is (Hirsch és mtsai., 1983; Deschenes és mtsai., 1984; Domich és mtsai., 1986). Az LTS generálásáért a T-típusú (tranziens) Ca^{2+} csatornák felelősek, amelyek aktivációja -60 mV körüli, ennél hipopolarizáltabb membránpotenciál mellett inaktíválnak. A TC neuronokban jelen lévő egyéb konduktanciák (hiperpolarizáció által aktivált nem specifikus kationáram, feszültség- és Ca^{2+} -aktivált K^+ áramok) a sejteket ritmikus aktivitásra készítik, ugyanis ezeket egy -65 mV körüli szűk membránpotenciál tartományban ritmikus LTS aktivitás jellemzi (Leresche és mtsai., 1991) (**5. ábra**).



6. ábra. LT és HT kisülések összehasonlítása. A négyzetel kijelölt rész nagyítása a kisülések jobb oldalán látható. ADP: utódepolarizációs potenciál. Az ábra Hughes és mtsai.-nak 2004-es publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

A TC neuronok további hipopolarizációja tónusos Na^+ akcióspotenciálok generálását eredményezi (**5. ábra**). A „klasszikus” TC aktivitás-repertoár tehát ritmikus LTS alapú kisüléssorozatos és egyedi akciós potenciálokból összetevődő tónusos tüzelésből áll. Az *in vitro* kísérletek eredményei kimutatták, hogy a szivárgó K^+ konduktanciák csökkentésének hatására bizonyos TC neuronok egy újszerű kisüléssorozatos tüzeléssel jellemezhetők (**6. ábra**), amely olyan, viszonylag hipopolarizált (-50 mV) membránpotenciálértékek mellett jelentkezett, amelyek összeegyeztethetetlenek az LTS generálással, ezért magas küszöbű [HT, *high threshold*] kisüléssorozatnak nevezték el (Hughes és mtsai., 2002). Ugyanakkor a HT kisüléssorozatok akcióspotenciáljai közötti intervallum jelentősen hosszabb, mint az LTS esetén (~15, illetve ~3 ms), és viszonylag állandó, ellentétben az LTS folyamatosan növekvő intervallumaival (Hughes és mtsai., 2004). Mind az eltérő membránpotenciál, mind pedig a kisülés egyes

akcióspotenciáljai közötti intervallum eltérő generálódási mechanizmusokra utal. Szabadon mozgó macskák CGL magjában extracelluláris elvezetéssel, nyugodt ébrenlét alatt HT kisüléssorozatokhoz hasonló aktivitást regisztráltunk (**7. ábra**), de ezek identitását intracelluláris regisztrációval nem bizonyítottuk be (Hughes és mtsai., 2004). Ennek ellenére a kisüléssorozatok kvalitatív és bizonyos kvantitatív tulajdonságai számottevő hasonlóságot mutattak az *in vitro* szövetszelten regisztrált kisüléssorozatokkal.



7. ábra. α hullámok alatti neuronális aktivitás *in vivo* és *in vitro*. Szimultán regisztrált TC neuronális aktivitás és proximális lokális mezőpotenciál (CGL LFP) során megfigyelhetők a hullámvölgyek alatti kisüléssorozatok. További részletek a szövegben. Az ábra és Hughes és mtsai.-nak 2004-es publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

3.3 A thalamokortikális rendszer fiziológiai oszcillációi

3.3.1 α (8-13 Hz) és θ (4-7 Hz) oszcillációk

A nyugodt ébrenlét során regisztrált EEG domináns hullámai az α hullámok (8–13 Hz) (Niedermeyer, 1993a), amelyek amplitúdója az okcipitális területeken, a szem lehunyását követően maximális (Berger, 1929), de fontos megjegyeznünk, hogy kisebb amplitúdójú α aktivitás nyitott szem esetében is regisztrálható (Mulholland, 1965).

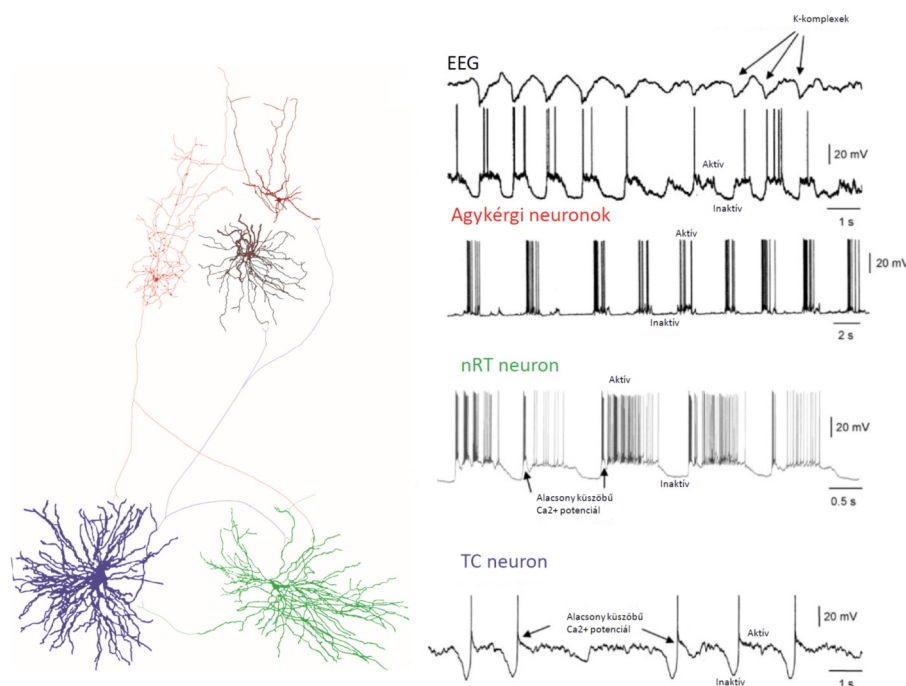
Az utóbbi évtizedben számos humán pszichofiziológiai kísérlet kimutatta, hogy az α oszcillációk fontos szerepet játszhatnak a különböző szenzoros modalitásokban zajló folyamatokban (Klimesch, 2012). Például korreláció mutatható ki az α hullámok frekvenciája és a reakciós idő között (Surwillo, 1961), illetve a küszöbközeli ingerek percepcióját befolyásolja a stimulus pontos időzítése az α oszcilláció ciklusán belül (Busch és mtsai., 2009; Mathewson és mtsai., 2009). Korábban az α oszcillációk alatti neuronális aktivitásról

viszonylag kevés publikált szakirodalmi adat állt rendelkezésünkre. Ismert volt viszont, hogy a vizuális thalamusz és látókéreg koherens aktivitást mutat α aktivitás alatt (Lopes da Silva és mtsai., 1973). Az α hullámok teljesítménye fordított korrelációt mutat a szenzoros diszkriminációs feladatban való teljesítménnyel. A kérgi neuronok aktivitása fáziskapcsolt az α hullámokkal, mivel a neuronok tüzelése alacsonyabb a hullámcsúcsok körül, mint a hullámvölgyekben. A neuronok átlagos aktivitása fordítottan korrelált az α hullámok teljesítményével, tehát az α hullámok mind a tüzelés időzítésére, mind pedig a tüzelési rátára hatást gyakorolnak (Haegens és mtsai., 2011), továbbá az α hullámok az ébrenlét mértéke és különböző kognitív tényezők függvényében képesek szabályozni a neuronális aktivitást (Klimesch és mtsai., 2007; Sauseng és mtsai., 2009; Thut és Miniussi, 2009; Jensen és mtsai., 2012). Ugyanakkor a szakkádok is jelentős mértékű fáziskapcsoltságot mutatnak az α hullámokkal (Staudigl és mtsai., 2017). Kiderült, hogy az infragranuláris rétegekben regisztrált α hullámok fázisa és a szupragranuláris rétegek θ oszcillációinak amplitúdója között összefüggés mutatható ki, illetve hogy a két oszcilláció teljesítménye negatív korrelációt mutat (Spaak és mtsai., 2012), ami egy újabb bizonyítékot szolgáltat az α hullámok szenzoros információfeldolgozásban játszott meghatározó szerepét illetően.

Felmerült továbbá az EEG α hullámok thalamikus területek általi modulációjának lehetősége (Lopes da Silva és mtsai., 1973; Lopes da Silva és mtsai., 1980; Rougeul-Buser és Buser, 1997), ugyanis macskák és kutyák EEG α hullámaival szimultán koherens aktivitás regisztrálható a CGL területéről (Lopes da Silva és mtsai., 1973; Chatila és mtsai., 1993). Bizonyos esetekben CGL α hullámok regisztrálhatók kérgi α aktivitás hiányában is, ami thalamikus keletkezésük mellett szól (Lopes da Silva és mtsai., 1973). A thalamusz α hullámok keletkezésében játszott szerepét a következő tények is alátámasztják: az α hullámok thalamikus léziók hatására csökkennek, vagy akár teljesen meg is szűnnek (Ohmoto és mtsai., 1978; Terao és mtsai., 1993; Lukashovich és Sazonova, 1996), az α hullámok alatt fokozódik a thalamusz agyi oxigénellátása (Goldman és mtsai., 2002; Feige és mtsai., 2005) és glükóz-metabolizmusa (Danos és mtsai., 2001; Schreckenberger és mtsai., 2004).

Annak ellenére, hogy számos tanulmány vizsgálta már a θ és a lassú oszcillációk celluláris és hálózati mechanizmusait, az α és θ oszcillációk szerepe és keletkezésük mechanizmusai kevésbé ismertek. Ennek egyik oka az, hogy az α hullámokat sokáig a figyelem kimaradásakor jelentkező melléktermékeként értelmezték, a másik oka pedig az, hogy az α hullámok kizárólag nyugodt ébrenléti állapotban jelennek meg, altatás alatt teljesen hiányoznak a regisztrátumokból, így tanulmányozásuk technikailag nagyobb kihívást jelent, mint az altatott állatokkal történő kísérletezés.

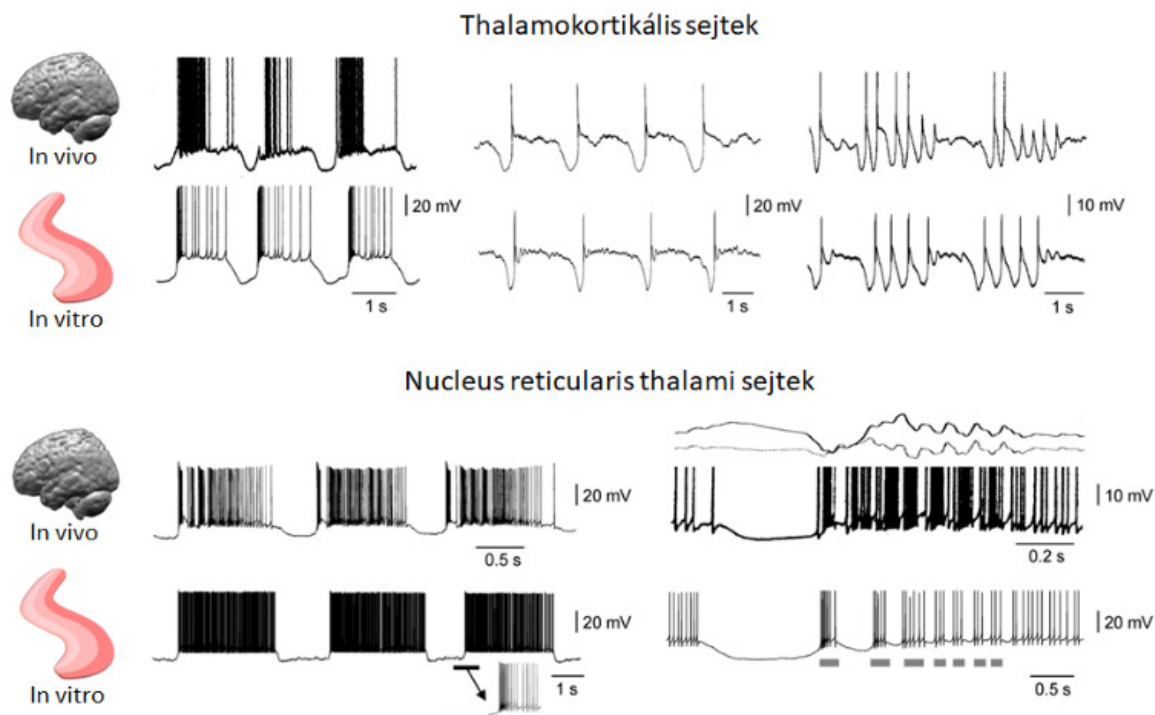
3.3.2 Lassú (< 1 Hz) oszcillációk



8. ábra. Lassú hullámok alatti agykérgi, nucleus reticularis thalami (nRT) és thalamokortikális (TC) aktivitás *in vivo*. Mindkét agyterület sejtjei esetén a membránpotenciál ritmikus fluktuációi figyelhetők meg aktív és inaktív állapotok között. Az ábra Hughes és Crunelli 2010-es, illetve Crunelli és mtsai-nak 2020-as publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

az EEG lassú hullámoknak és celluláris megfelelőiknek, a lassú oszcillációnak a részletes leírása Mircea Steriade úttörő munkásságának eredményeként látott napvilágot (Steriade és mtsai., 1993a, 1993b, 1993c). Agykérgi, TC és nRT neuronok altatott macskákban végzett intracelluláris regisztrációja során megfigyelték, hogy a neuronok membránpotenciálja aktív (hiperpolarizáció mérséklésével és neuronális tüzeléssel jellemezhető) és inaktív (hiperpolarizáció fokozódásával és neuronális aktivitás hiányával jellemezhető) szakaszok ritmikus (0.2 – 0.9 Hz) ismétlődéséből épül fel (**8. ábra**). Az aktív szakaszok az EEG lassú hullámok negatív, az inaktív szakaszok viszont az EEG lassú hullámok pozitív komponenseivel mutattak szoros időbeni összefüggést. A lassú oszcilláció fennmaradt izolált előagy preparátumokban „*cerveau isolé*” (Steriade és mtsai., 1993b), izolált agykérgi gyrusban (Timofeev és mtsai., 2000), illetve *in vitro* túlélő agykérgi szövetszelet preparátumokban (Sanchez-Vives és McCormick, 2000), valamint nagy kiterjedésű thalamikus léziók mellett is (Steriade és mtsai., 1993d).

A lassú (<1 Hz) hullám a humán EEG egyik legjellegzetesebb hulláma, amely elsősorban alvás alatt jelenik meg. Alacsony frekvenciájú membránpotenciál fluktuációkat először altatott patkány agykérgi neuronjainak regisztrációja során írtak le (Metherate és mtsai., 1990), viszont



9. ábra. Thalamokortikális és nucleus reticularis thalami neuronok aktivitása lassú oszcillációk alatt *in vivo* és *in vitro*. Részletek a szövegben. Az ábra Crunelli és mtsai.-nak 2018-as publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

Mindezek alapján arra következtettek, hogy a lassú oszcilláció agykérgi eredetű és a kortikothalamikus kapcsolatok révén terjed át thalamikus területekre. Az *in vitro* túlélő thalamikus agyszeletekben a neuronok nagy többségére delta (δ , 2–4 Hz) frekvenciájú membránpotenciál-oszcilláció jellemző (Leresche és mtsai., 1991). További *in vitro* vizsgálatok kimutatták, hogy a TC (Hughes és mtsai., 2002) és nRT (Blethyn és mtsai., 2006) sejtek egy intrinszek lassú oszcillációt képesek generálni kortikothalamikus szinaptikus ingerlés vagy az 1a típusú metabotróp glutamát receptorok (mGluR) farmakológiai aktivációjának következtében. Az *in vitro* regisztrált thalamikus lassú membránpotenciál-oszcilláció meglepő hasonlóságot mutat az intakt állatokból regisztráltakkal (9. ábra), és a fázikus serkentő és gátló szinaptikus neurotranszmisszió blokkolása után is fennmarad (Hughes és mtsai., 2002). Az mGluR aktivációt követő TC neuron bistabilitás csak fokozott membrán hiperpolarizáció mellett jelentkezett, amelyet gyakran hiperpolarizáló tartóárammal biztosítottak. Az mGluR1a aktivációt követően, -50 mV körüli membránpotenciálértékek mellett a sejtek egyharmadánál ritmikus kisüléssorozatok regisztrálhatók (Hughes és mtsai., 2002) (lásd 3.2.2 fejezet). A thalamikus inaktivációt (Lemieux és mtsai., 2014), illetve a thalamikus T-típusú Ca^{2+} csatorna inaktivációt vizsgáló kísérletek (David és mtsai., 2013) rávilágítottak a thalamikus aktivitás aktív szerepére az alvási lassú oszcilláció finomhangolásában. Thalamikus inaktiváció hatására

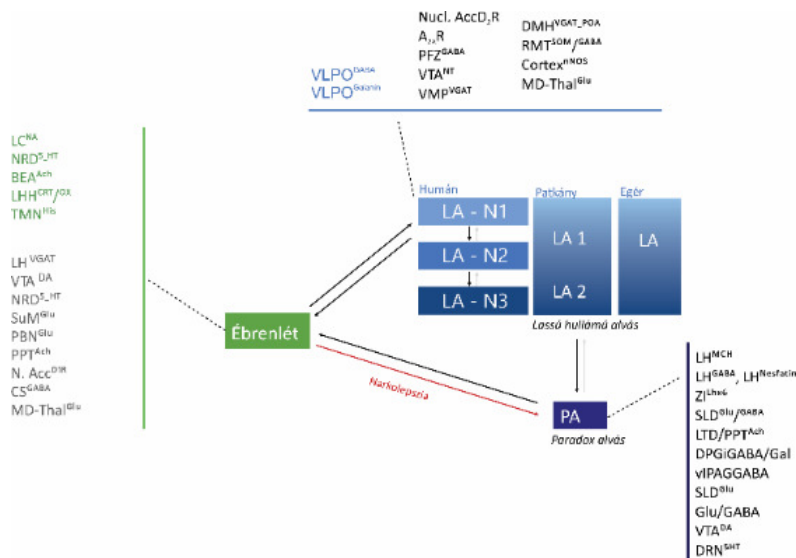
az agykérgi lassú hullámok és alvási orsók jelentősen lecsökkentek, ami a thalamusz kiemelt szerepére utal az alvási lassú oszcilláció generálását illetően (David és mtsai., 2013; Lemieux és mtsai., 2014).

3.3.3 Infralassú (< 0.1 Hz) oszcillációk

A tíz másodperctől több percig terjedő periódusidejű infralassú oszcillációk (ILO) agyműködésünk fontos elemei. Ezeket legelőször nyulak agykérgi LFP regisztrációinak alapján írták le (Aladjalova, 1957), de azóta több emlősfaj agyi aktivitásában (Leopold és mtsai., 2003; Filippov és Frolov, 2005; Filippov és mtsai., 2007), illetve humán EEG regisztrációban is (Vanhatalo és mtsai., 2004) kimutatták jelenlétüket. Az infralassú oszcillációk fontos szerepet játszanak a neuronális aktivitás modulálásában, mivel összefüggést mutatnak gyorsabb EEG oszcillációkkal (Vanhatalo és mtsai., 2004), magatartástervezetekben a kísérleti állatok vagy vizsgálati személyek teljesítményével (Fox és mtsai., 2007; Monto és mtsai., 2008; Lecci és mtsai., 2017) és különböző epilepsziás rohamok előfordulásával is (Parrino és mtsai., 2000; Eisensehr és mtsai., 2001; Vanhatalo és mtsai., 2004). Létrejöttük celluláris és hálózati mechanizmusai viszont ismeretlenek voltak.

3.4 A thalamokortikális rendszer működésének neuronális szabályzása

A thalamokortikális rendszerben zajló serkentő és gátló szinaptikus folyamatok intenzitását és arányát a különböző neuromodulátor rendszerek határozzák meg; ezek fizioiógias és patológias folyamatokban játszott szerepe közismert. Egyes neuromodulátor rendszerek kiemelt szerepet játszanak a szinkron neuronális folyamatok szabályozásában (Fisahn és mtsai. 1998). Jól ismert, hogy a kortikothalamikus visszacsatolás képes α oszcillációkat generálni a túlélő thalamikus agyszeletekben mGluR aktiváció által, illetve az, hogy ezeknek a receptoroknak a blokkolása csökkenti az EEG szintjén regisztrálható α oszcillációkat (Hughes és mtsai. 2004). Tehát leszálló modulatorikus hatásra a kortiko-thalamo-kortikális hálózat képes szinkron elektromos aktivitást generálni. Jóval kevésbé ismertek viszont a felszálló rendszerek modulatorikus hatásai az α és lassú oszcillációkra.



10. ábra. Alvás és ébrenlét-szabályzó neuronhálózatok. Az ábra az egyes agyi állapotokat (ébrenlét: zöld, LA: kék, PA: lila) szabályzó legfontosabb neuronális elemeket tartalmazza. (Rövidítések: A2AR, adenosin A2A receptor; BEA, bazális elöagy; DA, dopamin; DMH, dorsomediális hipotalamusz; DnPGi, dorzális paragigantocelluláris mag; DR, dorzális raphé mag; LC, locus coeruleus; LH, laterális hipotalamusz; LTD/PPT, nucleus tegmentalis posterolateralis / nucleus tegmentalis pedunculopontinus; MD-Thal, mediodorzális thalamus; N. Acc, nucleus accumbens; PBN, nucleus parabrachialis; PFZ, parafaciális zóna; PPT, / nucleus tegmentalis pedunculopontinus; RMTg, / nucleus tegmentalis rostralis; CS, colliculus superior; SLD, nucleus sub-laterodorsalis; SuM, nucleus supramammillaris; NTM, nucleus tuberomammillaris; VLPO, ventrolateralis preoptikus terület; GP, griseum pontis; VTA, ventrális tegmentalis area; VIPAG, ventrolateralis periaqueductalis szürkeállomány; ZI, zona incerta). Az ábra Oesch és Adamantidis 2018-as publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

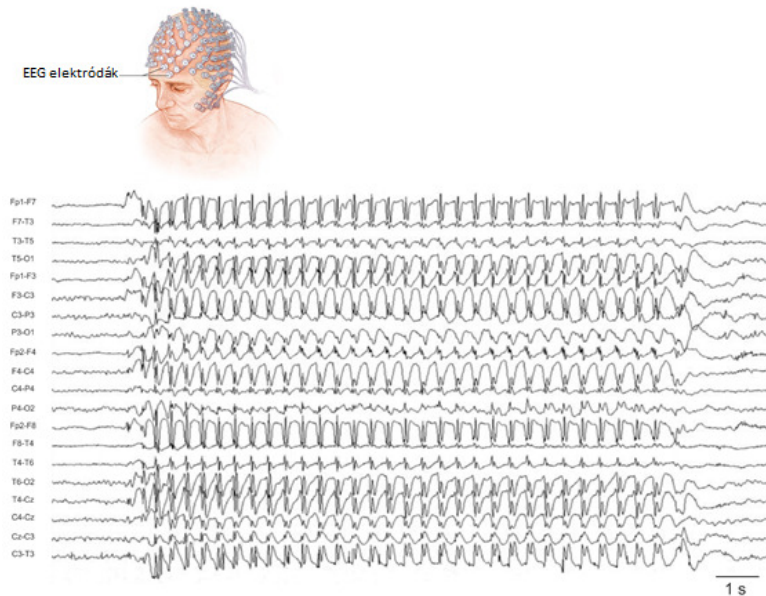
rendszer számos fiziológiás és patológiás folyamatban játszik fontos szerepet (Liu és mtsai., 2014). Ugyanakkor a szerotoninerg sejteket tartalmazó dorzális raphe mag (DR) egyes neuronjainak aktivitása egyértelmű korrelációt mutat bizonyos szenzoros eseményekkel (Ranade és Mainen, 2009). Ezek alapján feltételezhető, hogy a szerotonin fontos szerepet játszhat a szenzoros információfeldolgozásban, viszont pontos szerepe mindeddig tisztázatlan maradt.

3.5 A thalamokortikális rendszer patológiás oszcillációi

3.5.1 Az absence epilepszia tüskehullám kisülései

Az absence epilepsziás rohamok fő tünetei a következők: rövid ideig tartó tudatvesztés, pillanatnyi cselekvésképtelenség és az EEG-n megjelenő 2.5–4 Hz-es tüske-hullám kisülések [*spike and wave discharge*, SWD] (**11. ábra**) (Crunelli és mtsai., 2020). Az elsősorban gyermekek és tizenévesek körében gyakori nonkonvulzív absence rohamok az esetek 60%-ában olyan neurológiai és pszichiátriai tünetekkel járnak, mint például a hiperaktivitás vagy a

A különböző neuromodulátor rendszerek klasszikus hatásai a következők: a szinkron neuronális aktivitás, illetve a szinaptikus transzmisszió lassú, állapotfüggő befolyásolása. Ismert ugyanakkor, hogy bizonyos neuromodulátorok képesek hosszabb, illetve rövidebb időskálán egyaránt hatást gyakorolni célterületeikre. Ezt a jelenséget a dopaminerg rendszer vizsgálatakor azonosították (Schultz, 2007), és ennek főleg a célorientált magatartások szabályozásában van jelentősége. A szerotoninerg

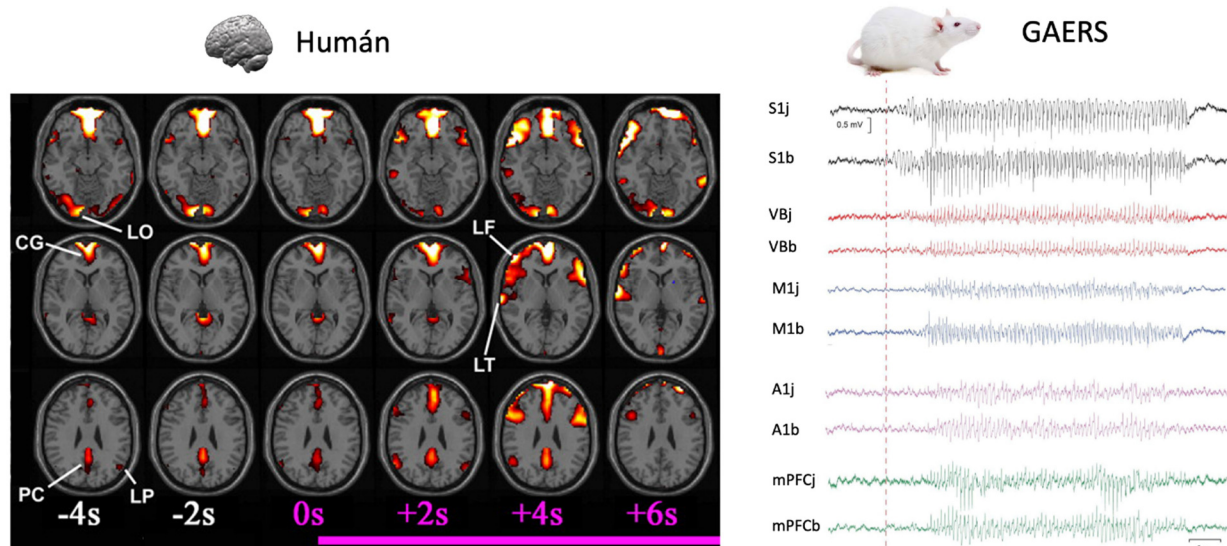


11. ábra. Az absence epilepszia generalizált tüske-hullám kisülései. Az ábra Cerminara és mtsai-nak 2012-es publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

megszüntetésében. Számos, a fentiekben már említett fiziológiás oszcillációhoz hasonlóan az SWD-k is a thalamo-kortiko-thalamikus rendszerben keletkeznek (Crunelli és mtsai., 2020). Az absence epilepsziában érintett agyterületek neuronjainak aktivitását állatmodellekből ismerjük, humán invazív regisztrációk csak igen ritka esetekben készülnek (Williams, 1953).

A **GAERS** [**Genetic Absence Epilepsy Rats from Strasbourg**] az absence epilepszia egyik legszélesebb körben ismert és validált rágcsáló modellje, amelyet Wistar patkányok több generációs keresztezésének és szelekciójának eredményeként hoztak létre (Danober és mtsai., 1998). Jellemzői a gyakori ~7 Hz-es SWD-k, amelyek megjelenésükben és farmakológiai profiljukban számottevő hasonlóságot mutatnak a humán rohamok során regisztrált SWD-vel (**12. ábra**).

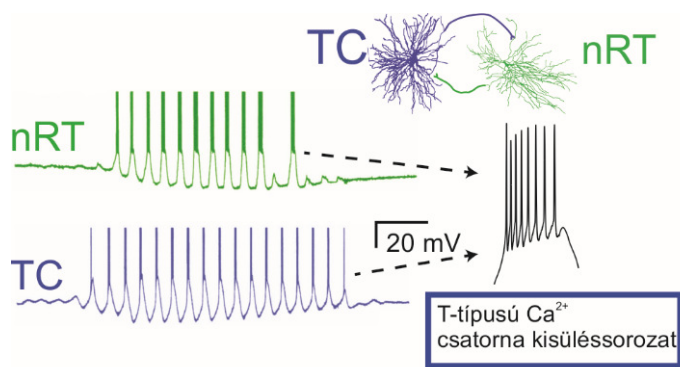
tanulási és memóriazavarok, amelyek gyakran akkor is felbukkannak, amikor a gyógyszeres kezelés hatására a páciensek rohammentesek (Crunelli és mtsai., 2020). Lényeges feladat tehát feltárni azokat a sejtes és hálózati mechanizmusokat, amelyek fontos szerepet játszanak az absence epilepsziás rohamok kiváltásában, generalizációjában, fenntartásában és



12. ábra. Generalizált rohamok humán absence epilepsziás betegekben (bal oldal, fMRI) és GAERS patkányokban (jobb oldal elektrográfias felvételek). Rövidítések: LO: laterális orbitofrontális, CG: cinguláris, PC: precuneus, LF: laterális frontális, LT: laterális temporalis, LP: laterális parietális, S1j: jobb elsődleges szomatoszenzoros, S1b: bal elsődleges szomatoszenzoros, M1j: jobb elsődleges motoros kéreg, M1b: bal elsődleges motoros kéreg, A1j: jobb elsődleges auditorikus kéreg, A1b: bal elsődleges auditorikus kéreg, mPFCj: jobb mediális prefrontális kéreg, mPFCb: bal mediális prefrontális (kéreg), VBj: jobb thalamikus ventrobazális mag, VBb: bal thalamikus ventrobazális mag. Az ábra Bai és mtsai-nak 2010-es, illetve McCafferty és mtsai-nak 2018-as publikációiban megjelent ábrák a módosított változata.

A *Stargazer* (STG) egerekben gyakoribb és hosszabb rohamok figyelhetőek meg, mint más absence epilepszia modell egértörzsekben (Noebels és mtsai. 1990, Letts 2005). Ezekben az egerekben egyetlen, a 15-ös kromoszómát érintő recesszív mutáció található. Ennek hatására a *Cacng2* génbe egy transzpozon ékelődik be, ami csökkent *Cacng2* expressziót eredményez (Chung és mtsai. 2009). A *Cacng2* a feszültségfüggő Ca^{2+} csatornák $\gamma 2$ alegységét kódolja, valamint a stargazin fehérje termeléséért felelős. A stargazin fehérje fontos szerepet játszik például a 2-amino-3-(5-metil-3-oxo-1,2-oxazol-4-il) propánsav (AMPA) receptor „trafficking”-ben. Ha az STG-ben nem megfelelő a „trafficking”, akkor sérül a serkentő szinapszisok ultrastruktúrája, valamint ez hozzájárul az STG egerek ataxiás fenotípusához. A *Cacng2* gén mutációjának következtében a thalamikus feszültségfüggő Ca^{2+} csatornák működése megváltozik, ami hozzájárul az EEG-ben megjelenő SWD-k generálásához.

3.5.2 A tüske-hullám kisülések mechanizmusai



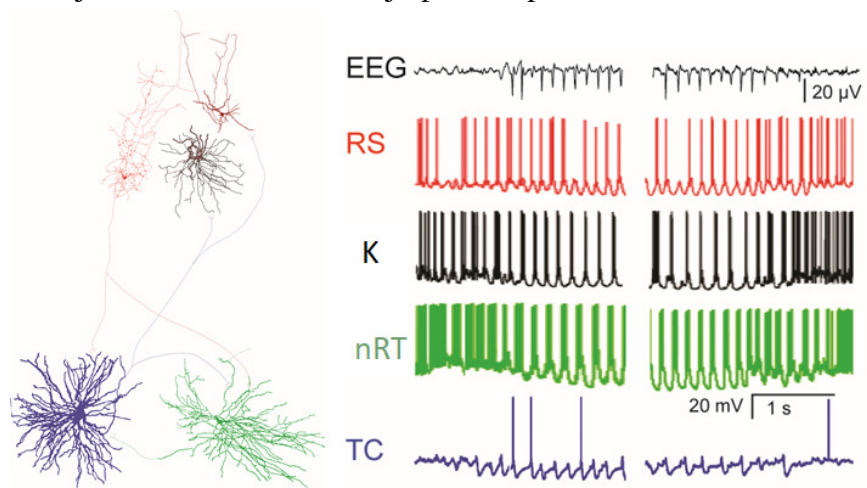
13. ábra. Az absence epilepszia celluláris mechanizmusai, in vitro. Részletek a szövegben. Az ábra Crunelli és mtsai.-nak 2020-as publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

inaktivációja hatékonyan megszünteti a rohamokat (Polack és mtsai., 2009). A humán absence epilepszia kezelésében is használt Ethosuximid az elsődleges szomatoszenzoros kéregbe juttatva hatékonyabban szünteti meg a rohamokat, mint motoros kérgi vagy thalamikus beadást követően (Richards és mtsai., 2003; Manning és mtsai., 2004).

A SWD-k celluláris mechanizmusainak megértése sokáig az *in vitro* túlélő agyszeletben végzett kísérletek eredményein alapult. Az *in vitro* modellben mind a TC, mind pedig az nRT gátlósejtjeit hiperexcitabilitás jellemzi, és mindkét sejtípus T-típusú Ca^{2+} csatorna mediált kisüléssorozatokat

generál minden SWD ciklus alatt (13. ábra). Tehát a két sejtípus hiperexcitabilitásának és kölcsönös szinaptikus interakciójának következményei az

SWD-k (von Krosigk és mtsai., 1993; Bal és mtsai., 1995a, b; McCormick és



14. ábra. A tüske-hullám kisülések sejtes mechanizmusai. Szedált GAERS patkányok kérgi és thalamikus neuronjainak membránpotenciál regisztrációi iktális és interiktális szakaszokban. Rövidítések: EEG: elektroencefalogram, RS: reguláris tüzelésű kérgi neuron, K: kosársejt, nRT: nucleus reticularis thalami gátlósejt, TC: thalamokortikális neuron. Az ábra Crunelli és mtsai.-nak 2020-as publikációjában megjelent ábrájának a módosított változata.

Contreras, 2001). A fokozott ritmikus tüzelés szedált és altatott állatokban regisztrált nRT és agykérgi (serkentő és gátló) neuronok aktivitását egyaránt jellemzi (Slaght és mtsai., 2002; Polack és mtsai., 2007; Chipaux és mtsai., 2011; Williams és mtsai., 2016), de a TC neuronok

nagy részének aktivitása a legtöbb SWD ciklus alatt elmarad (**14. ábra**) (Steriade és Contreras, 1995; Pinault és mtsai., 1998; Pinault és mtsai., 2006). Éber Stargazer egerek látókérgi neuronális aktivitásának monitorozása során kiderült, hogy az agykérgi neuronok döntő többsége (mind a serkentő, mind a gátló sejtek) nem rendelkezik fokozott iktális aktivitással, illetve a neuronális aktivitást fokozott heterogenitás jellemzi (Meyer és mtsai., 2018). A fenti eredmények arra engednek következtetni, hogy az *in vitro* túlélő agyszelet, illetve a szedált preparátumokból származó eredmények jelentős eltérést mutatnak az éber preparátumok regisztrációjától. Ez a jelenség nem újkeletű: köztudott, hogy a szenzoros ingerek által kiváltott serkentés és gátlás egymás tükörképei altatott állatokban, viszont éber állapotban a gátló konduktanciák dominálnak (Haider és mtsai., 2016). A különböző agyi funkciók valós sejtes és hálózati mechanizmusainak feltárása érdekében érdemes tehát éber állatok neuronális aktivitását regisztrálni akkor is, ha ez technikailag jóval nagyobb kihívást jelent, mint az altatott preparátumokkal történő kísérletezés.

4. Célkitűzések

1. A thalamokortikális neuronális aktivitás állapotfüggésének meghatározása ébrenlét alatt
2. Az α oszcillációk keletkezési mechanizmusainak feltárása a thalamuszban
3. Az α oszcillációk a thalamikus hálózat aktivitására gyakorolt hatásának feltárása
4. Az infralassú oszcillációk keletkezési mechanizmusainak feltárása a thalamuszban
5. A kolinerg neuromoduláció agykérgi alvási lassú oszcillációra gyakorolt hatásának feltárása
6. A szerotoninergerg neuromoduláció szaglókérgi hatásainak és szerepeinek tisztázása
7. Az agytörzsi raphe mag és a laterális hipothalamusz kölcsönhatásainak szerepe az ébrenlét fenntartásában
8. Az intrinszek és hálózati thalamokortikális mechanizmusok szerepei az absence epilepszia tüske-hullám kisüléseinek generálásában

5. Anyagok és módszerek

5.1 *In vitro* elektrofiziológia

Az *in vitro* elektrofiziológiai regisztrációhoz felnőtt egerek szaglókérgéből, elsődleges szomatoszenzoros kérgéből, szomatoszenzoros thalamuszából, vagy agytörzsi raphe magjából készítettünk túlélő agyszeleteket. Ennek egyik limitáló tényezője, hogy felnőtt állatokból különösen nehéz megfelelő, egészséges agyszeletet előállítani. Az általunk használt szeletkészítési protokoll csökkenti a passzív nátrium- és vízáramlást, ezáltal jobban védi az idegsejteket a szeletelés okozta sérülésektől. (Ting és mtsai. 2014). Az állatokat ketamin/xillazin oldattal (dózis: 80/10 mg/kg) altattuk, majd transzkardiálisan perfundáltuk 4-5 ml 4°C-os karbogénnel (95% O₂; 5% CO₂) buborékoltatott N-metil D-glukonát (NMDG) tartalmú mesterséges agy-gerincvelői folyadékkal. A perfúzió után az állatokat dekapitáltuk, és az agy kipreparálását hűtött, buborékoltatott vágóoldatban végeztük, majd vibrotóm segítségével a raphe magból vagy a szaglókérgéből 320 µm vastag koronális metszeteket készítettünk. A szeleteket 12 percen át 32-34 °C-os NMDG oldatban inkubáltuk, majd 17 °C-os HEPES oldatba helyeztük, és ebben tároltuk. Ezt követően a regisztrálni kívánt neuronokat infravörös videomikroszkóp rendszer segítségével tettük láthatóvá, és whole cell patch clamp technikával regisztráltuk egy perfúziós kamrában. A kérgi oszcillációk tanulmányozása céljából 4–8 hetes egerek neocortexéből készítettünk koronális síkban metszett túlélő agyszeleteket, majd szobahőmérsékleten inkubáltuk a regisztrációig.

A szaglókérgi afferens és asszociációs szinaptikus válaszokat 3-5 MΩ ellenállású aCSF tartalmú üvegelektrodákkal regisztráltuk az 1b rétegben. Az afferens stimulációt a laterális szaglóköteg, az asszociációs stimulációt a piramissejtben elhelyezett koncentrikus bipoláris ingerlelektrodákkal végeztük (0.1 ms, 0.1-0.3 mA).

A thalamikus oszcillációk mechanizmusait vizsgáló kísérleteinkhez 8–12 hetes macskákat használtunk. Mély izoflurán altatásban a koponyacsontot óvatosan felnyitottuk, az agyat eltávolítottuk a koponyaüregből, és a thalamuszt tartalmazó blokkot készítettünk. Ezt követően 4°C-os mesterséges agy-gerincvelői folyadékban a corpus geniculatum laterale (CGL) és a ventrobazális thalamuszból saggitális síkban metszett, túlélő agyszeleteket készítettünk. A szeleteket 30 percig 35°C-on, majd szobahőmérsékleten inkubáltuk, ezután egy mérőkamrába kerültek elektrofiziológiai regisztráció céljából. Thalamokortikális sejtekből és thalamikus interneuronokból szimultán intra- és extracelluláris elvezetéseket végeztünk. A

különböző oszcillációkat metabotróp glutamátreceptorok és/vagy kolinerg receptorok agonistáival váltottuk ki. Az intracelluláris elektródában levő Biocytin segítségével a regisztrációt post hoc morfológiai rekonstrukció követte.

5.2 Szimultán egysejtaktivitás mérés és lokális anyagbeadás szabadon mozgó állatokban

Két saját készítésű, 12–16 db. 25 μm -es átmérőjű szigetelt platinaszálból álló elektródköteget és egy proximális mikrodialízis prób kanült helyeztünk felnőtt macskák CGL területe fölé altatás alatt. A dialízis prób és az elektródák mozgatását egy kézi mikromozgató biztosította, amelyet fogászati cementtel a koponyacsonthoz rögzítettünk. Az okcipitális csontba bilaterálisan EEG csavarelektrodákat ültettünk be. A felépülés szakaszában (5 nap) az állatok lokális és szisztémikus antibiotikus és analgézikus kezelést kaptak. A thalamikus egysejtaktivitás regisztrációhoz a beültetett mikroelektrodákat óvatosan mozgattuk a célterület felé (max 0,1 mm/nap). Stabil egysejtaktivitás regisztrálása esetén mikrodialízis próbát helyeztünk a mikroelektrodák közvetlen közelében levő kanülbe. Minimum 1 órás kontrollidőszakban a thalamikus sejt(ek) elektromos aktivitását mesterséges agy-gerincvelői folyadék perfúziója mellett (1 μl /perc áramlási sebességgel) vizsgáltuk. Ezt követően elkezdődött az anyagbeadás, majd ennek kimosása. A regisztrációk többsége nyugodt ébrenlét alatt történt, amikor az okcipitális α oszcilláció a legprominensebb.

3.3 Extra- és intracelluláris regisztráció szövetszeletben, altatott és éber állatokban

A sztereotaktikus készülékbe befogott vagy immobilizált állatok koponyáján, 1 mm átmérőjű részen a csontlemezt levékonyítottuk fogászati fúróval. Ezután mikroszkóp alatt eltávolítottuk a vékony csontlemezkét. Az extra- és intracelluláris regisztrációhoz a dura matert behasítottuk egy nagyon apró részen, és az elektródát óvatosan az így keletkezett résbe helyeztük, majd mikromanipulátor segítségével 1–2 μm -es lépésekben haladtunk. Intracelluláris regisztrációhoz 0,2 μm hegyű, 30-50 M Ω ellenállású, 1M-os K-acetát oldattal töltött üvegelektrodákat használtunk. Néhány esetben az inhibitorikus szinaptikus potenciálok regisztrálása érdekében a neuronokat 0 mV-os membránpotenciál értéken regisztráltuk, ahol az IPSPk amplitúdója nagyobb, mint a nyugalmi membránpotenciál érték közelében. Ilyen esetekben az elektródákat 2 M-os Cs-acetát és 50 mM-os QX 314 oldattal töltöttük. Az

elektróda-potenciál hirtelen negatív irányba irányuló változása és a nagy amplitúdójú akcióspotenciálok jelenléte jelezte az elektróda sejtmembránon belüli helyzetét. Adatelemzéshez csak azokat a regisztrátumokat használtuk, amelyek esetén a neuron membránpotenciálja stabil és negatív tartóáram hiányában sem hipopolarizáltabb -50 mV-nál, illetve az akciós potenciálok csúcsa 0 mV vagy annál pozitívabb értékű. A legrövidebb intracelluláris regisztrátum 5 percig, a leghosszabb altatott állatból készült intracelluláris regisztrátum 70 percig, éber állatból 55 percig, *in vitro* intracelluláris regisztrátum pedig több, mint 5 óráig tartott.

Az extracelluláris akcióspotenciálok elvezetéséhez néhány esetben a „loose-cell attached patch clamp” technikát alkalmaztuk. Az 5–7 M Ω ellenállású intracelluláris oldattal (összetétel mM-ban: 126 K-glukonát, 4 KCl, 4 ATP-Mg, 0.3 GTP-Na₂, 10 HEPES, 10 kreatin-foszfát, 8 Biocytin, pH: 7.25; ozmolaritás: 275 mOsm) pipettát a szövetszeletben vagy intakt preparátumok esetén az intakt dura materen keresztül vezettük 1–2 μ m lépésekben a célterületre, és a pipetta konduktanciáját folyamatosan ellenőriztük feszültség-zár üzemmódban. A konduktancia csökkenése legtöbbször a pipettahegy membránnal való érintkezésekor figyelhető meg, ilyenkor az eddig jelen levő pozitív nyomást megszüntettük, majd óvatos szívással biztosítottuk a megfelelő kontaktust a sejtmembránnal. Más esetekben a sejtek akciós potenciáljait a proximális lokális mezőpotenciállal szimultán módon regisztráltuk aCSF tartalmú 5-20 M Ω ellenállású elektródákat használva. A mezőpotenciálokat 0.1-200 Hz tartományban, az extracelluláris akciós potenciálokat 0.3-6 kHz tartományban szűrtük. Amennyiben a pipettánk a regisztrált neuron közvetlen közelében helyezkedett el megpróbáltuk a regisztrált sejtet a pipettában levő Biocitynnel feltölteni úgy, hogy az erősítő segítségével 1-4 nA, 500 ms, 0.5 Hz anodális áramot injektáltunk juxtacelluláris sejtöltést alkalmazva (Pinault, 1996). A feltöltött neuronokat standard hisztológiai módszerekkel tettük láthatóvá.

Bizonyos akut és krónikus kísérletekben több neuron szimultán aktivitásának regisztrálása céljából sokcsatornás (16 vagy 32) Si-elektrodákat használtunk. Akut kísérletekben ezeket egy motorizált mikromanipulátorral mozgattuk (Scientifica, EK) 1–2 μ m lépésekben. Krónikus kísérleteink során a Si-elektrodákat egy általunk készített manuális mikromanipulátorra ragasztottuk, majd a manipulátort a koponyacsonthoz rögzítettük. A szimultán szomatoszenzoros kérgi és szomatoszenzoros thalamikus regisztrációk esetén a 32 csatornás Si-próbaok kérgi és thalamikus pozicionálása sztereotaxikus koordináták szerint történt, de az elektrodák pontos lokalizációját a bajusszalakra történő inger hatására fellépő neuronaktivitás látenciája által határoztuk meg.

Az éber állatokban a neuronális aktivitás regisztrációja azonos volt az altatott állatokban leírtakkal, de a regisztrációt megelőzően koponyacsontjukhoz egy rozsdamentes acélrudat cementeztünk, ezzel fájdalommentesen rögzíteni lehetett az állatok fejét a regisztráció időtartamára (3–4 órára). Az immobilizáció okozta stresszt úgy minimalizáltuk, hogy az állatokat napi rendszerességgel kézhez szoktattuk, majd egyre növekvő ideig rögzítettük fejüket a mérőhelyen. Néhány napos beszoktatás után az állatok jól tolerálták a fejrögzített rezsimit és állapotuk rendszeresen fluktuált aktív ébrenlét, nyugodt ébrenlét, lassú hullámú alvás és paradox alvás között.

3.4 Gyors, specifikus stimuláció optogenetikai módszerrel

Fényérzékeny kationcsatornát (channelrhodopszin, ChR2) expresszáltattunk szelektíven az agytörzsi dorzális raphe magvak szerotoninerg vagy GABAerg sejtjeiben SERT-cre (serotonin transporter-cre) (Zhuang és mtsai., 2005) vagy VGAT-cre egérvonalat (Vong és mtsai., 2011) használva. A ChR2-t és fluoroflört kódoló DNS-t cre dependens adenoasszociált vírusfertőzés segítségével juttattuk a sejtekbe. A vírusfertőzés után néhány héttel prominens ChR2 expressziót tapasztaltunk a fertőzött területen. Az expresszió szelektíven a szerotoninerg vagy a GABAerg sejtekben következett be, amelyet immunhisztokémiai módszerek segítségével bizonyítottunk. Az *in vitro* agytörzsi túlélő szeletekben „patch clamp” technika segítségével a ChR2-EYFP expresszálló sejtek elektromos aktivitását regisztráltuk, miközben rövid fénypulzusokkal világítottuk meg a szeletet. A regisztrált sejtek minimális intenzitású fény hatására elhanyagolható látenciával és igen nagy hatékonysággal akcióspotenciálok generáltak. Mindezek alapján azt feltételeztük, hogy fény hatására a szerotoninerg neuronokban generált akcióspotenciálok szerotonin leadáshoz vezetnek a szerotoninerg sejtek projekciós területein. Ezt követően azt vizsgáltuk, hogy milyen hatással van a szerotoninerg sejtek gyors fotostimulációja a szaglókéreg neuronjainak elektromos aktivitására. ChR2-EYFP-vel fertőzött egerek raphe magja fölé optikai szálát ültettünk be, amelyet egy 473 nm-es lézer fényforráshoz kapcsolunk. Ezzel egyidőben az egerek szaglókérgébe elektródákat helyeztünk el, amellyel a sejtek elektromos aktivitását monitoroztuk. Az olfaktorikus stimulációt saját készítésű olfaktométerrel végeztük. A szaglókérgi neuronok spontán és szagingerek által kiváltott elektromos aktivitását szerotoninerg stimuláció jelenlétében, illetve hiányában is vizsgáltuk majd az eredményeket összehasonlítottuk egymással.

Az LH és a DR kapcsolatának feltárását célzó kísérletekben AAV-syn-ChR2-Venus víruskonstruktot injektáltunk vad típusú egerek LH területére, ami panneuronális ChR2 expressziót eredményezett az LH területén. A GABAerg LH-DR kapcsolat feltárását célzó kísérletekben AAV-DIO-ChR2-tdTomato víruskonstruktot injektáltunk VGAT-cre egerek LH területére, amely szelektív ChR2 expressziót eredményezett az LH GABAerg neuronjaiban.

3.5 Pupilometria

Éber egerek agyi állapotának precíz meghatározása érdekében pupilometriát használtunk. Az immobilizált állatok szemgolyóját egy infravörös fénykibocsátó diódával világítottuk meg és pupillájukat egy infravörös kamerával monitoroztuk az elektrofiziológiai regisztrációval párhuzamosan. A pupilometria és elektrofiziológiai jeleket úgy szinkronizáltuk, hogy a szemgolyó megvilágítását minden percben 3 ms-ig kikapcsoltuk, a fénykibocsátó dióda vezérlését az elektrográfias jelekkel együtt rögzítettük és összehangoltuk a megvilágítás hiányában keletkező fekete képekkel. A pupilometriás videot alkotó képeken a pupillát egy saját fejlesztésű ImageJ környezetben írt applikációval detektáltuk és a pupilla átmérőjét az összes állatból készült felvétel esetén a legszűkebb, illetve a legtágabb átmérő között normalizáltuk.

3.6 Farmakológia

In vitro kísérleteinkben az aCSF-ben oldott anyagokat a perfúziós kamrához adtuk, vagy a regisztrált neuron sejtestének közvetlen környezetébe elhelyezett (40-60 μm) patch-clamp pipetta segítségével juttattuk a sejthez. A pipettát az alkalmazni kívánt anyaggal töltöttük fel és 2 s-os időtartamú, ~200 mbar nyomással juttattunk a regisztrált neuron közelébe. Az elsődleges vizuális kéreg farmakológiai inaktivációját 200 nL, 1 mM-os muscimol oldattal végeztük.

3.7 A regisztrált neuronok azonosítása

A regisztrált neuronok azonosítása morfológiai és/vagy fiziológiai kritériumok szerint történt. A morfológiai azonosítás esetén figyelembe vettük a sejtest alakját és méretét, a dendrit- és axonarborizáció alakját és a sejt lokalizációját. Fiziológiai azonosítás esetén az akciós potenciálok félszélességnél mért időtartamát vettük figyelembe. A CGL területén a 0.35 ms-nál

dc_1964_21

rövidebb félszélességű akciós potenciálokat lokális interneuronoktól, a 0.35 ms-nál hosszabb félszélességű akciós potenciálokat thalamokortikális neuronoktól származónak véltük. A szomatoszenzoros thalamusz esetén, ahol lokális interneuronok nem találhatók, az akciós potenciálok thalamokortikális neuronok sejttestéből vagy nRT axonokból származhattak az akciós potenciálok félszélessége, illetve az interspike-intervallum sajátosságai alapján. Agykérgi regisztrátumok esetén a 0.35 ms-nál rövidebb félszélességű akciós potenciálokat tekintettük gyorsan tüzelő sejtekből származónak. A raphé mag esetén a 6 Hz-nél magasabb spontán tüzelésű neuronokat tekintettük gátlósejteknek.

3.8 Agyi állapotok meghatározása

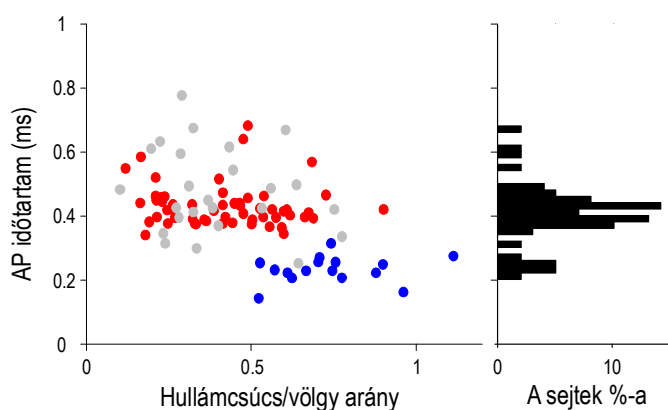
Éber egerek esetén az aktív ébrenléletet szűk pupilla és deszinkronizált kérgi mezőpotenciál, nyugodt ébrenléletet tág pupilla és kérgi 3-5 Hz oszcillációk jellemezték. Macskák esetén a nyugodt ébrenlélet alatt 8-13 Hz-es α hullámok jelenléte jellemezte az okcipitális EEG regisztrátumot. Lassú hullámú alvást poligráfias regisztrációk (EEG, EMG) során határoztunk meg. Az absence epilepsziás rohamok túske-hullám kisüléseit nagy amplitúdójuk (3x alapaktivitás) és jellegzetes alakjuk alapján azonosítottuk.

6. Eredmények és következtetések

6.1 A fiziológiás agyi állapotok mechanizmusai és szerepei

6.1.1 A spontán thalamokortikális aktivitás állapotfüggése

A thalamokortikális rendszer neuronális aktivitása jól követi az éber állatok gyors és tranzienst állapotváltozásait, melynek során aktív ébrenléti és nyugodt ébrenléti állapotok váltják egymást. A primér szenzoros kérgi területek neuronjainak spontán aktivitása, illetve szenzoros ingerekre adott válasza és a szenzoros percepció is nagymértékben függ az agyi állapotoktól (McGinley és mtsai., 2015). Ébrenlét és paradox alvás (PA) alatt tónusos akcióspotenciál-leadás, alvás alatt viszont kisüléssorozat tüzelés jellemzi a thalamusz neuronjainak aktivitását (Hirsch és mtsai., 1983; Domich és mtsai., 1986). A TC neuronok aktivitásának ébrenlét alatti állapotfüggése viszont kevésbé ismert; bizonyos szakirodalmi adatok szerint a vizuális ingerekre adott neuronális válaszok állapotfüggőek (Niell és Stryker,



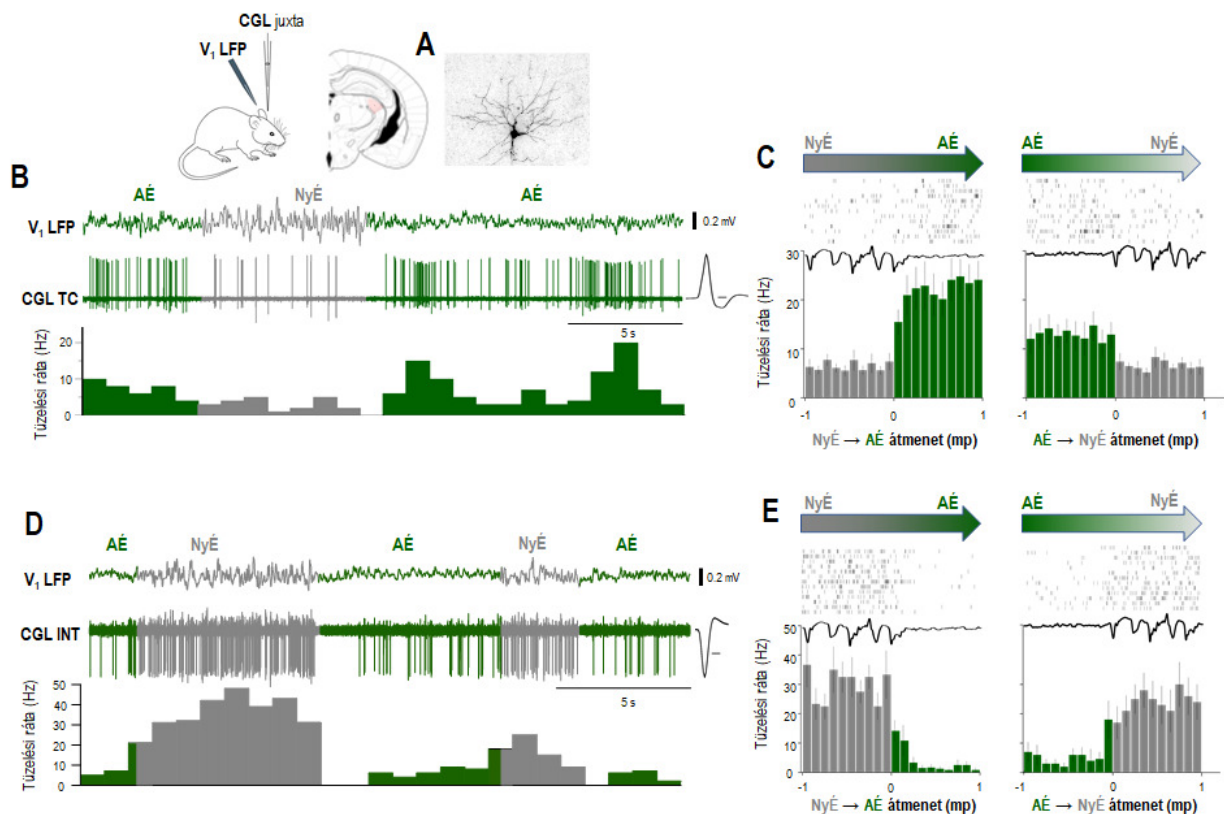
15. ábra. A thalamikus neuronok fiziológiai kritériumok szerinti csoportosítása. Bal: pupillaátmérő változással pozitívan (piross), negatívan (kék) és pupillaátmérővel nem korreláló (szürke) thalamikus neuronok akciós potenciáljainak (AP) időtartama a hullámcsúcs/völgy arány függvényében. Jobb: az AP időtartamok eloszlása.

2010; Aydin és mtsai., 2018), de a spontán thalamikus aktivitás nem (Niell és Stryker, 2010). A spontán thalamikus aktivitás állapotfüggésének hiánya az agyi állapotok nem megfelelő definíciójának következménye is lehet: egyes tanulmányokban az aktív ébrenlétet motorikus tevékenység jelenlétével, a nyugodt ébrenlétet immobilitással hozták összefüggésbe (Niell és Stryker, 2010). Kiderült viszont, hogy míg a motorikus

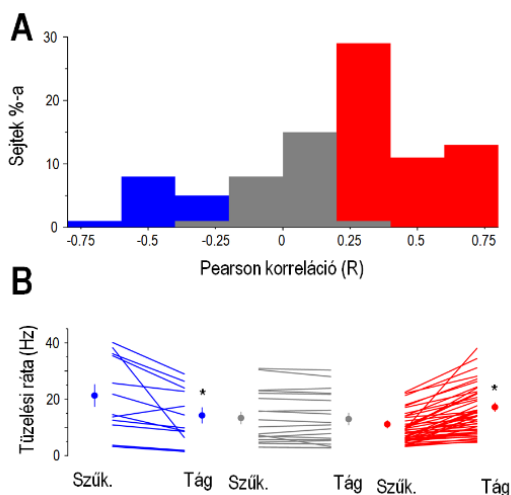
tevékenységgel jellemezhető szakaszok mindig aktív ébrenléttel társíthatók, addig az immobilitás alatt aktív és nyugodt ébrenléti (NyÉ) szakaszok egyaránt előfordulnak (Vinck és mtsai., 2015). A spontán thalamikus aktivitás állapotfüggésének hiányát (Niell és Stryker, 2010) valószínűleg az agyi állapotok nem megfelelően precíz definiálása eredményezheti. Ennek tisztázása érdekében éber, fejrögzített egerek azonosított thalamikus neuronjainak spontán elektromos aktivitását tanulmányoztuk szimultán látókérgi (V1) lokális mezőpotenciál regisztráció és pupilometria mellett. A NyÉ-t nagy amplitúdójú (0.77 ± 0.2 mV, $n = 98$), lassú (3-6 Hz) V1 mezőpotenciál oszcillációk, míg az aktív ébrenlétet (AÉ) kis amplitúdójú, gyors

V1 mezőpotenciál oszcillációk (0.27 ± 0.11 mV, $n = 98$) jellemezték (**16. ábra**). A regisztrált CGL TC és interneuronokat fiziológiai (**15. ábra**) vagy morfológiai (**16. A ábra**) kritériumok alapján azonosítottuk. A fiziológiai azonosítás alapja a regisztrált neuronok akcióspotenciáljainak időtartama volt (Durand és mtsai., 2016) (**15. ábra**). A jellegzetes dendritikus morfológia (Friedlander és mtsai., 1981) alapján a TC neuronok egyértelműen azonosíthatók.

Az agyi állapotváltozások során az összes morfológiailag azonosított TC sejt ($n=7$) aktivitása jelentős változásokat mutatott (**16 ábra**). A NyÉ-ből AÉ-be történő tranzíciók során a neuronok átlag spontán tüzelési rátája fokozódott, viszont az AÉ-ből NyÉ-be történő tranzíciók során csökkent (NyÉ: 6.2 ± 0.99 Hz, AÉ: 20.1 ± 3.4 ; $p < 0.001$, **16. ábra B és C**).



16. ábra. CGL TC sejtek és interneuronok spontán aktivitásának állapotfüggő változásai. (A) kísérleti felállítás: éber, immobilizált egerek thalamikus neuronjait juxtacelluláris technikával regisztráltuk (CGL juxta) az agyi állapot meghatározását szolgáló szimultán elsődleges látókérgi mezőpotenciál regisztrációval (V1 LFP). (B) Az ábra A részén bemutatott morfológiailag azonosított CGL TC neuron spontán állapotváltozásai aktív ébrenlét (AÉ), illetve nyugodt ébrenlét (NyÉ) között. (C) NyÉ és AÉ közötti (bal), illetve AÉ és NyÉ közötti (jobb) tranzíciók. (D) Fiziológiailag azonosított (kalibráció: 0,2 ms) CGL interneuron spontán állapotváltozásai AÉ, illetve NyÉ között. (E) NyÉ és AÉ közötti (bal), illetve AÉ és NyÉ közötti (jobb) tranzíciók.

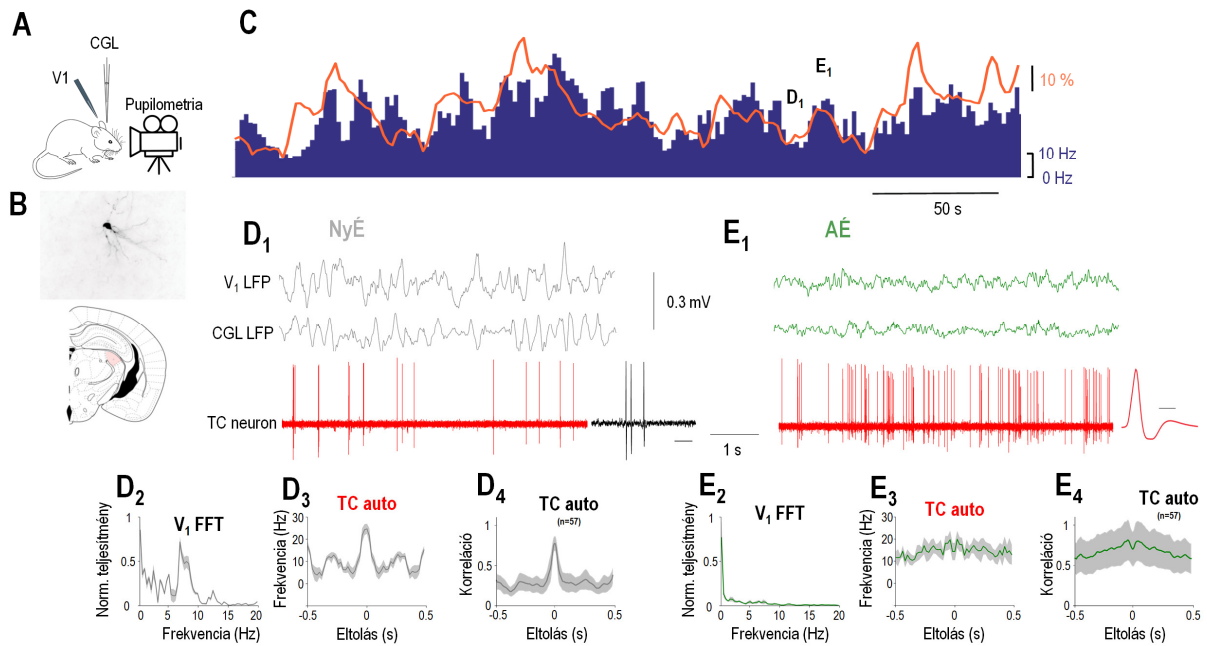


17. ábra. (A) CGL neuronok spontán aktivitása és a pupillaátmérő korrelációjának eloszlása. Kék: negatív korreláció, szürke: nem szignifikánsan korrelált, pirossal: pozitív korreláció. (B) A három neuroncsoport spontán tüzelési ráta változásai szűk és tág pupillaátmérő között.

A regisztrált neuronok egy részét magas spontán tüzelés jellemezte (**16. D ábra**), ezeknek a sejteknek a spontán aktivitása a **NyÉ→AÉ** tranzíciók során csökkent, viszont az **AÉ→NyÉ** tranzíciók során fokozódott (**16. D és E ábra**). Az ébrenlét és a thalamikus aktivitás összefüggését a továbbiakban úgy vizsgáltuk, hogy thalamikus neuronok spontán elektromos aktivitását regisztráltuk szimultán V1 mezőpotenciállal és pupilometriával, majd a regisztrált neuronok tüzelési rátáját a kvantifikált pupillaátmérővel korreláltattuk. A legtöbb regisztrált thalamikus neuron (73/98, 74%) aktivitása szignifikáns összefüggést mutatott a pupillaátmérő

fluktuációval ($p < 0.05$, állapotfüggő neuronok), a többi sejt (25/98, 26%) korrelációja nem mutatott szignifikáns korrelációt ($p > 0.05$). Az állapotfüggő neuronok egy része szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a pupillaátmérővel (57/73, $p < 0.05$, Pearson $r = 0.41 \pm 0.025$; **17. ábra**). Morfológiai ($n = 7$ juxtacellulárisan jelölt neuron) vagy fiziológiai paraméterek szerint mind a pozitív korrelációt mutató állapotfüggő sejtek, mind pedig a nem modulált neuronok TC neuronok voltak. Ezek akcióspotenciáljainak időtartama viszonylag hosszú volt (pozitív állapotfüggő neuronok: 0.43 ± 0.01 ms, nem modulált neuronok: 0.48 ± 0.02 ms, $p > 0.05$).

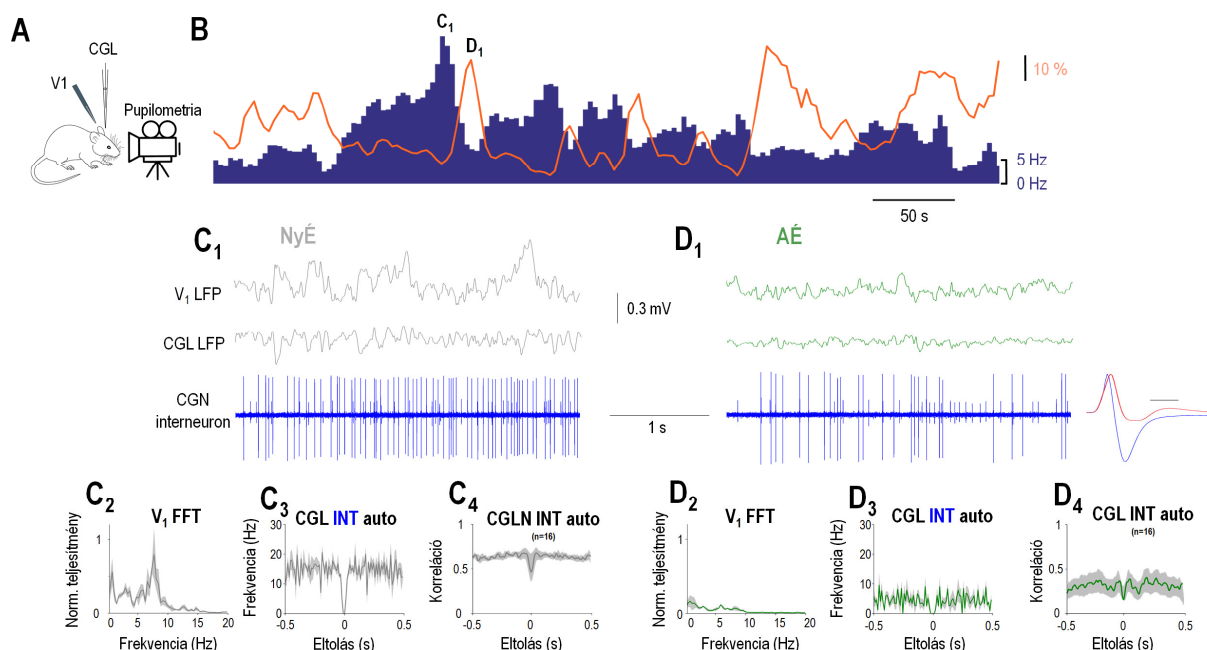
A **18. ábrán** látható morfológiailag azonosított TC neuron pozitív korrelációt mutatott a pupillaátmérővel. A szűk pupillaátmérővel jellemezhető **NyÉ** állapotokban a V1 mezőpotenciál szinkronizált aktivitást mutat, a neuron elektromos aktivitása kisüléssorozatos tüzeléssel jellemezhető (**18. ábra**). A tág pupillaátmérővel jellemezhető **AÉ** állapotokban a V1 mezőpotenciál deszinkronizált aktivitást mutat, a neuron elektromos aktivitása magas frekvenciájú tónusos tüzeléssel jellemezhető (**17. ábra**). A szűk pupillaátmérőjű szakaszok tehát **NyÉ** állapotok, ugyanis a V1 mezőpotenciál egyértelmű csúcsot mutat a 3–6 Hz frekvenciatartományban (**18. ábra D₂**), illetve a neuron aktivitásának autokorrelációja alacsony frekvenciás ritmikus kisüléssorozatra jellemző (**18. ábra D₃**).



18. ábra. CGL TC sejtek spontán aktivitásának korrelációja a pupillaátmérővel. (A) kísérleti felállítás: éber, immobilizált egerek thalamikus neuronjait extracelluláris technikával regisztráltuk (CGL) az agyi állapot meghatározását szolgáló szimultán elsődleges látókérgi mezőpotenciál regisztrációval (V1), illetve pupilometriával. (B) Azonosított neuron morfológiája és helyzete a thalamusban. (C) A (B) ábrarészen bemutatott TC neuron spontán aktivitásának rátája (kék oszlopok) és a szimultán regisztrált pupillaátmérő (narancs vonal) változásai összefüggést mutatnak. (D₁) Az ábra (C) részén indikált szűk pupillaátmérővel rendelkező NyÉ szakasz alatt megfigyelhető a V1 és CGL mezőpotenciálok szinkron aktivitása, illetve a TC neuron LT kisülései (időkalibráció: 5 ms). (E₁) Az ábra (C) részén indikált tág pupillaátmérővel rendelkező AÉ szakasz alatt megfigyelhető a V1 és CGL mezőpotenciálok deszinkronizált aktivitása, illetve a regisztrált TC neuron tónusos tüzelése. (D₂, E₂) a két állapotból készített átlagolt teljesítményspektrum. (D₃, E₃) a szemléltetett neuron autokorrelációja a két állapotban. (D₄, E₄) Az összes regisztrált TC neuron autokorrelációja a két állapotban.

Másrészt a tág pupillaátmérőjű szakaszok **AÉ** állapotok, ugyanis a V1 mezőpotenciál nem mutat egyértelmű csúcsot a 3–6 Hz frekvenciatartományban (**18. ábra E₂**), a neuron aktivitásának autokorrelációja pedig magas frekvenciás tónusos tüzelésre jellemző (**18. ábra E₃**). Mind a tüzelési ráta változások, mind pedig a tüzelési mód változások a teljes sejtpopulációra is jellemzőek voltak (**18. ábra D₄ és E₄**).

A neuronok egy kis része negatív korrelációt mutatott a pupillaátmérő fluktuációival (16/98, 16%, $p < 0.05$, Pearson $r = 0.4 \pm 0.045$). A negatív korrelációt mutató sejtek akcióspotenciáljainak időtartama a pozitív és nem korrelált sejtekénél szignifikánsan rövidebb volt (negatív korrelált sejtek: 0.23 ± 0.01 ms, TC sejtek: 0.44 ± 0.01 , $p < 0.05$; **19. ábra D₁**), ezek a neuronok valószínűleg CGL interneuronok (Durand és mtsai., 2016).



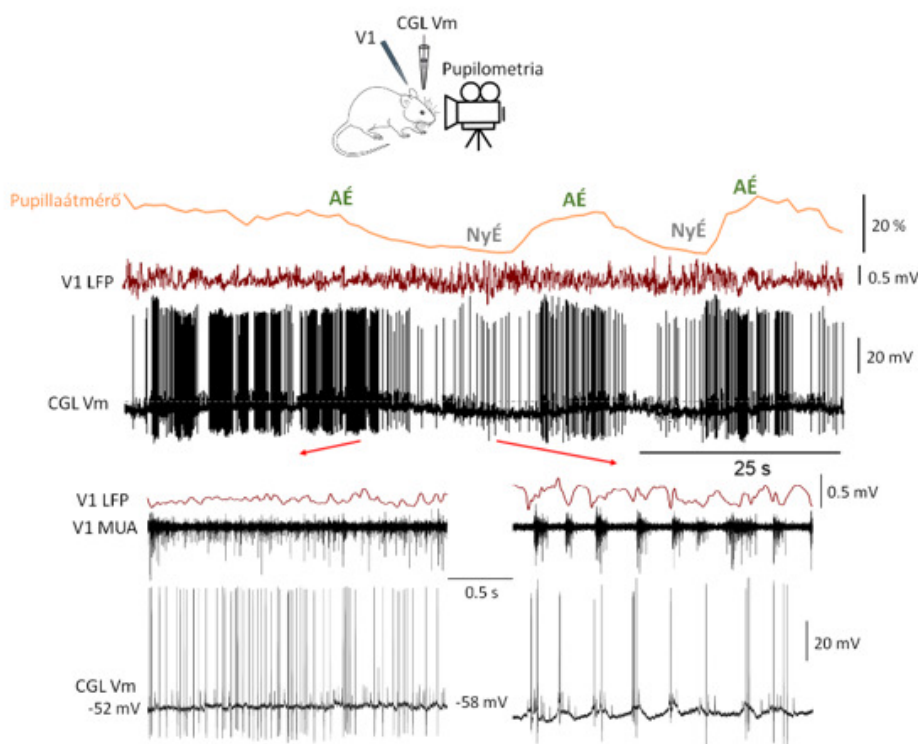
19. ábra. CGL interneuronok spontán aktivitásának korrelációja a pupillaátmérővel. (A) kísérleti felállítás. (B) Fiziológiailag azonosított CGL interneuron spontán aktivitásának rátája (kék oszlopok) és a szimultán regisztrált pupillaátmérő (narancs vonal) változásai fordított összefüggést mutatnak. (C₁) Az ábra (B) részén indikált szűk pupillaátmérővel rendelkező NyÉ szakasz alatt megfigyelhető a V1 és CGL mezőpotenciálok szinkron aktivitása, illetve a CGL interneuron magas frekvenciájú tónusos tüzelése. (D₁) Az ábra (B) részén indikált tág pupillaátmérővel rendelkező AÉ szakasz alatt megfigyelhető a V1 és CGL mezőpotenciálok deszinkronizált aktivitása, illetve a regisztrált CGL interneuron alacsony frekvenciájú tónusos tüzelése. (C₂, D₂) a két állapotból készített átlagolt teljesítményspektrum. (C₃, D₃) a szemléltetett neuron autokorrelációja a két állapotban. (C₄, D₄) Az összes regisztrált CGL interneuron autokorrelációja a két állapotban.

A **19. ábrán** látható fiziológiailag azonosított CGL interneuron negatív korrelációt mutatott a pupillaátmérővel. A szűk pupillaátmérővel jellemezhető NyÉ állapotokban a V1 mezőpotenciál szinkronizált aktivitást mutat (**19. ábra C₁₋₂**), a neuron elektromos aktivitása magas frekvenciájú tónusos tüzeléssel jellemezhető (**19. ábra C₁₋₃**). A tág pupillaátmérővel jellemezhető AÉ állapotokban a V1 mezőpotenciál deszinkronizált aktivitást mutat, a neuron elektromos aktivitása alacsony frekvenciájú tónusos tüzeléssel jellemezhető (**19. ábra D₁₋₃**). A fenti állapotfüggés a teljes negatív korrelációt mutató sejtpopulációra is jellemző (**19. ábra C₄** és **D₄**). Fontos kiemelnünk, hogy a feltételezett CGL interneuronok aktivitása mind a NyÉ (**19. ábra C₄**), mind pedig az AÉ (**19. ábra D₄**) állapotban tónusos tüzeléssel jellemezhető, ez szintén a teljes sejtpopuláció esetén elmondható.

Tehát az állapotfüggés alapján az éber egerek CGL neuronjai három csoportot alkotnak: fokozott ébrenlét alatt magas spontán aktivitással jellemezhető, illetve agyi állapotok által nem modulált aktivitású TC neuronok és csökkent ébrenlét alatt magas spontán aktivitással jellemezhető CGL interneuronok csoportjait. A thalamikus neuronok tehát a különböző ébrenléti állapotokban sejtspecifikus aspektusokkal rendelkeznek.

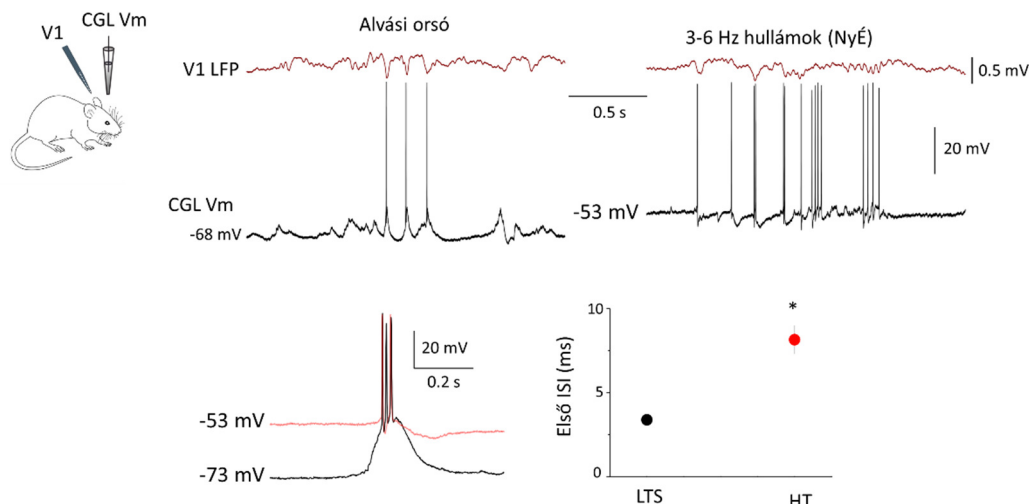
Az állapotfüggő tüzelési ráta változásokat okozó sejtes mechanizmusok tisztázása érdekében éber, immobilizált egerek TC neuronjaiból intracelluláris elvezetéseket végeztünk (n=5 neuron) szimultán pupilometria, V1 lokális mezőpotenciál és multiunit regisztrációval. A tág pupillaátmérővel jellemezhető **AÉ** szakaszokban a neuronok átlagos spontán tüzelése viszonylag magas (19.96 ± 10.98 Hz, **22. ábra E**), membránpotenciáljuk hipopolarizált (-59.1 ± 2.82 mV, **22. ábra D**).

Minden intracelluláris technikával regisztrált neuron membránpotenciálja szignifikáns pozitív korrelációt mutatott a pupillaátmérővel (**20. ábra**). A szűk pupillaátmérővel jellemezhető **NyÉ** szakaszokban a neuronok átlagos spontán tüzelése viszonylag alacsony (6.98 ± 3.19 Hz, **22. ábra E**), membránpotenciáljuk hiperpolarizált (-63.0 ± 2.3 mV, **22. ábra D**) volt. Két regisztrált neuron esetében kisüléssorozat tüzelést figyeltünk meg **NyÉ** állapotban (**20. és 21. ábrák**), amelyek tulajdonságai nem egyeztethetők össze a „klasszikus” alacsony küszöbű Ca^{2+} potenciál mediált kisüléssorozatokkal (Llinas és Jahnsen, 1982; Jahnsen és



20. ábra. A TC neuronok membránpotenciál fluktuációi összefüggést mutatnak a pupillaátmérő változásaival. Szimultán pupilometria, V1 LFP, V1 multi-unit aktivitás (MUA) és CGL TC membránpotenciál (CGL Vm) regisztráció az ébrenlét különböző szakaszaiban. **AÉ** állapotban tág pupillaátmérő, deszinkronizált V1 LFP és tónusos TC neuron aktivitás, **NyÉ** állapotban szűk pupillaátmérő, 3-6 Hz V1 LFP és MUA, illetve kisüléssorozat TC neuron aktivitás figyelhető meg.

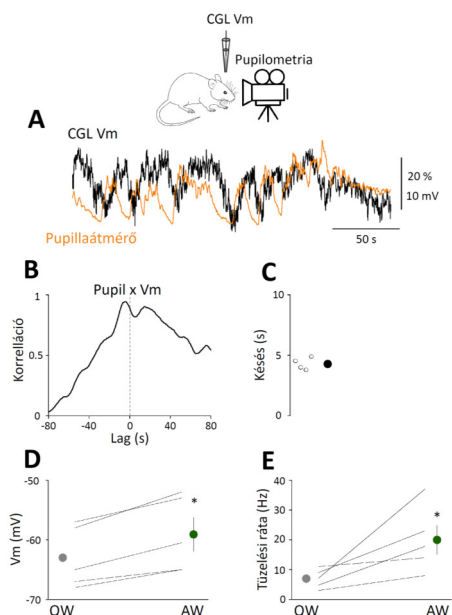
Llinas, 1984), tehát valószínűleg HT kisüléssorozatokat. Ugyanaz a neuron képes alacsony küszöbű kisüléseket generálni hiperpolarizált membránpotenciál mellett, alvási orsók idején, és



21. ábra. *LT és HT aktivitás egyazon TC neuronban különböző agyi állapotok mellett. Szimultán elsődleges látókérgi mezőpotenciál (V1 LFP) és thalamokortikális neuron intracelluláris regisztráció (CGL Vm) alvó és éber egérben. Részletek a szövegben.*

képes magas küszöbű kisüléseket generálni hipopolarizált membránpotenciál mellett, NyÉ idején (**21. ábra**). Fontos megjegyeznünk, hogy a HT kisülések nem kizárólag a kiinduló nyugalmi membránpotenciál tekintetében tértek el az LT kisülésektől, hanem a kisülések AP-i közötti időtartam tekintetében is (**21. ábra**)

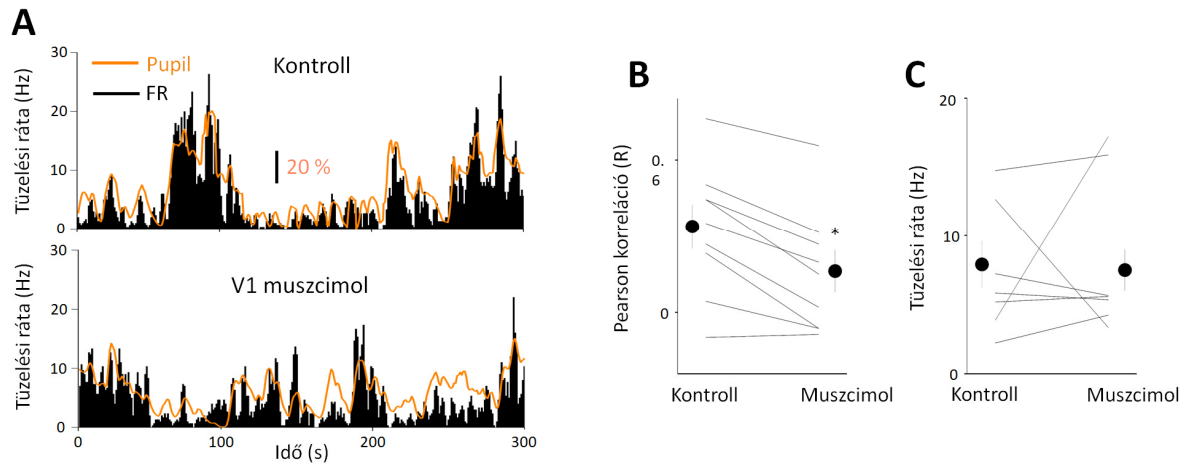
A membránpotenciál és a pupillaátmérő keresztkorreláció analízise arra utal, hogy az előbbi



22. ábra. *TC membránpotenciál és pupillaátmérő összefüggése. (A) Szűrt (<1 Hz) TC Vm és pupillaátmérő fluktuációja. (B) Pupillaátmérő és TC Vm keresztkorrelációja és az ez alapján számolt Vm késés (C). (D) TC Vm állapotfüggése. (E) Intracelluláris regisztrációk állapotfüggő tüzelési rátája.*

az utóbbit követi körülbelül 5 mp-es időeltolódással (**22. ábra A, B és C**). A thalamikus neuronok állapotfüggésének eredetét farmakológiai inaktivációs kísérletekkel határoztuk meg. A kortikothalamikus visszacsatolás inaktíválása után az egyedi neuronok átlagos tüzelési rátája számottevő változásokat mutatott (**23. ábra**), azonban ez a teljes populációra vetítve nem volt szignifikáns (kontroll: 7.93 ± 1.69 Hz, V1 inaktivációt követően: 7.52 ± 1.47 Hz, $p > 0.05$, $n=9$; **23. C ábra**). A regisztrált neuronok V1 inaktiváció előtti pupillakorrelációja szignifikánsan csökkent az inaktivációt követően (kontroll: 0.28 ± 0.07 , V1 inaktivációt követően: 0.13 ± 0.06 , $p < 0.05$, $n=9$; **23. B ábra**). Az izovolumetrikus fiziológias sóoldat V1 injekciója nem volt hatással a CGL neuronok tüzelési rátájára, illetve a pupillaátmérő korrelációjára.

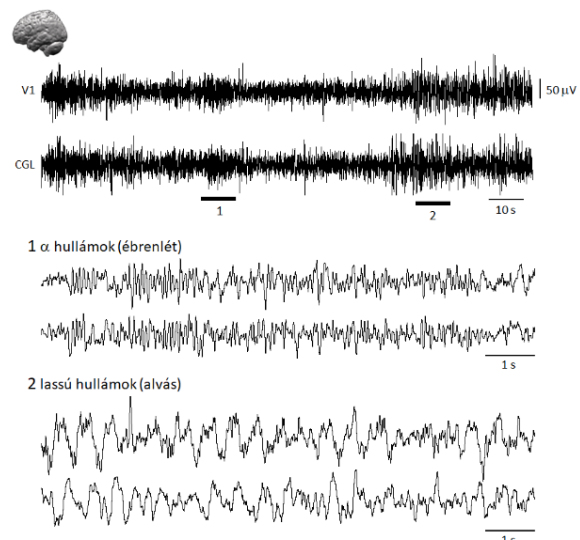
Tehát a neuronok állapotfüggése részben a kortikothalamikus visszacsatolás következménye, a thalamikus neuronok spontán aktivitása sejttípus specifikusan korrelál a gyors és tranzienst agyi állapotváltozásokkal, az állapotfüggés során megfigyelhető tüzelési ráta változásokat membránpotenciál-változások okozzák.



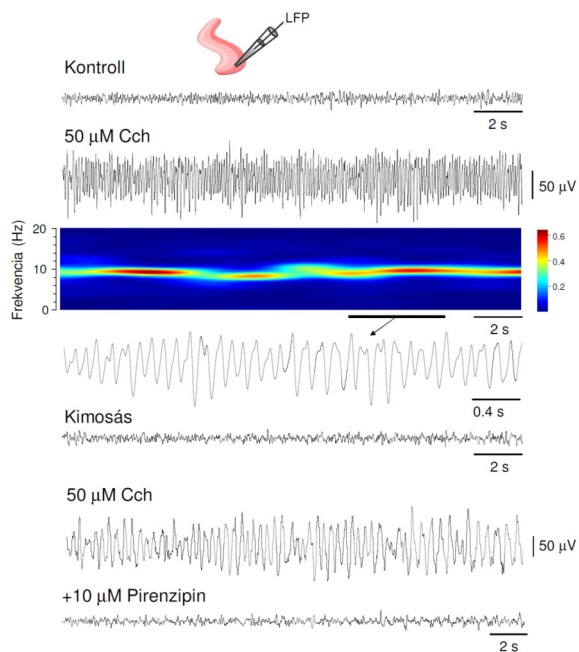
23. ábra. V1 inaktiváció hatása a CGL neuronok állapotfüggésére. (A) Repräsentatív TC neuron tüzelési ráta és pupillaátmérő fluktuáció kontroll és V1 inaktiváció során. (B) A pupillaátmérő és a CGL TC neuronok tüzelési rátáinak korrelációja kontroll és V1 inaktiváció során. (C) CGL TC neuronok tüzelési rátája kontroll és V1 inaktiváció során.

6.1.2 Thalamikus α oszcillációk generálásának mechanizmusai

α hullámokat már az első EEG regisztrációkor leírták (Berger, 1929), viszont keletkezésük sejtes mechanizmusai sokáig tisztázatlanok maradtak. Ennek egyik oka az, hogy kizárólag ébrenlét alatt figyelhetők meg, következésképpen a thalamokortikális oszcillációk mechanizmusainak vizsgálatát célzó, számos altatott állaton végzett kísérletben az α hullámok nem jelentek meg, annak ellenére, hogy az alvási orsók, a lassú és δ oszcillációk, a hippokampális θ és γ oszcillációk celluláris és hálózati mechanizmusaira fény derült az intracelluláris regisztrációt használó laboratóriumi kutatások során. Megfigyeltük, hogy szabadon mozgó macskák V1 és CGL területén regisztrált mezőpotenciálok mind az alvási lassú oszcillációk, mind pedig az α oszcillációk esetében összefüggő aktivitást



24. ábra. α és lassú oszcillációk szimultán jelenléte CGL és V1 lokális mezőpotenciálokban.



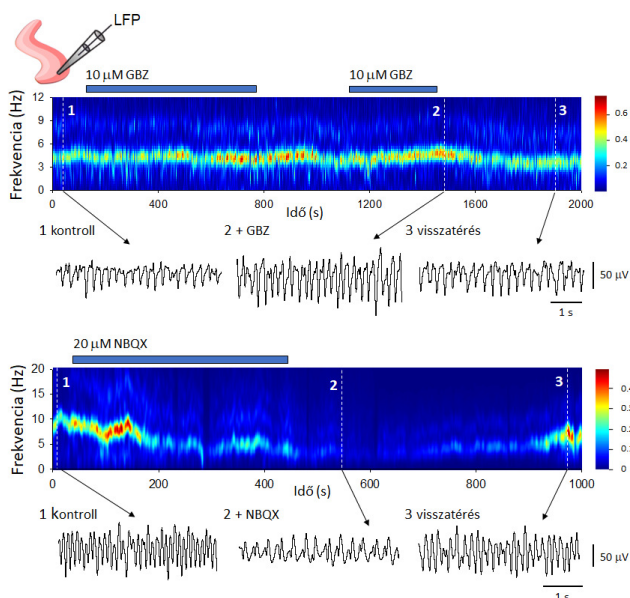
25. ábra. CGL α oszcillációk *in vitro*. A kربول (Cch) hatására jelentkező 10 Hz-es α oszcillációk kimosást követően, illetve mAChR1 blokkoló hatására megszűnnek.

túlélő thalamikus agyseletekben az éber állatokéhoz hasonló α oszcillációkat generáltunk farmakológiai módszerekkel. Az *in vitro* körülmények között végzett kísérleteink előnye, hogy viszonylag egyszerű a neuronok membránpotenciálját a proximális neuronhálózat többi sejtjének elektromos aktivitásával szimultán monitorozni, illetve farmakológiailag manipulálni.

Az, hogy a nem-specifikus kolinerger receptor agonista kربول (Cch, 50 μ M) perfúziós oldathoz adagoltuk, a lokális mezőpotenciálban jelentkező prominens α oszcillációkat (8-13 Hz) hozott létre macskák túlélő thalamikus agyseleteiben (25. ábra) (Lőrincz és mtsai., 2008). Az mAChR1 blokkoló pirenzipin perfúziós oldathoz adagolása megszüntette az *in vitro* α oszcillációkat (25. ábra). A GABA_A receptor specifikus antagonistájának (gabazin, GBZ) perfúziós oldathoz való hozzáadása növelte, az

AMPA/KA glutamát receptorok blokkolása NBQX-szel viszont csökkentette az α oszcillációk

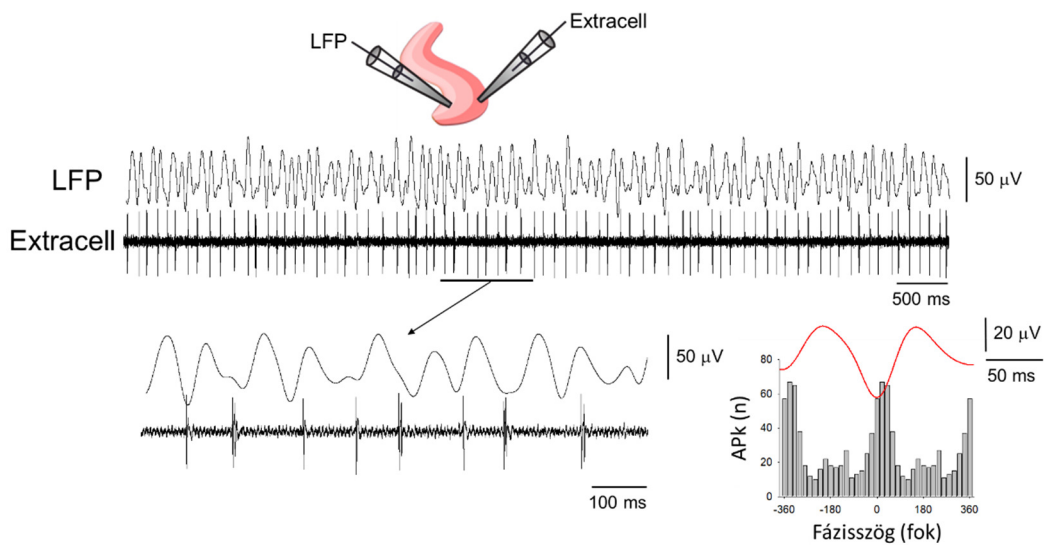
mutatnak (24. ábra), így valószínűnek tartottuk azt, hogy a két terület lokális neuronhálózata, illetve a hosszútávú projekciók dinamikus interakciója generálja az alvás-ébrenléti ciklus különböző hullámait. Közismert, hogy a CGL neuronjainak egy része az α hullámokkal korrelált ritmikus kisüléssorozatot generál (Hughes és mtsai., 2004). Az α hullámok generálódásának celluláris és hálózati mechanizmusainak tisztázása érdekében egyrészt szabadon mozgó állatok CGL TC neuronjainak aktivitását monitoroztuk szimultán okcipitális EEG regisztrációt és lokális thalamikus farmakológiát alkalmazva, másrészt pedig



26. ábra. GABA_A és iGlu receptorok blokkolásának hatása az *in vitro* α oszcillációkra.

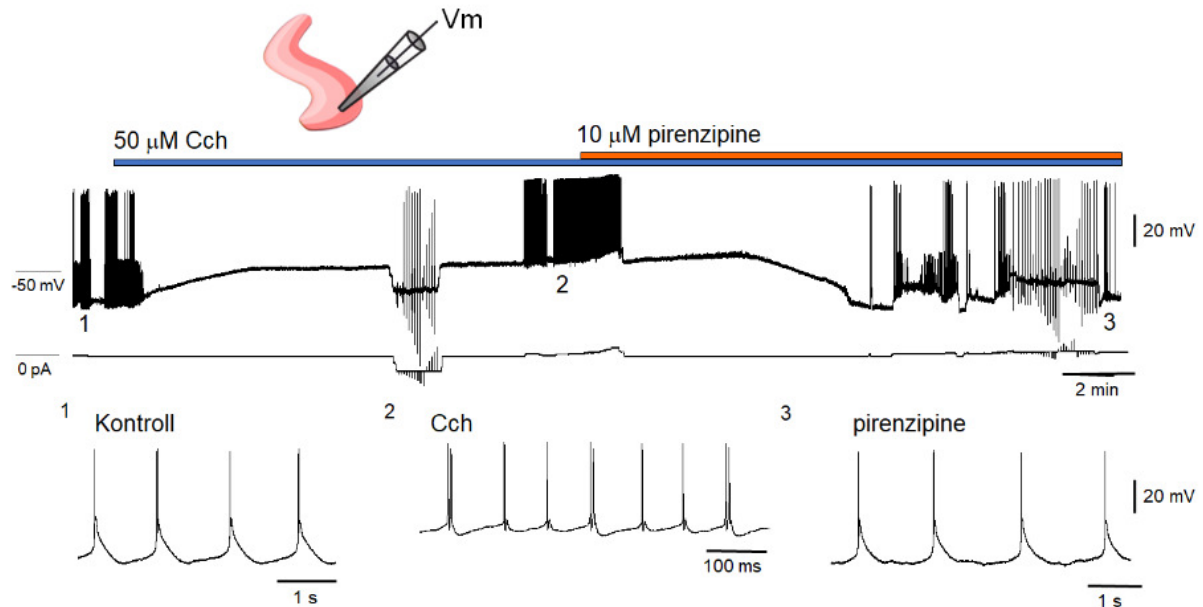
amplitúdóját, de nem szüntette azt meg teljesen (**26. ábra**). Tehát levonhatjuk azt a következtetést, miszerint az *in vitro* α oszcillációk generálásához a klasszikus gyors szinaptikus neurotranszmisszió nem feltétlenül szükséges, habár a fenntartásában ezek valószínűleg fontos szerepet játszanak.

Az egyes thalamokortikális sejtek α oszcillációban való részvételét úgy vizsgáltuk, hogy extracelluláris akcióspotenciálokat vezettünk el thalamokortikális sejtekből a lokális mezőpotenciállal egyidejűleg. Az α oszcillációk alatt a regisztrált thalamokortikális sejtek 25%-ának elektromos aktivitásában az α oszcilláció egyes ciklusaival összefüggő kisüléssorozat tüzelést figyeltünk meg (**27. ábra**), a neuronok 50%-át tónusos tüzelés, 25%-át pedig elektromos aktivitás hiánya jellemezte.



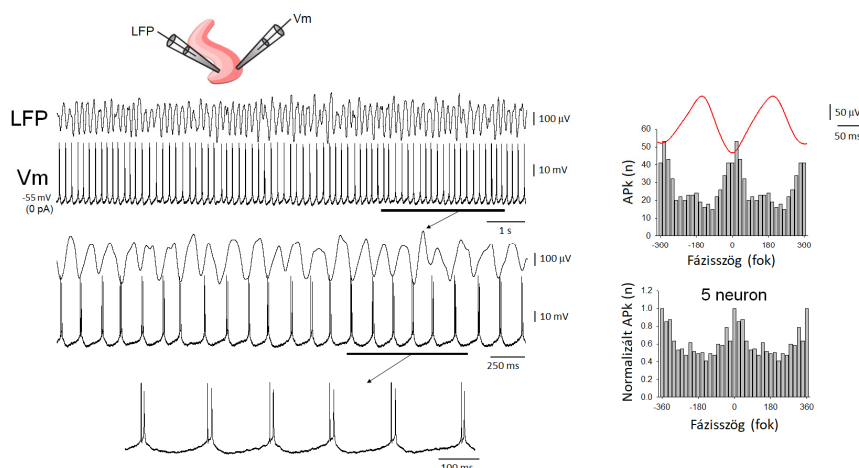
27. ábra. *In vitro* α oszcilláció alatti neuronális aktivitás a CGL-ben. Szimultán lokális mezőpotenciál és extracelluláris egysejt-elvezetés a CGL területéről kolinerg receptorok aktivációjával kiváltott α oszcillációk alatt. A jelölt szakasz az ábra alján gyorsabb időfelbontásban látható. Az ábra jobb oldalán az akciós potenciálok egyedi a ciklusok alatti eloszlása látható.

Mivel kolinerg aktiváció hatására létrejövő, az általunk tapasztaltakhoz hasonló kisüléssorozatok leírásait nem tartalmazza a vonatkozó szakirodalom, tüzetes jellemzésük végett intracelluláris regisztrációnak vetettük alá a TC sejteket. Kontroll körülmények között a sejteket hiperpolarizált membránpotenciál, depolarizáló áraminjekció esetében pedig tónusos



28. ábra. A nem specifikus kolinerg receptoragonista, Cch depolarizálja a TC neuronok membránpotenciálját, ami HT kisüléssorozatós tüzelést eredményez. A mAChR1 blokkolása pirenzepinnel a TC neuront hiperpolarizálja és az eredeti LT kisüléssorozatós állapot visszaáll.

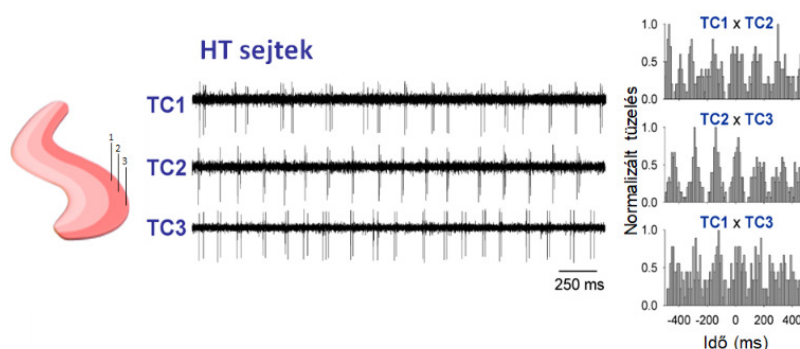
tüzelés jellemezte. Karbakol hatására viszont a sejtek membránpotenciálja hipopolarizált (28. ábra), ami néha spontán akcióspotenciálok generálódásához vezetett. A sejtek egynegyedében a lokális mezőpotenciállal korreláló kisüléssorozatokat regisztráltunk, amelyek celluláris alapja nem a már ismert alacsony küszöbű kalcium potenciál, ugyanis ezek a kisülések kevésbé hiperpolarizált membránpotenciál mellett jelentkeztek, ami összeegyeztethetetlen az alacsony küszöbű kalcium potenciálokat létrehozó T-típusú kalcium csatornák aktivációs kinetikájával, mivel ezek -65 mV-nál kevésbé hiperpolarizált membránpotenciálok mellett inaktíválódnak.



29. ábra. *In vitro* α oszcilláció alatti neuronális aktivitás a CGL-ben. Szimultán lokális mezőpotenciál és intracelluláris egysejt-elvezetés a CGL területéről kolinerg receptorok aktivációjával kiváltott α oszcillációk alatt. A jelölt szakasz az ábra alján gyorsabb időfelbontásban. Az ábra jobb oldalán az akciós potenciálok egyedi α ciklusok alatti eloszlása látható.

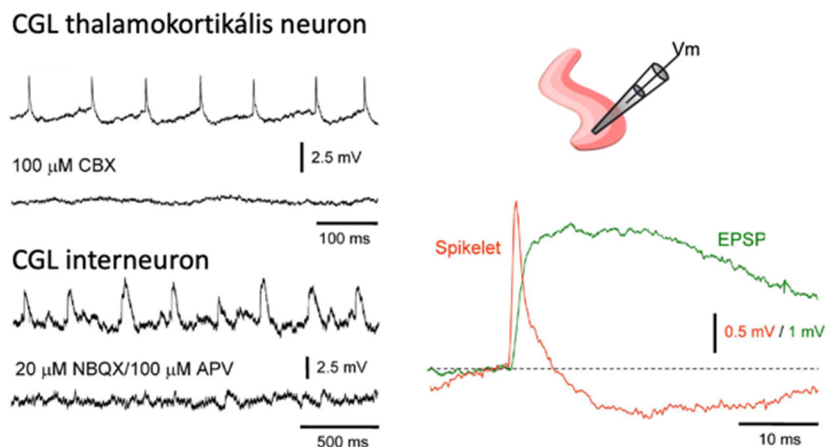
A magas küszöbű kisüléssorozatos tüzelés lehet az *in vitro* körülmények műterméke, ugyanis a vonatkozó szakirodalomban nem találtunk példát intakt állatból regisztrált hasonló jelenségekre, annak ellenére, hogy számos, a Steriade laboratóriumban folytatott kutatást feldolgozó publikáció foglalkozott a thalamokortikális sejtek fiziológiájával, az altatott állatokban nagyszámú sejtől intracelluláris technikával történő regisztrációkra alapozva. Sekély altatás rezsimben (Crunelli és mtsai., 2012), illetve éber immobilizált egerek (Molnár és mtsai., 2021) thalamokortikális sejtjeinek intracelluláris regisztrációit vizsgálva kiderült, hogy a magas küszöbű tüzelés *in vivo* körülmények között is előfordul. Az intracelluláris technikával regisztrált HT thalamokortikális neuronok kisüléssorozatos aktivitása *in vitro* számottevő ritmicitást és a lokális α oszcillációkkal való összefüggést mutatott (29. ábra).

A szimultán regisztrált neuronok esetében jelentős szinkronitás észlelhető az egyedi CGL neuronok aktivitása között (30. ábra). Felvetődik a kérdés, hogy milyen intranukleáris mechanizmus járulhat hozzá a neuronális aktivitás



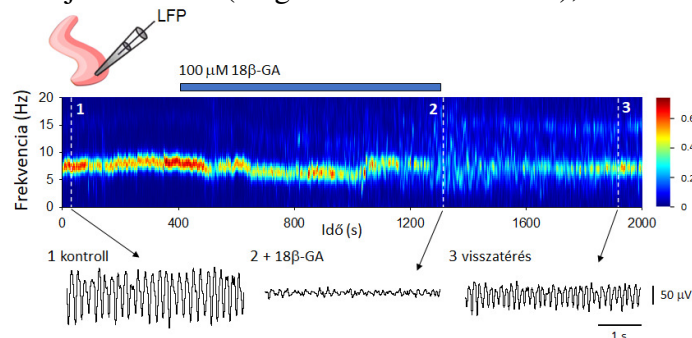
30. ábra. A HT CGL thalamokortikális neuronok szinkron ritmikus kisüléssorozatai *in vitro*. 3 szimultán regisztrált TC neuron HT kisülései, a neuronok keresztkorrelációja az ábra jobb oldalán látható.

szinkronizálásához? Mivel a serkentő intranukleáris szinapszisok nagyon ritkák, illetve sem a serkentő, sem a gátló szinaptikus transzmisszió blokkolása nem szünteti meg az *in vitro* CGL



31. ábra. Küszöbalatti jelenségek thalamikus neuronokban. Thalamokortikális neuronokban „spikelet” potenciálok regisztrálhatók. CGL interneuronokban viszont iGluR blokkoló érzékeny EPSPk regisztrálhatók. Az ábra jobb oldalán gyors időskálán látható a „spikelet”-ek és az EPSPk időtartama közötti különbség.

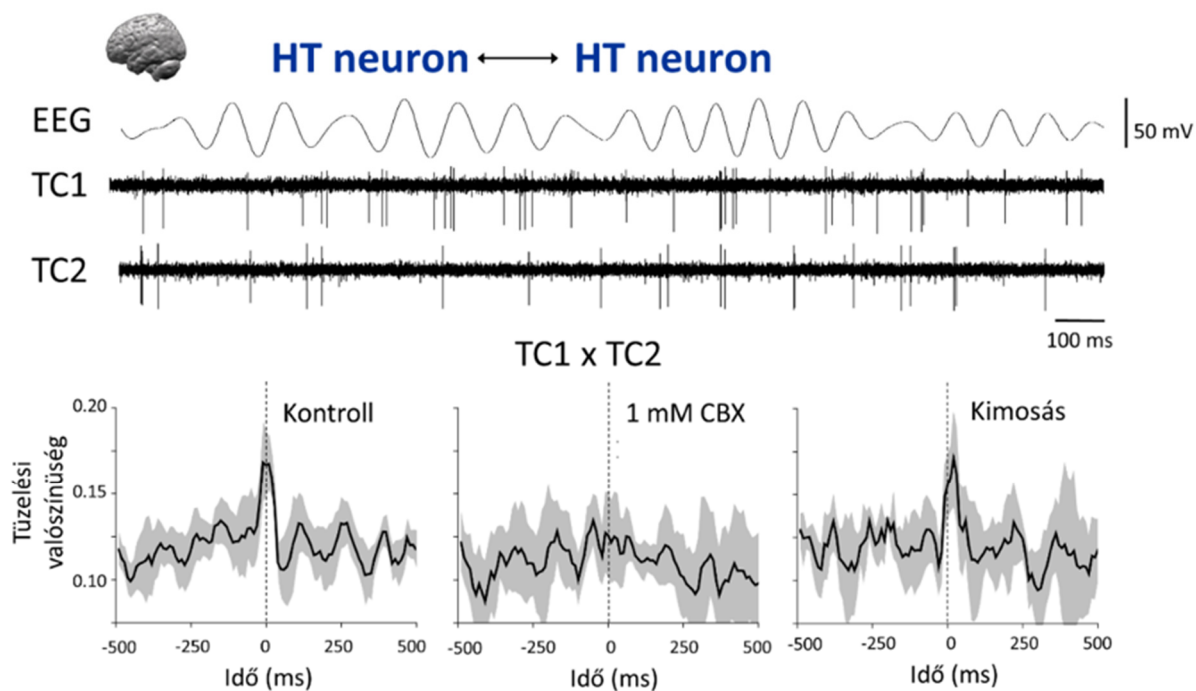
„spikelet” potenciálok regisztrálhatók, amelyek időbeni lefutása számottevően különbözik a CGL interneuronokban regisztrált EPSPk-étől (31. ábra), így nagy valószínűséggel egy proximális sejtől réskapcsolaton keresztül áterjedt akcióspotenciálból erednek. Ennek a jelenségnek a létezését alátámasztja az a tény, hogy ultrastrukturális vizsgálatok elektromos szinapszisokat találtak thalamokortikális sejtek között (Hughes és mtsai. 2011b), illetve a magas küszöbű kisüléssorozathoz hasonlóan ez a jelenség is előfordul intakt állatok intracelluláris regisztrációiban (Crunelli és mtsai., 2012). A klasszikus serkentő és gátló kémiai szinaptikus transzmisszió farmakológiai blokkolása ugyan nem szüntette meg a kolinerg receptorok reaktiválásával generált *in vitro* α oszcillációt, viszont a réskapcsolatok blokkolása megszüntette ezt (32. ábra).



32. ábra. Thalamikus réskapcsolatok gátlásának hatására az α oszcillációra *in vitro*. A réskapcsolatok farmakológiai blokkolása (18- β GA) megszünteti az oszcillációt, amely a kimosás során visszatér. A spektrogramon bejelölt szakaszok (kontroll, 18- β GA, kimosás) lokális mezőpotenciál regisztrátumait gyorsabb időskálán ábrázoltuk az ábra alján.

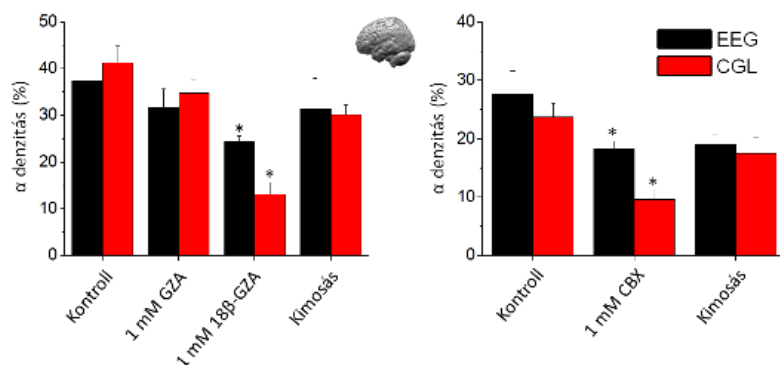
A „spikelet” potenciálok jelenléte, illetve az réskapcsolatok gátlásakor tapasztalható oszcilláció megszűnése alapján arra következtettünk, hogy egyes ritmikusan tüzelő thalamokortikális sejtek aktivitásának szinkronizációja réskapcsolatokon keresztül történik, és ez a jelenség

oszcillációkat, elképzelhető, hogy a thalamokortikális réskapcsolatok fontos szerepet játszanak a neuronok aktivitásának összehangolásában, ami az α oszcillációkra facilitáló hatással van. A regisztrált thalamokortikális sejtek némelyikében ritmikus



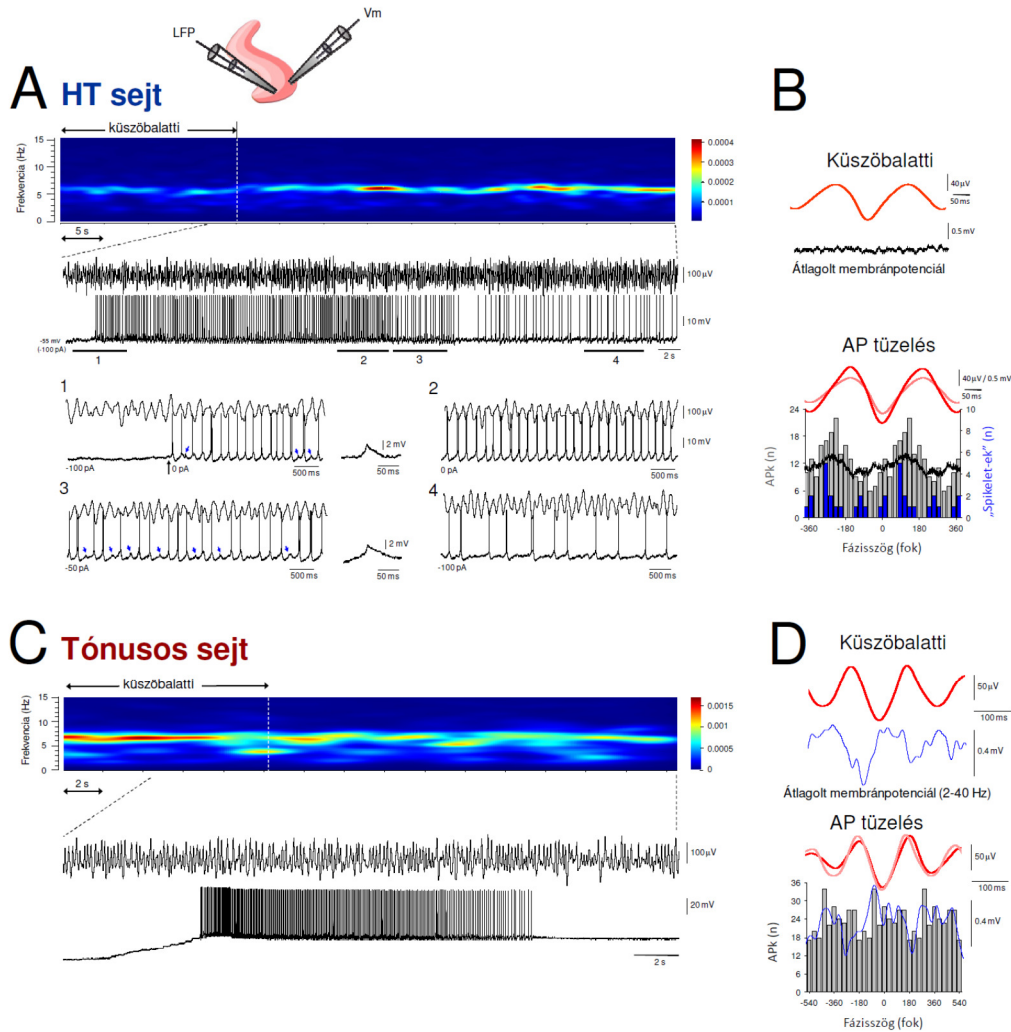
33. ábra. CGL rés-kapcsolatok blokkolásának hatása a szimultán regisztrált HT TC neuronok aktivitására. Két szimultán regisztrált HT TC neuron (TC1 és TC2) kisüléssorozatai összefüggő ritmikus aktivitást mutatnak α hullámok alatt számolt keresztkorreláción (kontroll). A CGL rés-kapcsolatok lokális blokkolása karbenoxolonnal (1 mM CBX) az összefüggő ritmikus aktivitást csökkenti, amely kimosás során visszatér.

fontos szerepet játszik az α oszcillációk thalamikus hálózatban történő generálásában. Ennek vizsgálata érdekében szabadon mozgó macskák CGL területéről TC neuronok extracelluláris elektromos aktivitását vezettük el, szimultán lokális farmakológiát és EEG elvezetést alkalmazva. A szimultán regisztrált TC neuronok α hullámok alatti aktivitása sok esetben összefüggő ritmikus aktivitást mutatott. A szimultán regisztrált HT neuronok α hullámok alatti keresztkorrelációja arra utal, hogy a HT sejtek aktivitása szinkronizált és ritmikus, jól követte az α hullámok domináns frekvenciáját, viszont a rés-kapcsolatok blokkolása ezt reverzibilisen megszüntette (**33. ábra**). Mindemellett a thalamikus rés-kapcsolatok α hullámok generálásában játszott szerepét az a kísérleti eredmény is igazolja, hogy a rés-kapcsolatok lokális thalamikus blokkolása (carbenoxolon vagy 18β -GZA reverz mikrodialízissel történő beadása) egyaránt csökkentette ezeket a CGL lokális mezőpotenciálja és az okcipitális EEG szintjén (**34. ábra**).



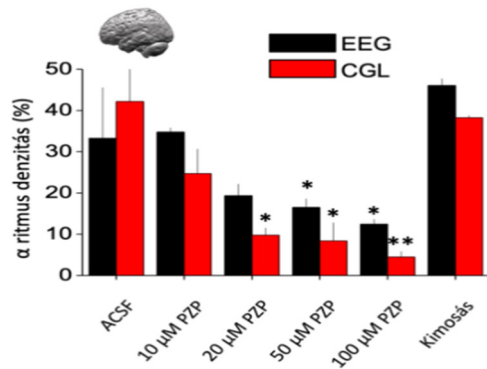
34. ábra. Lokális thalamikus réskapcsolatok blokkolásának hatása a CGL és az EEG α hullámainak denzitására. 18β -GZA (bal oldal) vagy carbenoxolon (CBX, jobb oldal) hatására a CGL és az EEG α hullámok denzitása csökken

A továbbiakban a ritmikus HT kisüléssorozatokkal rendelkező neuronok elektromos aktivitását a membránpotenciál hiperpolarizációjával gátoltuk, és a szimultán regisztrált ciklusonként átlagolt proximális mezőpotenciált összehasonlítottuk a regisztráció olyan szakaszaival, amikor a sejt ritmikus kisüléssorozatokat mutatott. Meglepő módon, az átlagolt mezőpotenciál amplitúdója szignifikánsan alacsonyabb volt akkor, amikor egyetlen ritmikus tüzelő sejt aktivitását korlátoztuk (**35. ábra A és B**). Viszont, amikor a tónusosan tüzelő thalamokortikális sejtek aktivitását váltóztatva ismételtük meg a kísérletet, a lokális mezőpotenciál amplitúdója nem változott (**35. ábra C és D**). Ebből arra következtethetünk, hogy bizonyos körülmények között egyetlen sejt is képes a proximális neuronhálózat globális aktivitását befolyásolni, és ez a jelenség sejttípus specifikus: egyetlen magas küszöbű kisüléssorozattal rendelkező thalamokortikális sejt aktivitásának gátlása is hatással volt a proximálisan regisztrált mezőpotenciálra, de a csak tónusos elektromos aktivitást mutató sejtek nem befolyásolták a proximális α oszcillációt.



35. ábra. CGL HT és tónusos thalamokortikális sejtek aktivitásának hatásai a proximális mezőpotenciálra. (A) Cch-indukált α aktivitás 70 s-os szegmensének spektrogramja *in vitro*, alatta a CGL LFP és szimultán regisztrált HT TC neuron membránpotenciálja látható. A neuront kezdetben (1) a küszöbérték alatt tartjuk hiperpolarizáló áraminjekcióval, de később felszabadul a hiperpolarizáció alól, és HT kisüléssorozatokat generál. Réskapcsolat mediált „spikelet” potenciálokat kék nyilak jelzik (jobbra kinagyítva az átlaguk. A 3. ábrarészben enyhe hiperpolarizáció (-50 pA) hatására jól láthatók a „spikelet” potenciálok, amelyek a 4. részben (-100 pA) megszűnnek. (B) Átlagolt LFP küszöbalatti aktivitás, alatta a kisüléssorozat aktivitás alatti átlagolt LFP, illetve az APk (szürke) és „spikelet” potenciálok időzítése az LFP α ciklusaihoz viszonyítva. (C) Cch-indukált α aktivitás 32 s-os szegmensének spektrogramja *in vitro*, alatta a CGL LFP és szimultán regisztrált tónusos tüzelést mutató TC neuron membránpotenciálja látható. A küszöbalatti aktivitás alatt jól láthatók az α aktivitásak összefüggő „spikelet” potenciálok (átlaguk jobb oldalon). (D) Küszöbalatti, illetve tüzelést tartalmazó aktivitások átlagolt LFP aktivitásai, illetve a tónus tüzelés AP-inek időzítése az LFP α ciklusaihoz viszonyítva.

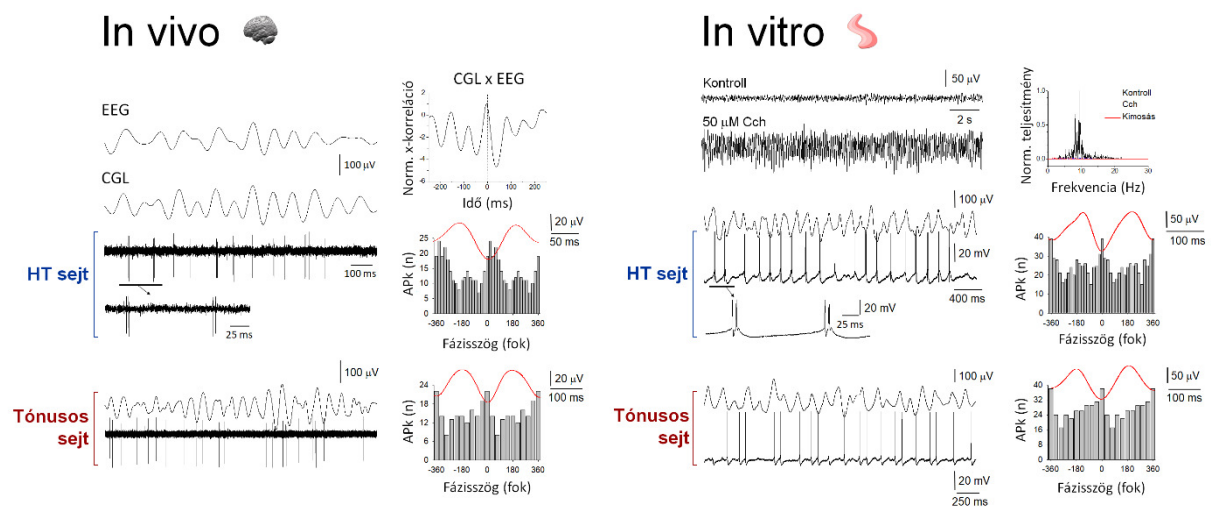
A thalamokortikális sejtek meghatározó neuromodulatorikus bemenete az agytörzsi nucleus tegmentalis pedunculopontinus kolinerg sejtjeitől ered (De Lima és Singer, 1987). Az *in vitro* kolinerg α modellünket úgy validáltuk, hogy szabadon mozgó macskák CGL magjába



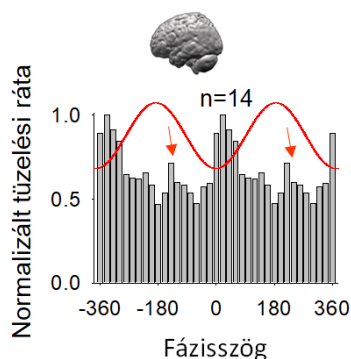
36. ábra. Lokális thalamikus muszkarinikus acetilkolinreceptorok blokkolásának hatása a CGL és az EEG α hullámainak denzitására.

reverz mikrodialízis technikával muszkarinikus kolinerg receptor antagonistát (pirenzepin, PZP) juttattunk. A PZP dózisdependensen csökkentette mind a lokális, mind pedig a globális, EEG szintjén regisztrált α hullámok sűrűségét (**36. ábra**). *In vitro* modellünket úgyszintén validálja az, hogy ennek a szabadon mozgó állatokban regisztrált neuronális aktivitással való összehasonlítása feltűnő hasonlóságokat mutat, mint például az *in vivo* α hullámok alatti kisüléssorozatok és az *in vitro* α

oszcillációk alatti HT kisüléssorozatok közötti hasonlóságok, ezek összefüggése a lokális mezőpotenciállal, illetve a tónusosan tüzelő CGL thalamokortikális neuronok *in vivo* α hullámokhoz és *in vitro* α oszcillációkhoz való kapcsoltsága (**37. ábra**).

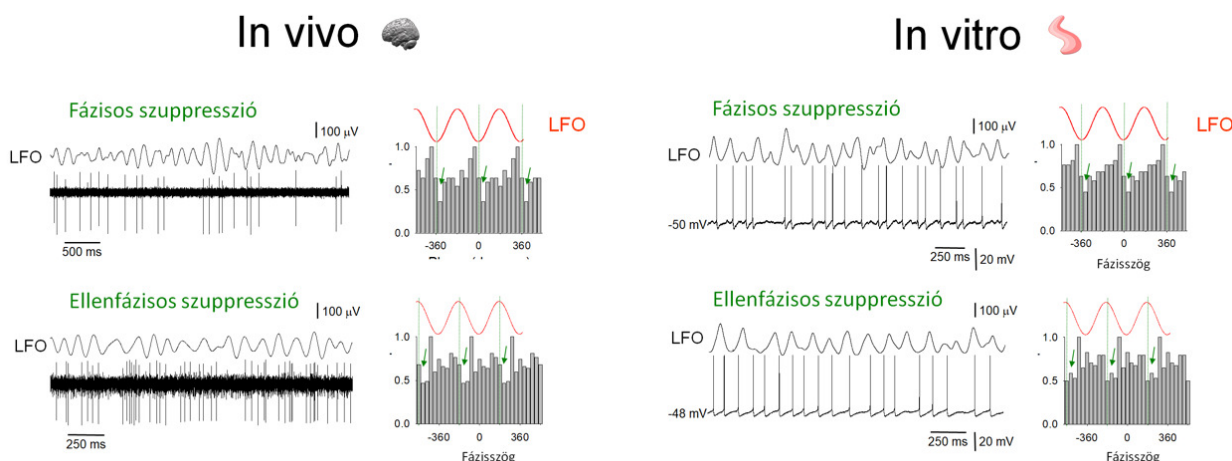


37. ábra. HT és tónusos tüzelésű CGL TC neuronok aktivitásának időzítése az α hullámokhoz viszonyítva *in vivo* (bal oldal) és *in vitro* (jobb oldal).

6.1.3 Thalamikus α oszcillációk lehetséges szerepei

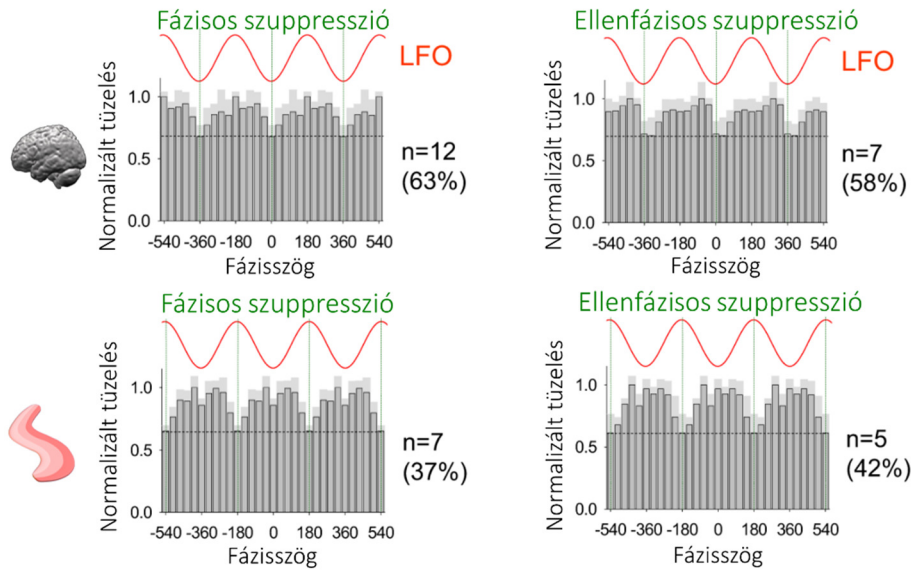
38. ábra. CGL HT TC neuronok akciós potenciáljainak eloszlása az α hullámokhoz viszonyítva.

Az α oszcillációk generálásának hálózati mechanizmusait elemezve felmerül a kérdés, hogy a ritmikus szinkron aktivitás milyen hatással van a thalamokortikális sejtek döntő többségére, amelyek α oszcilláció alatt tónusos akcióspotenciál leadással jellemezhetők. A tónusos tüzelésű TC sejtek α oszcillációval való kapcsolatát úgy vizsgáltuk, hogy meghatároztuk a sejtek akcióspotenciáljainak eloszlását az α oszcilláció egyes ciklusain belül, mind a szeptemben kolinerg hatásra létrejött α oszcillációk, mind pedig az *in vivo* méréseink esetében (Lőrincz és mtsai., 2009a). Az α oszcilláció alatt a HT kisüléssorozat tüzeléssel rendelkező thalamokortikális sejtek akcióspotenciáljainak eloszlása nem volt egyenletes: a hullámvölgyben levő kiemelkedő csúcs azt jelenti, hogy ezek a sejtek az α oszcilláció negatív szakaszában, a hullámvölgy körül a legaktívabbak (**38. ábra**). Ezzel ellentétben a legtöbb tónusos tüzelésű thalamokortikális sejtéből számolt eloszlás sokkal egyenletesebb volt, de a sejtek fele esetében a hullámvölgy, míg a sejtek másik fele esetében a hullámcsúcs körül tapasztaltunk aktivitáscsökkenést (**39. ábra**).



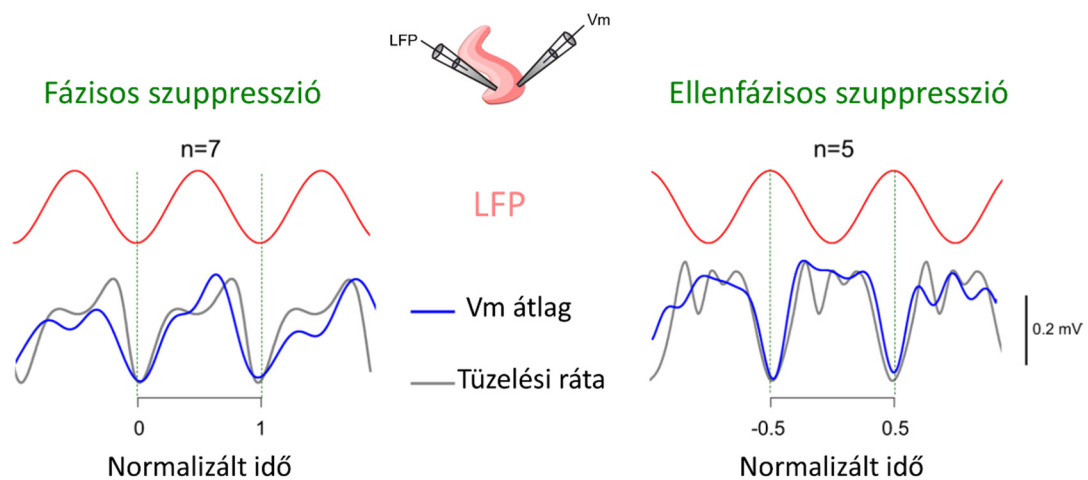
39. ábra. Tónusos tüzelésű CGL thalamokortikális neuronok akciós potenciáljainak eloszlása az α hullámokhoz viszonyítva. Mind az *in vivo* (bal oldal), mind pedig az *in vitro* (jobb oldal) regisztrátumokban elkülönül a tónusos aktivitások fázisos, illetve ellenfázisos szuppressziója.

Az *in vivo* és *in vitro* regisztrátumok populációs analízise egyértelmű fázisos és ellenfázisos szuppressziójú csoportokra osztotta a tónusos tüzelésű TC neuronokat (**40. ábra**).



40. ábra. Fázisos (bal oszlop) és ellenfázisos (jobb oszlop) szuppresszió a CGL TC neuronokban. A felső sor *in vivo* extracelluláris regisztrátumok, az alsó sor *in vitro* intracelluláris regisztrációk alapján készült.

Ennek megfelelően, ha az intracellulárisan regisztrált sejtek membránpotenciálját átlagoltuk az α oszcillációhoz képest, akkor azt tapasztaltuk, hogy a küszöb alatti membránpotenciál jól előrejelezte a tüzelés alapján számolt α oszcilláció ciklusain belüli

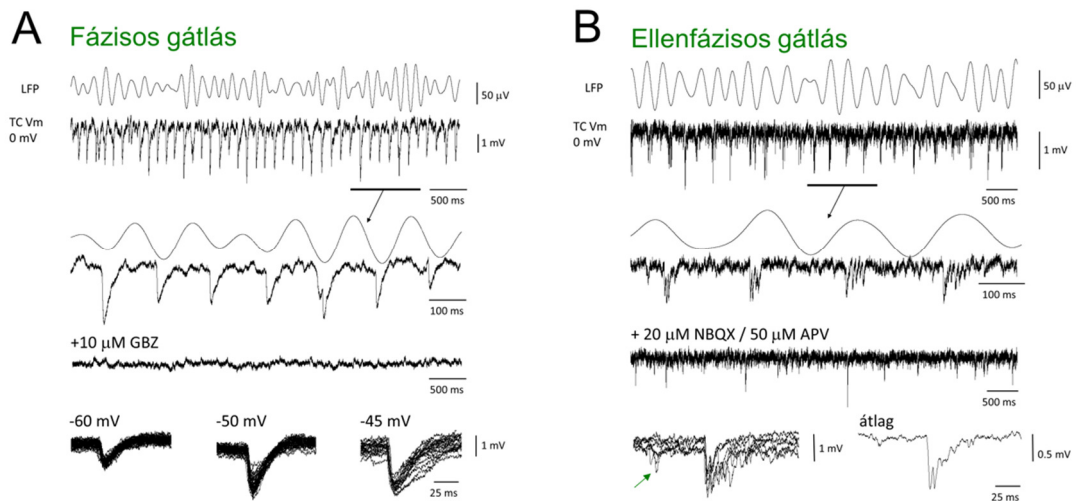


41. ábra. A fázisos és ellenfázisos szuppressziót mutató TC neuronok tüzelése és membránpotenciálja közötti összefüggés. A fázisos szuppressziót mutató neuronok (bal oldal) tüzelésének és membránpotenciáljának minimuma az α oszcilláció hullámvölgyének közelében található. Az ellenfázisos szuppressziót mutató neuronok (jobb oldal) tüzelésének és membránpotenciáljának minimuma az α oszcilláció hullámcsúcsa közelében található.

fázispreferenciát. Azaz a hullámvölgy körül aktivitáscsökkenést mutató thalamokortikális sejtek membránpotenciálja a hullámvölgy körül a leghiperpolarizáltabb, és fordítva (**41. ábra**).

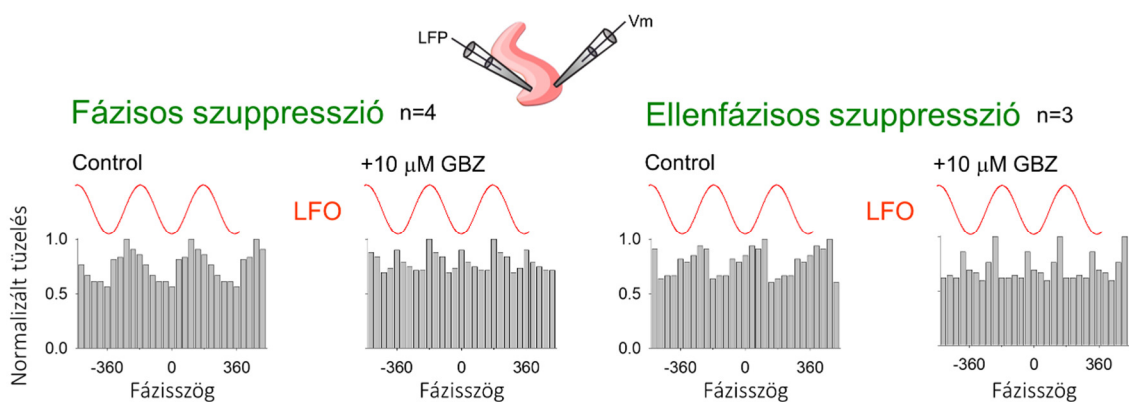
Az aktivitáscsökkenés és a membránpotenciál hiperpolarizációja alapján aktív inhibíció jelenlétét feltételeztük. Nyugalmi membránpotenciál mellett viszont egyértelmű inhibitorikus

posztszinaptikus potenciálokat (IPSP) nem regisztráltunk. Ha a sejteket a mérő intracelluláris (Cs-acetát és lidokain tartalmú) elektródával 0 mV-ra depolarizáltuk (magnövelve így az anionok beáramlásának elektromos grádiensét), akkor prominens ritmikus IPSP-k jelentek meg (**42. ábra**). Az így regisztrált IPSP-k a lokális mezőpotenciálokkal korreláltak jelentkeztek: a sejtek egy részénél ezek az α hullámok csúcsán, más részükénél a hullámvölgy körül jelentek meg. Ezek az inhibitorikus posztszinaptikus potenciálok GABA_A receptorok antagonistáival és ionotróp glutamát receptorok antagonistáival egyaránt blokkolhatók (**42. ábra**). Ebből arra következtettünk, hogy a thalamokortikális sejtek aktivitásának fáziskapcsolt gátlása aktív inhibíció, amely valamely olyan gátlósejtől származik, aminek aktivitása részben glutamáterg serkentésen alapul.



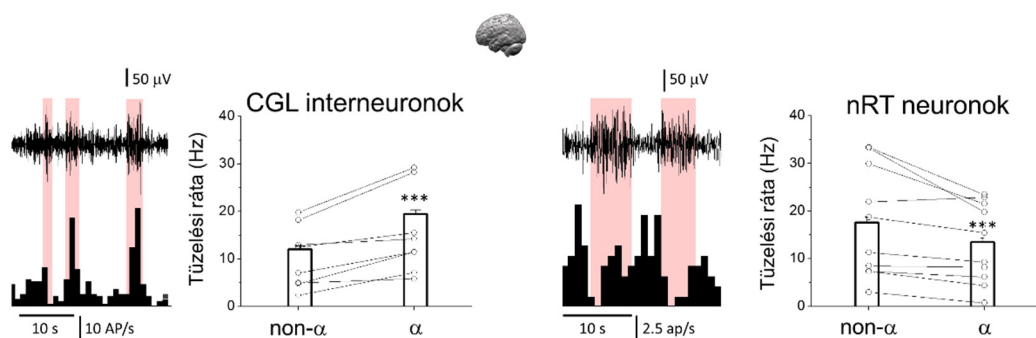
42. ábra. Ritmikus IPSP-k CGL TC neuronokban *in vitro*. (A) A ritmikus fázisos IPSP-k időzítése a proximális α oszcillációk hullámvölgye körüli, ezeket a GABA_A receptorok antagonistája (gabazin, GBZ) blokkolja. (B) A ritmikus ellenfázisos IPSP-k időzítése a proximális α oszcillációk hullámcsúcsa körüli, ezeket az iGlu receptorok antagonistái (NBQX és APV) blokkolják.

Itt fontos megjegyeznünk, hogy a tónusosan tüzelő thalamokortikális sejtek α hullámokkal való fáziskapcsoltsága majdnem teljesen megszűnik akkor, ha blokkoljuk a GABA_A receptorokat (43. ábra).



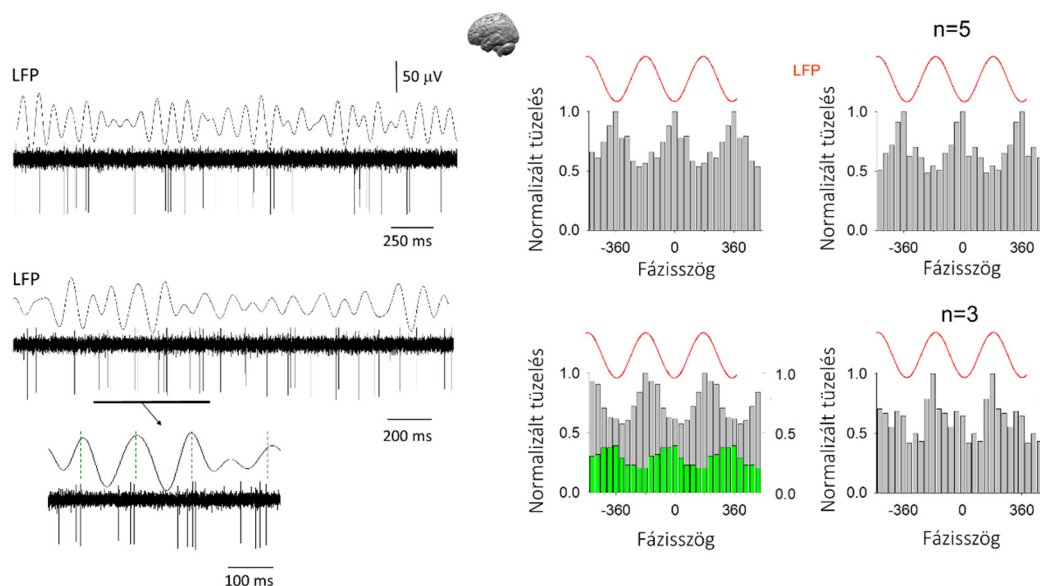
43. ábra. A GABA_A receptorok blokkolásának hatása a tónusos tüzelésű TC neuronok aktivitásának fázisos (bal oldal) és ellenfázisos (jobb oldal) szuppressziójára *in vitro*.

A thalamokortikális sejtek kétféle neurontól kapnak gátlást: az nRT sejtjeitől, illetve a relémagvakban levő lokális interneuronoktól. Mindkét gátlósejt aktivitását megvizsgáltuk: *in vitro* intracelluláris elvezetéssel fiziologailag és morfológiaailag azonosított sejtéből, illetve a szabadon mozgó állatokból származó extracelluláris elvezetéseinkből, ahol a neuronokat fiziologiai kritériumok alapján azonosítottuk (akciós potenciálok szélessége, alvás alatti aktivitás). Azt tapasztaltuk, hogy míg a lokális interneuronok aktivitásnövekedést és kisüléssorozatost tüzelést mutattak α hullámok alatt, addig az nRT sejtjei aktivitáscsökkenést mutattak (44. ábra).



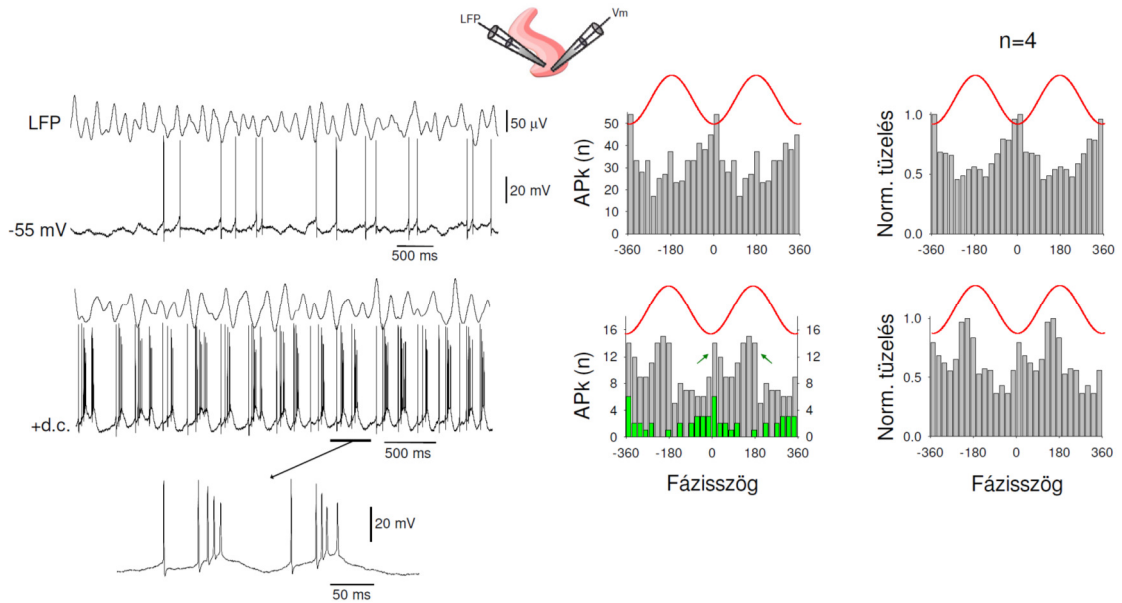
44. ábra. A CGL interneuronok (bal oldal) és az nRT neuronok tüzelési rátája α aktivitások alatt *in vivo*. Mindkét ábra bal oldalán egy-egy reprezentatív neuron tüzelési ráta histogramja látható a szimultán regisztrált EEG-vel, a jobb oldalon az összes regisztrált neuron átlag tüzelési rátái a két állapotban.

Az α hullámokkal való kapcsolatukat illetően is eltért a két sejtípus: a 9 regisztrált nRT neuron közül egyetlen sejt mutatott α fázispreferenciát (Lőrincz és mtsai., 2009a). A regisztrált CGL interneuronok erős fázispreferenciát mutattak (45. ábra).



45. ábra. A CGL interneuronok aktivitása α hullámok alatt *in vivo*. A regisztrált neuronok egy része (5/8 neuron, felső sor) tónusos akciós potenciálokkal jellemezhető, amelyek időzítése az α hullámok hullámvölgye köré tömörül. A kisüléssorozatossal jellemezhető interneuronok (3/8 neuron, alsó sor) akciós potenciáljai a hullámcsúcsok köré tömörülnek. A kisüléssorozatokat első akciós potenciáljainak időzítése viszont a hullámvölgy köré tömörül (zöld oszlopok).

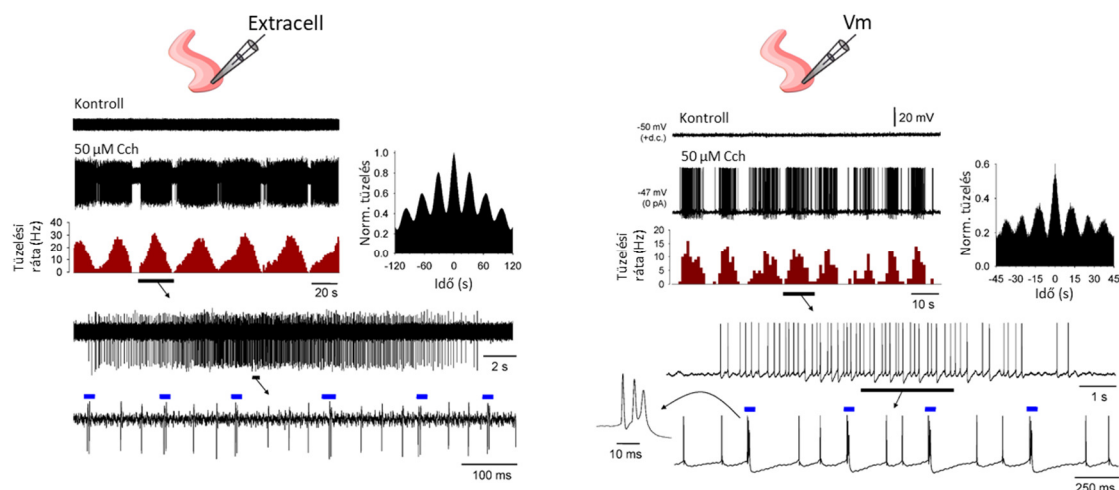
A lokális interneuronok *in vitro* α hullámok alatti aktivitását tanulmányozva megfigyeltük, hogy a tüzelés α fázispreferenciája membránpotenciál függő: viszonylag hiperpolarizált membránpotenciál mellett megjelenő 1–2 AP kizárólag az α oszcilláció hullámvölgye környékén volt tapasztalható, de ha a membránpotenciált a mérőelektróda segítségével, egyenáram injekciójával depolarizáltuk, az akcióspotenciálok többsége a hullámcsúcs köré toldott el. Ez a jelenség a lokális interneuronok speciális membrántulajdonságának köszönhető: hiperpolarizált membránpotenciál mellett érkező serkentés 1–2 AP-t eredményez; hipopolarizált membránpotenciál esetében a serkentés során keletkező első akcióspotenciált egy körülbelül 50 ms-os aktivitás-szünet, majd pedig egy prominens (4–8 AP) kisüléssorozat követi (**46. ábra**). Az ilyen módon időben eltoltsági kisüléssorozat pontosan a hullámcsúcs alatt jön létre. Ezzel a mechanizmussal a thalamikus interneuronok képesek a rájuk érkező serkentést azonnal gátlásként továbbítani vagy időben eltoltsági gátlássá alakítani a membránpotenciáljuk függvényében.



46. ábra. A CGL interneuronok aktivitása α hullámok alatt *in vitro*. Viszonylag hiperpolarizált membránpotenciálértékek mellett (-55 mV) a CGL interneuronok egyedi akciós potenciálokat adnak le az α oszcilláció hullámvölgyek közelében. Hipopolarizált membránpotenciálértékek mellett viszont kisüléssorozatokat tüzelnek, akik akciós potenciáljainak döntő többsége az α oszcilláció hullámcsúcsok közelében található. Az akciós potenciálok időzítésének eloszlása az ábra jobb oldalán látható, a szürke oszlopok az összes akciós potenciál időzítését, a zöld oszlopok a kisüléssorozatok első akciós potenciáljának időzítését jelzik.

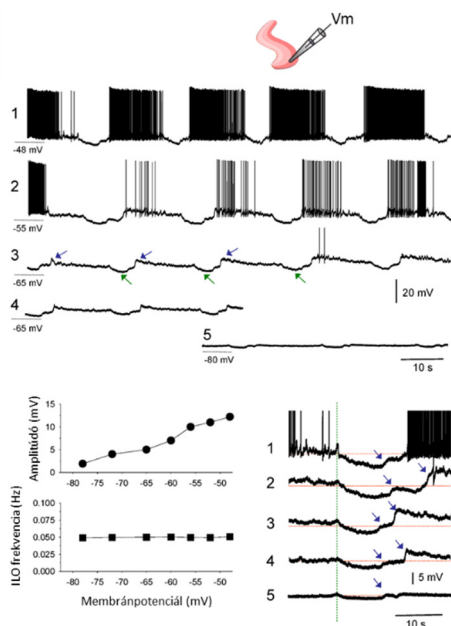
6.1.4 A thalamikus infralassú oszcillációk generálásának mechanizmusai

A kolinerg aktiváció a thalamikus hálózatban az α oszcillációk mellett egy ún. infralassú oszcillációt (<0.1 Hz) is generálhat, amely viszonylag hosszú aktív és inaktív szakaszok váltakozásából épül fel (Lőrincz és mtsai., 2009b). Az aktív szakaszokban mind az egyes neuronok, mind pedig a lokális mezőpotenciál aktivitása az α oszcilláció jellemzőivel rendelkezik, az inaktív szakaszban a neuronok nem tüzelnek és nem regisztrálható számottevő ritmikus lokális mezőpotenciál.



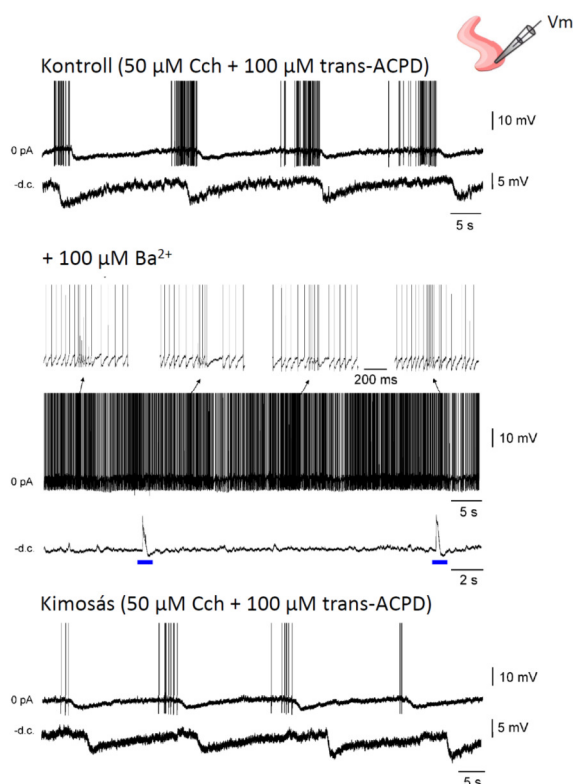
47. ábra. Infralassú oszcillációk TC neuronokban. A kolinerg receptorok aktiválása ritmikus elektromos aktivitást eredményez, amely az extracelluláris (bal oldal) és a membránpotenciál regisztrátumokban (jobb oldal) is látható. A kék oszlopok a HT kisüléseket jelzik.

Az infralassú oszcilláció generálásának mechanizmusai ismeretlenek, ennek érdekében fizioiógiai és farmakológiai vizsgálatokat végeztünk. Megállapítható, hogy az oszcilláció egymást váltó ritmikus és sztereotíp hiper- és depolarizáló komponensekből tevődik össze, amelyek amplitúdója membránpotenciálfüggő, frekvenciájuk nem (48. ábra). Tehát az infralassú oszcillációt valószínűleg nem a TC neuronok intrinszek konduktanciái, hanem



48. ábra. Infralassú és a TC neuronok membránpotenciáljának a kapcsolata. Részletek a szövegben.

valamilyen külső tényezők. Az esetleges szinaptikus interakciók szerepét az infralassú oszcillációk generálásában farmakológiai vizsgálatokkal cáfoltuk, ugyanis a klasszikus kémiai neurotranszmisszió blokkolása nem állítja meg ezeket. Az intracelluláris regisztrációk és farmakológiai eszközök kombinálása során kiderült, hogy a sejtek aktivitását aktív Ba^{2+} szenzitív hiperpolarizáció szakítja meg és az infralassú periodicitás ennek a következménye, amelynek mechanizmusa valószínűleg bizonyos K^+ csatornák megnyílása (49. ábra). Ba^{2+} hatására a ritmikus membránpotenciál hiperpolarizációk megszűntek, helyettük ritmikus depolarizációk jelentek meg, amelyek a küszöbalatti aktivitás monitorozásakor váltak láthatóvá (49. ábra, kék téglalapok).



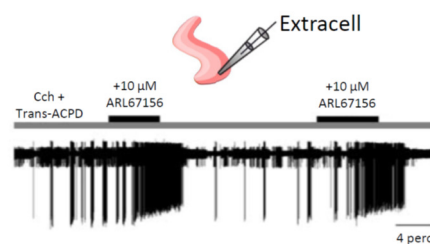
49. ábra. Az infralassú oszcillációk generálásáért felelős ionos mechanizmusok. Részletek a szövegben.

asztrocitális eredetű. Tehát a thalamikus infralassú oszcillációk periodicitását nem neuronális (valószínűleg glia sejtek általi) mechanizmusok is képesek befolyásolni.

6.1.5 A kérgi lassú oszcilláció sejt-specifikus aspektusai

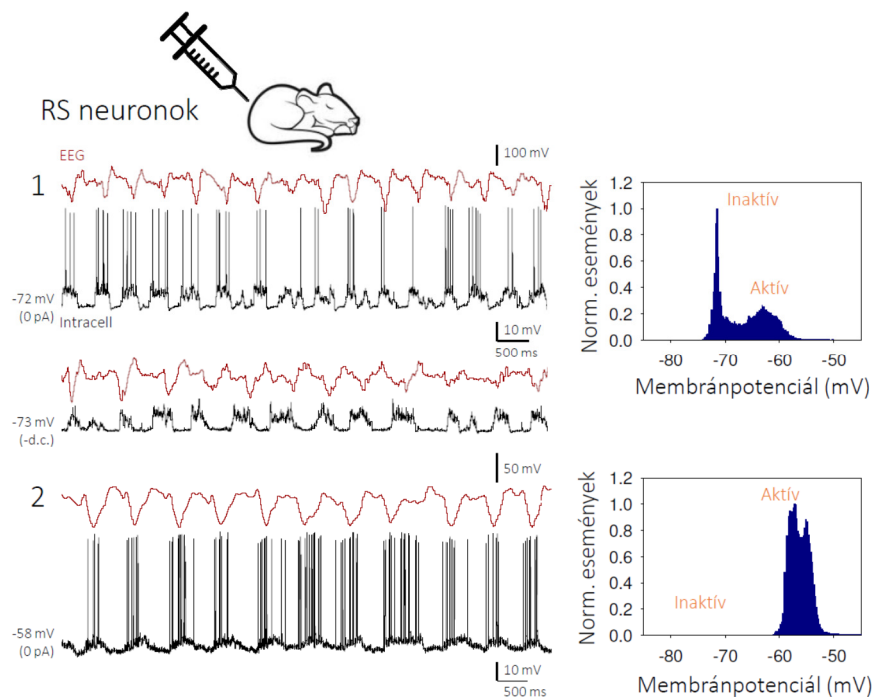
A természetes alvás (Steriade és mtsai., 2001) vagy altatás (Steriade és mtsai., 1993d; Steriade és mtsai., 1993b, a) alatti kérgi neuronális aktivitás ritmikusan váltakozó aktív és inaktív szakaszokból áll. Az *in vitro* túlélő neokortikális agyszeleteken végzett kísérletek során kiderült, hogy módosult ionösszetelű perfúziós médiumban előfordulnak aktív és inaktív szakaszok (Sanchez-Vives és McCormick, 2000), viszont a rágszálókból készített szövetszeletek esetén ezek viszonylag ritkán (1-2/perc) fordulnak elő és nem ritmikusak (Cossart és mtsai., 2003; Fanselow és Connors, 2010). Tehát a lassú oszcilláció aktív és inaktív szakaszainak ritmikus alternációja mögött álló mechanizmusok ismeretlenek. Altatott macskákon végzett kísérletek során kiderült, hogy a muszkarinikus acetilkolin receptorok (mAChR) szisztémás blokkolása megrövidíti a lassú oszcilláció aktív szakaszait (Steriade és mtsai., 1993c), tehát a mAChR-oknak szerepe lehet az alvási lassú oszcilláció aktív

A hiperpolarizáció adenozinreceptorok aktivitásának következménye, ugyanis az A_1 típusú adenozinreceptorok blokkolása megszüntette az infralassú oszcillációt és gátolta a TC neuronok ritmikus hiperpolarizációit, tehát a jelenség generálásában a ritmikusan felszabaduló adenzinnak fontos szerepe lehet. Az infralassú oszcillációt generálásáért felelős adenzin ATP átalakulásából keletkezik, ugyanis az ATP-adenozin átalakulást ARL67156-tal blokkolva a jelenség szintén gátolható. Ebből arra következtettünk, hogy az ATP valószínűleg



50. ábra. Az infralassú oszcillációk generálásáért felelős adenzin ATP-ből származik. Részletek a szövegben.

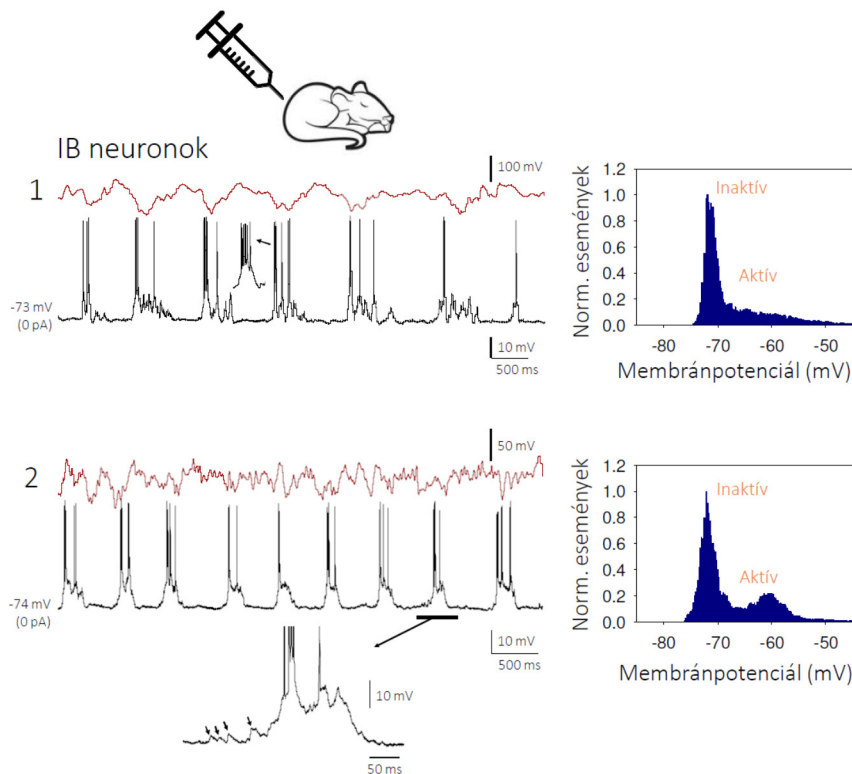
szakaszainak generálásában. Az agykéregt kolinerg innervációval ellátó bazális előagyi neuronok aktivitása alvás alatt csökken, de nem szűnik meg teljesen (Manns és mtsai., 2000a; Szymusiak és mtsai., 2000; Lee és mtsai., 2005; Hassani és mtsai., 2009). Ennek megfelelően az ébrenlét alatti előagyi ACh koncentráció az alvás alattinál fokozottabb, de alvás alatt is számottevő marad (Marrosu és mtsai., 1995; Vazquez és Baghdoyan, 2001). A kolinerg rendszer alvási lassú oszcillációt befolyásoló szerepét *in vivo* és *in vitro* kísérletekkel vizsgáltuk.



51. ábra. Neuronális aktivitás altatott egerek hallókérgi RS neuronokban. A regisztrált neuronok egy része kifejezett membránpotenciál bimodalitást mutat (1), a neuronok másik csoportja (2) esetén a membránpotenciál eloszlása egyetlen csúcsot mutat.

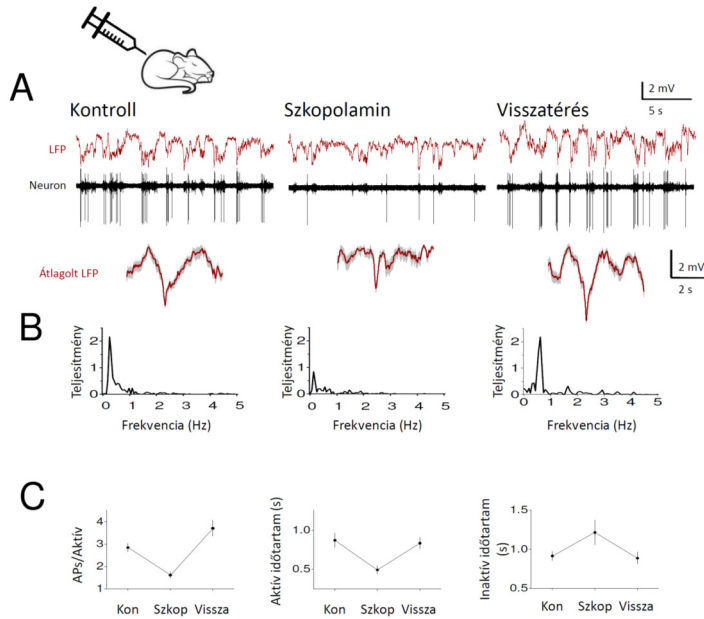
Az altatott állatokban intracelluláris technikával regisztrált hallókérgi infragranuláris neuronok aktivitása aktív és inaktív szakaszok ritmikus (0.8 Hz) váltakozásával jellemezhető. Az aktív állapotok membránpotenciálja intenzív szinaptikus aktivitás jeleit mutatta, és a neuronok ilyenkor akcióspotenciálokat adtak le (**51. és 52 ábrák**). Kísérleteink során 15 reguláris tüzelésű [RS, *regular spiking*] és 19 intrinszek kisüléssorozatos [IB, *intrinsic bursting*] tüzelésű neuron aktivitását regisztráltuk. Az RS neuronok többsége (11/15; 73%) esetén az aktív és inaktív szakaszok között egyértelmű membránpotenciál különbség figyelhető meg (inaktív szakasz: -73.7 ± 2.5 mV; aktív szakasz: -61.2 ± 1.4 mV), a membránpotenciál eloszlása így két csúcsot mutatott. Az RS neuronok másik csoportja (3/15, 20%) esetében az aktív szakaszok egy kevésbé hiperpolarizált membránpotenciálról indítottak, így a

membránpotenciál eloszlás egycsúcsú volt (**51. ábra**). Az IB neuronokban az aktív szakaszok hiperpolarizált membránpotenciálról indítottak, így a membránpotenciál eloszlás két csúcsot mutatott (inaktív szakasz: -74.3 ± 2.2 mV; aktív szakasz: -60.1 ± 1.9 mV; $n=19$ **52. ábra**). Az aktív szakaszok kezdetén általában kisüléssorozat jelent meg, amelyet gyakran EPSP-k előztek meg (**52. ábra**).



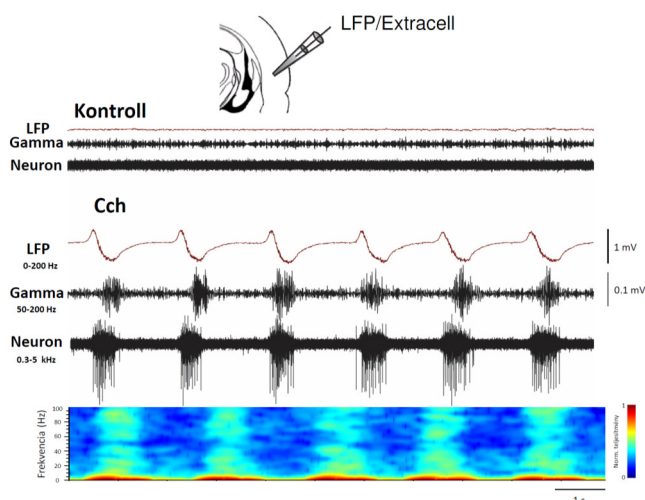
52. ábra. Neuronális aktivitás altatott egerek hallókérgi IB neuronokban. A regisztrált neuronok egy része esetén a membránpotenciál eloszlása egyetlen csúcsot mutat (1), a neuronok másik csoportja kifejezett membránpotenciál bimodalitást mutat (2).

A neocortex kolinerg bemenete a bazális előagyból ered (Rye és mtsai., 1984). Az alvási oszcillációk és a kolinerg rendszer kapcsolatát vizsgálva az *in vivo* kísérleteinkben azt tapasztaltuk, hogy az altatott állatok kérgi lassú (<1 Hz) oszcillációját megváltoztatja a muszkarinikus acetilkolin receptorok blokkolása. Szkopolamin hatására (1 mM a koponyára épített perfúziós kamrába adagolva) a lassú oszcilláció aktív és inaktív szakaszai egyaránt rövidültek, így az oszcilláció domináns frekvenciája növekedett: aktív szakasz (kontroll: 1.2 ± 0.1 s; szkopolamin: 0.7 ± 0.1 s; $n=5$; $p < 0.001$), inaktív szakasz (kontroll: 1.5 ± 0.1 s; szkopolamin: 1.1 ± 0.1 s; $n=5$; $p < 0.05$) (**53. ábra**). Az aktív szakaszokban jelen levő magas frekvenciájú oszcillációk (30-100 Hz) amplitúdója csökkent, ugyanakkor a lokális mezőpotenciállal szimultán regisztrált egysejtaktivitás rátája csökkent (kontroll: 0.1 ± 0.05 Hz;



53. ábra. Muszkarinikus acetilkolin receptorok blokkolásának hatása a kéri lassú oszcillációra. (A) Altatott állat hallókérgéből regisztrált LFP és egysejtaktivitás szkopolamin (2 mg/kg) beadás előtt, után és a visszatérést követően. A nyers regisztrátumok alatt az átlagolt lassú hullámok láthatók. (B) A három állapot alatt készült LFP teljesítményspektrum. (C) Az átlag AP/aktív szakasz (bal oldal), aktív szakasz időtartam (közép) és inaktív szakasz időtartamok számszerűsítése (jobb oldal) három állapot (Kon: kontroll, Szkop: szkopolamin, Vissza: visszatérés) alatt.

területből készített túlélő agyszeletpreparátumban egy lassú (<1 Hz) oszcilláció keletkezik, a lokális mezőpotenciált lassú és nagy frekvenciájú hullámok ritmikus fluktuációja jellemzi, az aktív időszakokban pedig neuronális tüzelés figyelhető meg (**54. ábra**).



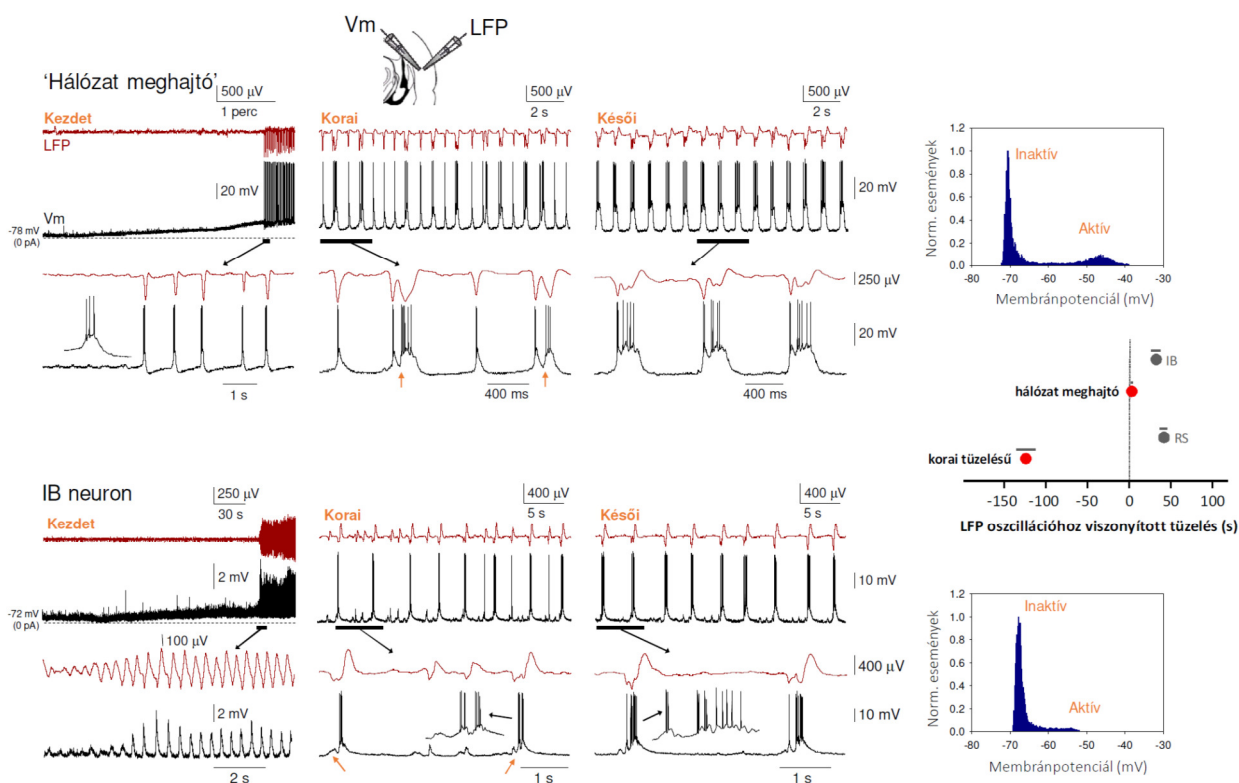
54. ábra. Az acetilkolin receptorok aktiválásának hatása kialakuló kéri lassú oszcilláció in vitro. Szimultán lokális mezőpotenciál (LFP: 0-200 Hz, gamma aktivitás: 50-200 Hz) és extracelluláris egysejt elvezetés (Neuron) nyers regisztrációi (felül) illetve az LFP-ből készült spektrogram.

szkopolamin: 0.04 ± 0.02 Hz; $n=6$; $p<0.001$). Tehát a kolinerg rendszernek szerepe lehet a lassú (<1 Hz) alvási oszcillációk generálásában (Lőrincz és mtsai., 2015; Crunelli és mtsai., 2018).

Ennek megfelelően egerek neokortikális túlélő agyszeleteiben szimultán sokcsatornás extracelluláris, illetve intracelluláris regisztrációt végeztünk, és a kolinerg aktiváció hatására keletkező lassú (<1 Hz) oszcilláció létrejöttét vizsgáltuk különböző típusú sejtekben. Azt tapasztaltuk, hogy a nonspecifikus kolinerg receptor agonista, Cch hatására az összes vizsgált agykérgi

Ezt követően extracelluláris akcióspotenciálokat vezettünk el az elsődleges auditorikus kéreg különböző rétegeinek neuronjaiból. *In vitro* körülmények között a Cch hatására a reguláris tüzelésű piramisisejtek egy részét már lassú (<1 Hz) oszcilláció létrejötte előtt aktív, tónusos akcióspotenciál-leadás jellemzi (9.77 ± 6.77 Hz, 150-ből 32 neuron, 21%), amelyet az oszcilláció létrejötte után a lokális mezőpotenciállal korrelált tüzelés vált fel. Ezeket a neuronokat „korai tüzelésű” neuronoknak

neveztük el. A másik csoport reguláris tüzelésű piramissejt a kolinerg aktivációt követően csak lassú (<1 Hz) oszcilláció létrejötte után kezd ritmikus tüzelésbe, az oszcilláció létrejötte előtt inaktív. A kisüléssorozatos tüzeléssel rendelkező piramissejtek egy részét (150-ből 12 neuron, 8%) már az oszcilláció létrejötte előtt aktív, ritmikus kisüléssorozatos tüzelés jellemzi, míg a másik sejtcsoport csak az oszcilláció létrejötte után, a kolinerg aktivációt követően kezd ritmikus tüzelésbe, az oszcilláció létrejötte előtt inaktív. Az oszcilláció létrejötte előtt tüzelő sejtek érzékenyebbek a kolinerg aktivációra, mint azok a neuronok, amelyek csak a már aktív hálózat általi serkentés következtében válnak aktívvá.

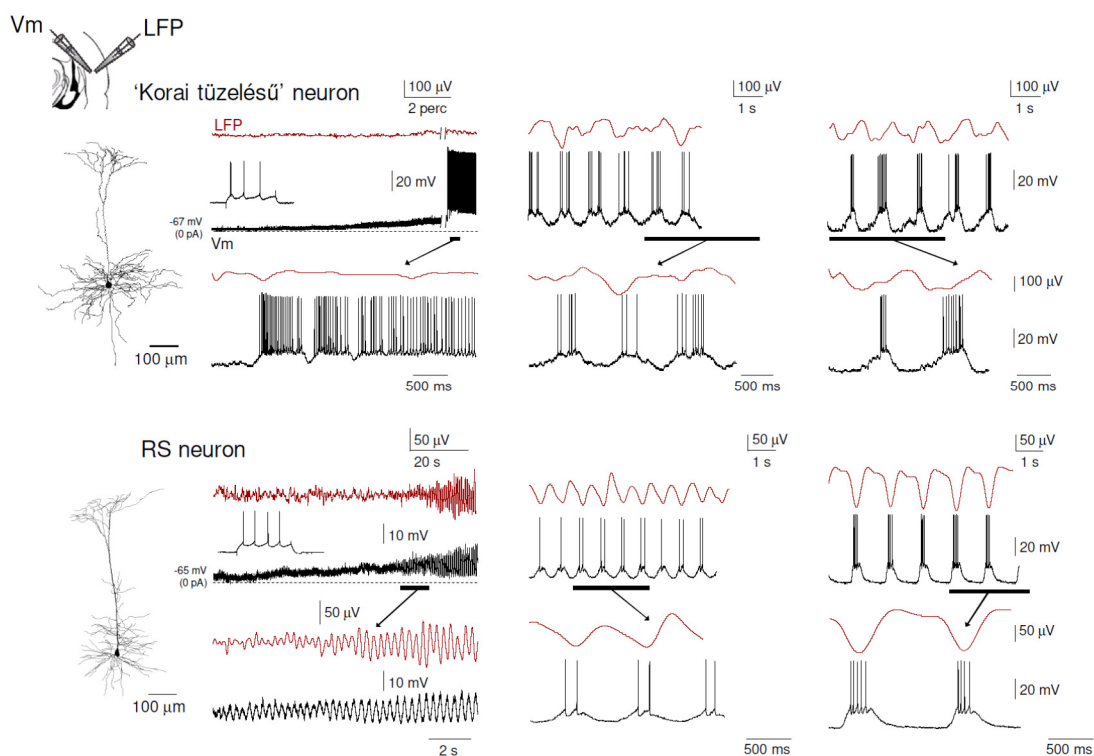


55. ábra. A “hálózat meghajtó” és az IB neuronok aktivitása a kolinerg receptorok aktivációját követő lassú oszcilláció alatt. Szimultán lokális mezőpotenciál (LFP) és intracelluláris elvezetések (Vm). A karbakol perfúziós oldathoz adását követően a “hálózat meghajtó” neuron regisztrátumán membránpotenciál depolarizáció és ezt követő kisüléssorozatos tüzelés figyelhető meg az LFP lassú oszcilláció kialakulásával egyidőben. Az IB neuron membránpotenciál depolarizációja mérsékeltebb és az LFP lassú oszcilláció kialakulását követően küszöbalatti aktivitás jellemzi. Az oszcilláció stabilizálódását követően mindkét neurontípus ezzel összehangolt aktivitást mutat. Az ábra jobb oldalán a két neuron membránpotenciál eloszlását tüntettük fel. Középen az összes regisztrált “korai tüzelésű”, “hálózat meghajtó”, IB és RS neuron tüzelésének kezdetét ábrázoltuk az LFP oszcilláció kialakulásához viszonyítva.

Az *in vitro* lassú oszcilláció keletkezésének hálózati mechanizmusait intracelluláris regisztráció segítségével próbáltuk feltárni mind az oszcilláció generálása közben, mind pedig a már kialakult oszcilláció alatt. A regisztrált 86 neuron közül 6 sejt (7%) esetében már az oszcilláció kezdetekor ritmikus kisüléssorozatokat regisztráltunk (az LFP oszcilláció kezdetétől

számított késés: 3.3 ± 1.8 s, $n=6$) (**55. ábra**), amelyek a szimultán regisztrált proximális lokális mezőpotenciállal szinkronitást mutattak.

Ezeket „hálózat meghajtó” neuronoknak neveztük el. A Cch hatására a „hálózat meghajtó” neuronok membránpotenciál hiperpolarizációja csökkent (kontroll: -76.8 ± 4.4 mV; Cch: -62.4 ± 3.5 mV; $n=6$), így az oszcilláció hullámvölgyei alatt ritmikus kisüléssorozatokat hoztak létre, amelyek után gyakran rekurrens serkentésből adódó további membránpotenciál hiperpolarizáció csökkenés volt jellemző (**55. ábra**, nyilak). Az összes regisztrált „hálózat

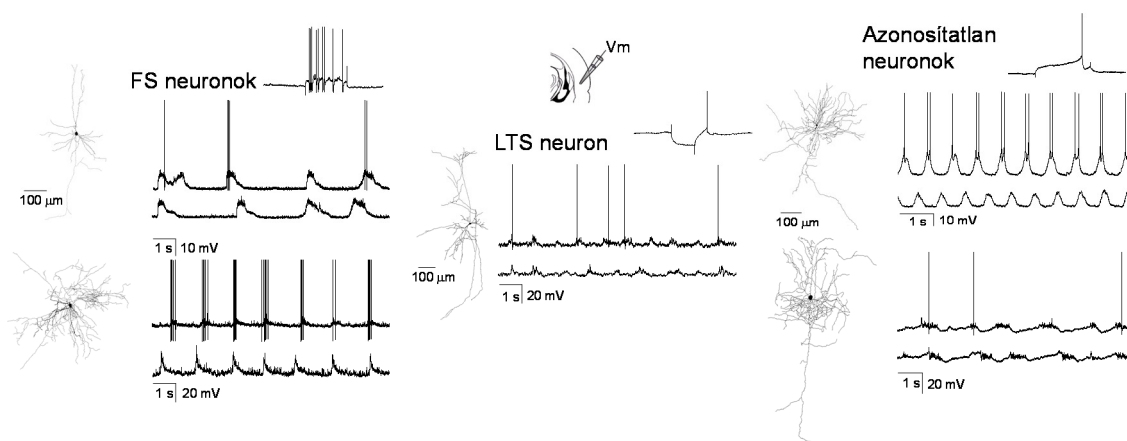


56. ábra. A „korai tüzelésű” és az RS neuronok aktivitása a kolinerg receptorok aktivációját követő lassú oszcilláció alatt. Szimultán lokális mezőpotenciál (LFP) és intracelluláris elvezetések (Vm). A karbakol perfúziós oldathoz adását követően a „korai tüzelésű” neuronok (rekonstruált neuron bal oldalon) regisztrátumán membránpotenciál depolarizáció és ezt követő tónusos tüzelés figyelhető meg az LFP lassú oszcilláció kialakulását megelőzően. Az RS neuron (rekonstruált neuron bal oldalon) membránpotenciál depolarizációja mérsékeltebb és az LFP lassú oszcilláció kialakulását követően küszöbalatti aktivitás jellemzi. Az oszcilláció stabilizálódását követően mindkét neurontípus ezzel összehangolt aktivitást mutat.

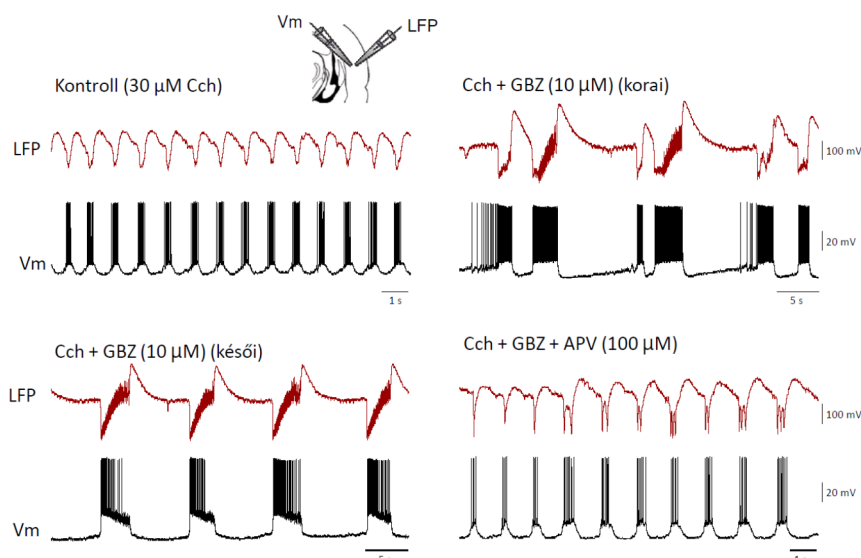
meghajtó” neuron ötödik rétegi IB piramissejt volt. A többi IB neuron (8/86; 9%) is Cch érzékeny volt (kontroll: -73.6 ± 2.7 mV; Cch: -67.7 ± 3.5 mV; $n=8$), viszont csak az oszcilláció megjelenését követően lett aktív (az LFP oszcilláció kezdetétől számított késés: 30.5 ± 10.4 s; **56. ábra**), de ekkor aktivitása hasonlóan összefüggött a lokális mezőpotenciál oszcillációval. Az aktív szakaszok itt is EPSP sorozatokból épültek fel (**55. ábra**), mint ahogy ez az in vivo regisztrátumok esetében is megfigyelhető (**52. ábra**). Morfológiájuk tekintetében a „hálózat meghajtó” és a többi IB neuron hasonló volt. A regisztrált neuronok másik csoportja esetében

a Cch hatására egy kifejezett membrán hiperpolarizáció csökkenés (kontroll: -66.6 ± 5.3 mV; Cch: -52.5 ± 3.1 mV; $n=11$) és ezt követő tónusos akcióspotenciál-leadás (9.7 ± 2.29 Hz; $n=11$) volt megfigyelhető már az oszcilláció kezdete előtt (a tüzelés kezdetétől számított LFP oszcilláció iniciáció késése: 123.45 ± 19.96 s, $n=11$; **55. és 56. ábrák**). Ezeket a sejteket „korai tüzelésű” neuronoknak neveztük el. Az oszcilláció kialakulása után a „korai tüzelésű” neuronok aktivitása is fáziskapcsoltságot mutatott a lassú oszcillációval: az aktív szakaszok során egyre fokozódó tüzelés, majd kifejezett membrán hiperpolarizáció jellemezte a neuronok aktivitását (**56. ábra**). A „korai tüzelésű” neuronok ötödik rétegi RS neuronok voltak. Az RS neuronok többsége esetében ($32/86$; 37%) a Cch hatására csak mérsékelt membrán hiperpolarizáció csökkenés volt megfigyelhető (kontroll: -68.6 ± 5.0 mV; Cch: -64.5 ± 5.7 mV; $n=10$), így akcióspotenciál-leadásuk a lassú oszcilláció kialakulása után (az LFP oszcilláció kezdetétől számított késés: 40.3 ± 7.73 s; **55. ábra**) indult, viszont ekkor szintén összefüggést mutatott a lassú hullámú oszcillációval.

A regisztrált lokális interneuronokat ($n=16$) három csoportba soroltuk: a gyorsan tüzelő sejtek [*fast spiking*, FS], a LTS [*low threshold spike*], illetve az egyéb azonosítatlan interneuronok mindegyike csak az oszcilláció létrejöttét követően lett aktív (Lőrincz és mtsai., 2015), viszont az oszcilláció stabilizálódását követően az összes regisztrált interneuron ezzel összefüggő aktivitást mutatott (**57. ábra**).



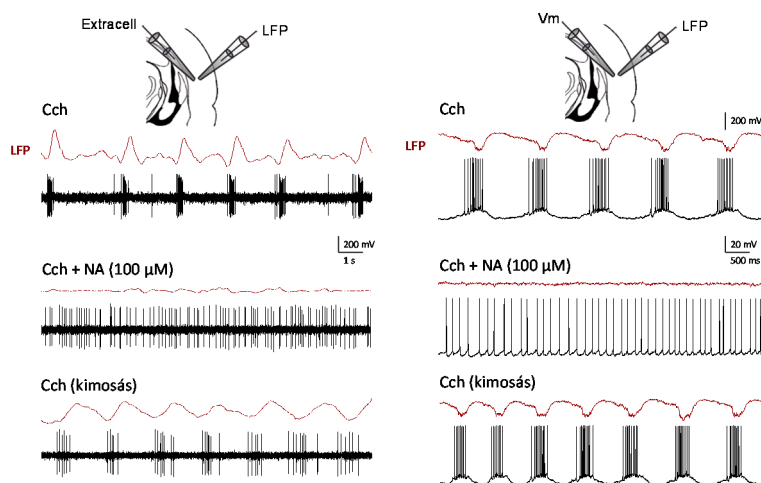
57. ábra. A különböző lokális interneuronok aktivitása a kolinerg receptorok aktivációját követő lassú oszcilláció alatt. A neuronok morfológiai rekonstrukciója a nyers felvételek bal oldalán látható. Az intracelluláris aktivitások ábrázolásánál a felső felvétel nyugalmi membránpotenciál alatt, az alsó hiperpolarizáló egyenáram injekció során készült.



58. ábra. A kolinerg receptorok aktivációját követő lassú oszcilláció GABA_A receptorok blokkolásával epileptikus aktivitássá alakul. Szimultán LFP és Vm regisztráció gabazin (GBZ) perfúziós kamrához adása előtt, közvetlenül utána és tíz perc elteltével. Az NMDA receptorok blokkolása (APV-vel) részben visszaállítja a fiziológias aktivitást.

kolinerg aktiváció hatására keletkezett lassú oszcilláció során farmakológiailag blokkoltuk a kérgi gátlásban kiemelt szerepet játszó GABA_A receptorokat (gabazinnal, GBZ), aminek hatására egyértelmű epileptikus aktivitás keletkezett, amely az NMDA receptorok blokkolásának hatására részben visszaalakult lassú oszcillációvá (**58. ábra**).

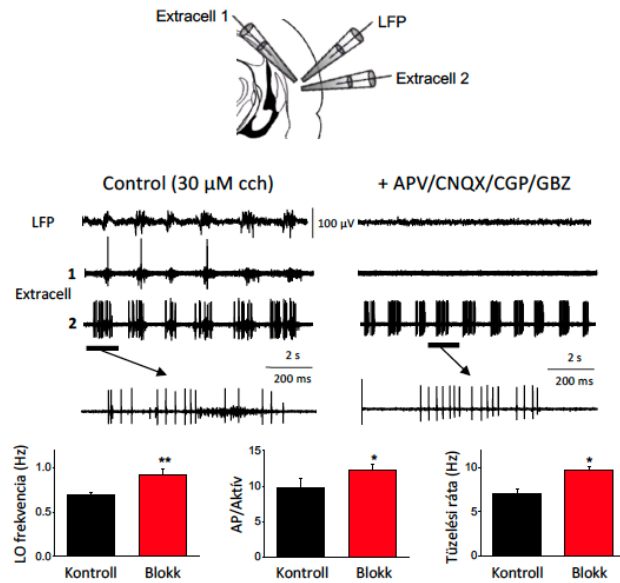
A kolinerg aktiváció hatására létrejött lassú oszcilláció során a kérgi hálózat aktivációja nem volt teljes, ugyanis noredrenalin hatására az addig szinkron lassú hullámokkal jellemezhető LFP deszinkroniált, a neuronok membránpotenciál hiperpolarizációja csökkent, aminek következtében aktivitásuk tónusos tüzeléssé alakult. A noredrenalin kimosását követően a lassú oszcilláció visszaállt (**59. ábra**).



59. ábra. A noredrenalin hatása a kolinerg receptorok aktivációját követő lassú oszcillációra. Szimultán LFP és extracelluláris egysejtaktivitás (bal oldal), illetve intracelluláris aktivitás regisztráció noredrenalin (NA) perfúziós kamrához adása előtt, közben és kimosást követően.

A kolinerg receptorok aktiválása során keletkezett lassú oszcilláció során tehát a kérgi principális neuronok és a lokális interneuronok egyaránt aktívak, így feltételezhetően nem a csökkent gátlás hatására fellépő epileptikus aktivitás következménye. Ennek tisztázása érdekében a

Az agykérgi lassú oszcilláció generálásában az intrakortikális serkentés és gátlás kiemelt szerepet játszik. In vitro kolinerg modellünkben a klasszikus szinaptikus neurotranszmisszió blokkolása megszüntette az LFP lassú oszcillációt, illetve a legtöbb neuron aktivitásának ritmicitását. Öt neuron esetén viszont a lassú oszcilláció aktív és inaktív szakaszainak ritmikus váltakozása megmaradt a klasszikus serkentő és gátló szinaptikus neurotranszmisszió blokkolását követően is (**60. ábra**). Következésképpen az eddig csakis hálózati mechanizmusok által generált lassú oszcilláció létrejöttében az egyes neuronok intrinszek aktivitása fontos szerepet játszhat, illetve a kolinerg aktivációnak szerepe lehet az alvási lassú oszcilláció ritmicitásának fenntartásában.



60. ábra. Intrinszek lassú ritmicitást mutató neuronok a hallókéregben. A klasszikus serkentő és gátló szinaptikus neurotranszmisszió blokkolása blokkolta az LFP lassú oszcillációt, viszont egyes neuronok lassú ritmikus aktivitása változatlan maradt.

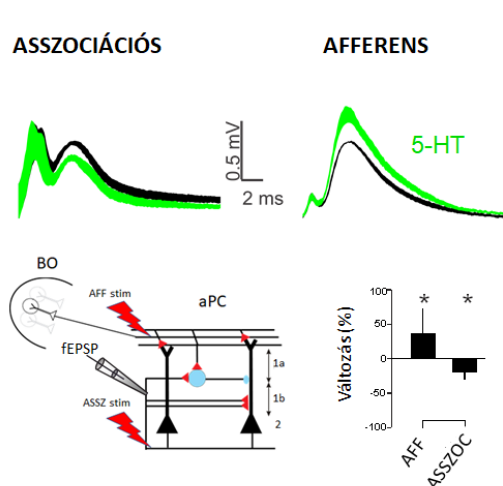
6.1.6 A szerotonin szerepe a szaglókérgi információfeldolgozásban

Az agytörzsi raphe magokban található neuronokból felszabaduló szerotonin (5-hidroxi-triptamin; 5-HT) részt vesz a hangulat szabályozásában, szerepe van a büntetésekkel és jutalmazásokkal kapcsolatos magatartásfolyamatok irányításában (Soubrié, 1986; Cools és mtsai., 2008; Dayan és Huys, 2009), valamint bizonyos szenzoros, motoros és kognitív funkciókban (Davis és mtsai., 1980; Jacobs és Azmitia, 1992; Deemyad és mtsai., 2013; Liu és mtsai., 2014; Fonseca és mtsai., 2015). A korábbi kutatásokban a szerotonin hatását főként viszonylag lassú időskálán vizsgálták, viszont a DR 5-HT neuronok aktivitása másodperc alatti időskálán is modulálódik (Waterhouse és mtsai., 2004; Ranade és Mainen, 2009; Cohen és mtsai., 2015), amely gyors hatást gyakorolhat a szenzoros információfeldolgozásra. Kimutatták ugyanis, hogy a szerotonin képes befolyásolni a szaglógumó működését úgy, hogy a szagló receptor neuron terminálisok glutamát leadását gátolja (Petzold és mtsai., 2009), illetve az ecsetsejtek aktivitását serkenti (Liu és mtsai., 2012).

Az anterior piriform kéreg (aPC) szintén a DR innerváció jelentős célpontja (De Olmos és Heimer, 1980). Az aPC neuronjainak két fő bemenete a következő: az OB-ből az oldalsó szaglókötegen keresztül érkező előrecsatolt (afferens) bemenet és a lokális principális sejtek

rekurrens kollaterálisából, illetve egyéb agyi régiókból származó top-down innervációból származó visszacsatolt (asszociációs) bemenet (Haberly, 1998; Isaacson, 2010). Az asszociációs bemenetek szerepe különböző asszociációs memóriefunkciókban rejlik (Haberly, 1985; Haberly, 2001). A korábbi kutatások rámutattak arra, hogy az acetilkolin és a noradrenalin neuromodulátorok differenciáltan gátolják az asszociációs bemeneteket *in vitro* (Hasselmo és Bower, 1992; Hasselmo és mtsai., 1997), viszont a szaglókérgi afferens és az asszociációs szerotoninerg neuromoduláció hatása nem ismert.

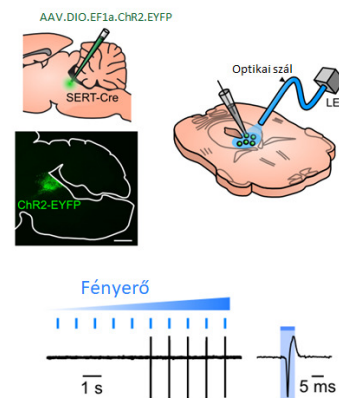
A szaglókérgi szerotoninerg neuromodulációt először *in vitro* túlélő agyszeletekben vizsgáltuk. A szaglókéreg két fő bemenete, az afferens információ forrását képező bulbus olfactorius mitrális és ecsetsejt axonokból álló tractus olfactorius az 1a rétegben szinaptizál a principális sejtek disztális dendritjeivel és a lokális interneuronokkal, viszont a lokális rekurrens kollaterálisokból és szomszédos kérgi területekből származó asszociációs rostok az 1a rétegtől



61. ábra. Szerotonin hatása a szaglókéreg afferens és asszociációs válaszáira *in vitro*.

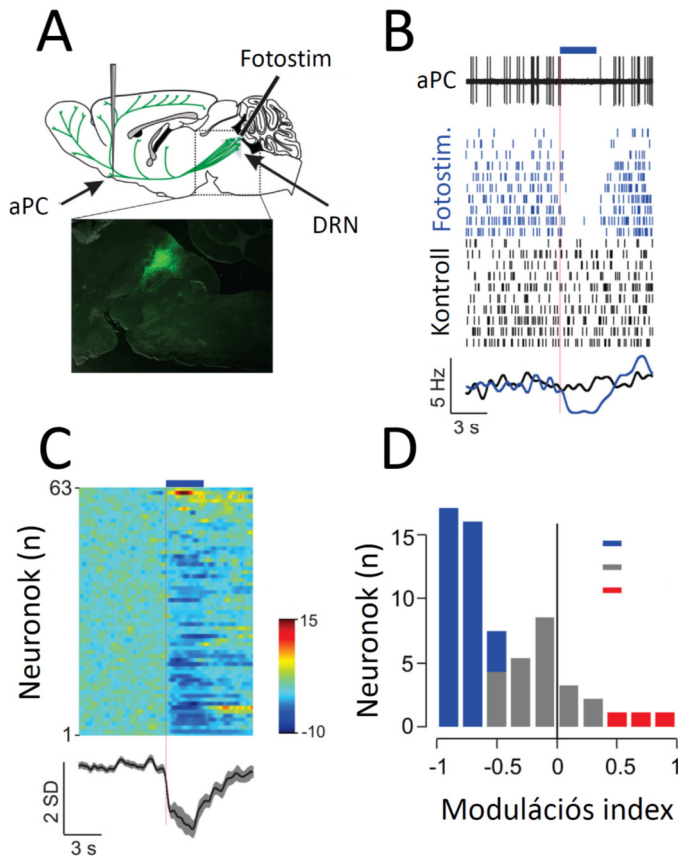
ventrálisan helyezkednek el (**61. ábra**). Következésképpen ebben a kérgi struktúrában az afferens és asszociációs rostok térben szeparáltak, tehát külön-külön lehet ingerelni őket. Szaglókérgi túlélő agyszeletekben elektromos stimuláló elektródákat helyeztünk el az 1a rétegben, illetve a 2 rétegben, és egy mérőelektrodát az 1b rétegben. Mind az afferens, mind az asszociációs rostok ingerlését (70-100 μ A, 0.1 ms, 0.1 Hz) követően populációs excitatorikus posztszinaptikus potenciálok (fEPSP) regisztrálhatók. Szerotonin hatására az asszociációs rostok ingerlésével kiváltott populációs excitatorikus posztszinaptikus potenciálok amplitúdója csökkent, az afferens útvonal ingerlése viszont növekedett (**61. ábra**). Következésképpen a szerotonin útvonal-specifikusan képes a szaglókéreg aktivitását befolyásolni.

Ezt követően a szerotoninerg neuromoduláció hatását vizsgáltuk a szaglókérgi neuronok szenzoros információfeldolgozásában, altatott állatokban (Lottem és mtsai., 2016). A szerotoninerg neuronok az agytörzsi raphe magvakban találhatóak, de itt a szerotoninerg neuronok mellett számos GABAerg, glutamaterg és dopaminerg neuron is található (Allers és Sharp, 2003). A szerotonin leadást a dorzális raphe szerotoninerg sejtjeinek optogenetikai módszerekkel történő ingerlésével váltottuk ki, ugyanis az elektromos ingerlés a szerotonin leadás mellett a proximális neuronhálózat egyéb neurokémiai identitású sejtjeit és az áthaladó felszálló aktiváló rendszer rostjait is aktiválhatja. A



62. ábra. Gyors, specifikus szerotoninerg neuron aktiváció optogenetikai technikával.

specifikus szerotoninerg stimuláció érdekében fényérzékeny kationcsatornát, channelrhodopszint (ChR2) expresszáltattunk szerotoninerg sejtekkel úgy, hogy cre-dependens víruskonstruktot injektáltunk SERT-cre egerek raphe magjába (**62. ábra**). A channelrhodopszin megfelelő expressziójáról az EGFP fúziós fehérje vizualizálása segítségével (**62. ábra**), specificitásáról triptofán hidroxiláz (TPH) immunhisztokémiai vizsgálat során és az azt követő magas EGFP-TPH átfedést (a ChR2-YFP expresszáló neuronok 93.962.0%-a TPH immunreaktív) tapasztalva győződünk meg. Ezenkívül ChR2 expresszáló túlélő agytörzsi szeletekben cell-attached patch clamp technika segítségével regisztráltuk a szerotoninerg EGFP fluoreszcenciát mutató neuronok elektromos aktivitását. Az összes EGFP-t expresszáló sejt fotostimulációra akcióspotenciálokkal válaszolt (**62. ábra**). Intakt állatban is sikerült fotostimuláció hatására akcióspotenciálokat regisztrálni a DR területéről. Mindezekből arra következtettünk, hogy a channelrhodopszint kifejező sejtek szerotoninergnek és fény hatására nagyon jó időbeni felbontással akcióspotenciálokat generálnak, ami feltételezhetően szerotonin leadáshoz vezet a szerotoninerg sejtek projekciós területén.



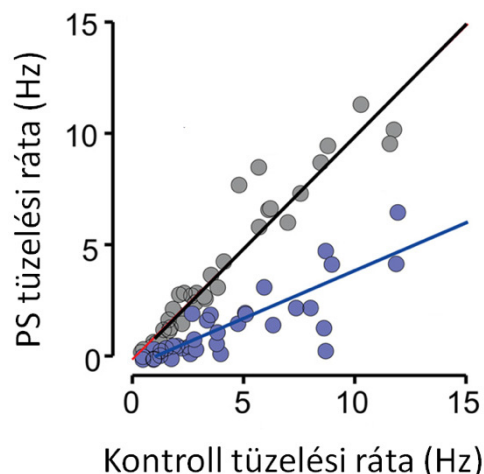
63. ábra. A DR szerotoninerg neuronok stimulációjának hatása az aPC neuronok spontán aktivitására. (A) Kísérleti felállítás és ChR2-YFP expresszió a DR-ben. (B) Reprezentatív aPC neuron spontán aktivitásváltozása szerotoninerg stimulációra. Extracelluláris egysejtaktivitás, fotostimulált (kék téglalap, 3s) és kontroll raster plotok és peristimulus időhisztogramok. (C) Az összes regisztrált aPC neuron színekódolt normalizált átlag tüzelési rátája a fotostimuláció körüli időszakban. Alul: az összes neuronból számolt átlag peristimulus időhisztogram. (D) A fotostimulációs modulációs indexek eloszlása.

DR mag szerotoninerg sejtjeiben ChR2-t expresszáló állatokat uretánnal altattuk, és elsődleges szaglókérgükbe (aPC, anterior piriform cortex) mikroelektrodákat helyeztünk el, amelyekkel az itt lévő neuronok elektromos aktivitását monitoroztuk. Szerotonin fotostimulációt követően a legtöbb regisztrált sejt (47 sejt a 64-ből, 60%) elektromos aktivitása szignifikáns csökkenést mutatott, 3 sejt elektromos aktivitása fokozódott, a maradék 14 sejt elektromos aktivitása pedig nem mutatott szignifikáns változást (**63. ábra**). A válasz látenciája legtöbb esetben gyors volt (medián: 161 ± 48 ms). A hatás dózisdependenciát mutatott, ugyanis magasabb stimulációs frekvenciát vagy hosszabb időtartamú fotostimulációt alkalmazva a hatás fokozódott (Lottem és mtsai., 2016).

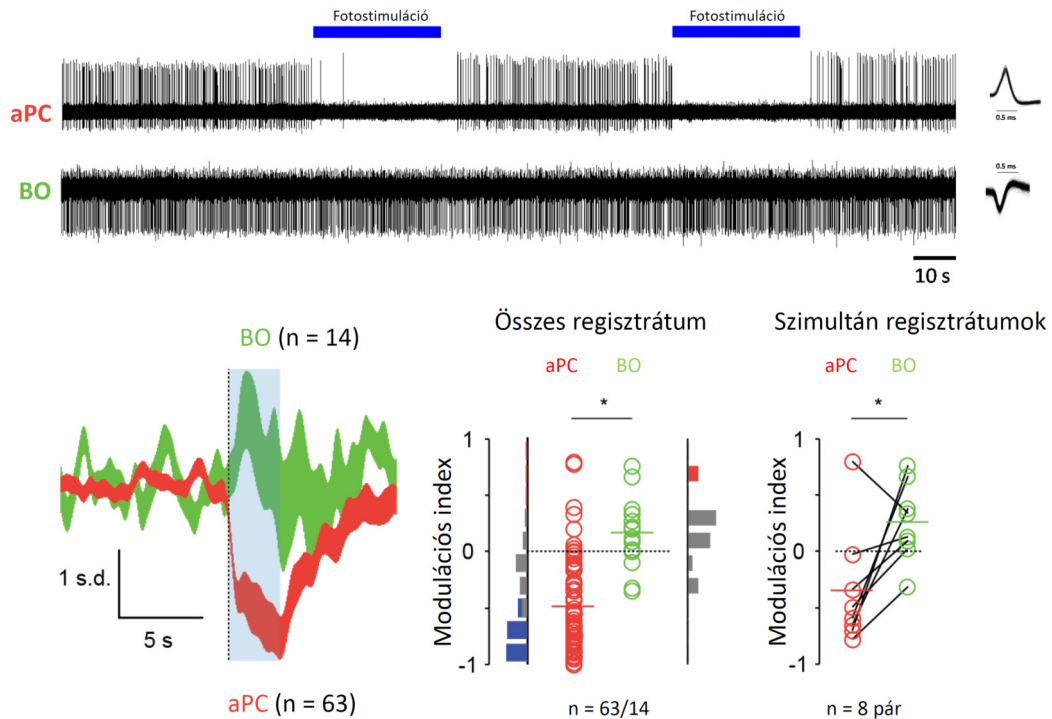
A spontán aktivitásra gyakorolt hatás kétféle lehet: amennyiben az aktivitáscsökkenés abszolút értéke azonos, akkor alacsonyabb és magasabb alapaktivitással bíró sejtek esetében szubtaktív inhibícióról, ha pedig ezek függvényében változtatják abszolút értékeiket, akkor multiplikatív inhibícióról beszélhetünk. Azok az aPC sejtek, amelyek magasabb alapaktivitással rendelkeztek, fotostimuláció hatására nagyobb aktivitáscsökkenést mutattak, mint az alacsony alapaktivitású neuronok, tehát a szerotonin fotostimuláció egy divizív szupressziót gyakorol a neuronokra (64. ábra).

Elméletileg lehetséges, hogy a tapasztalt inhibíció mértéke összefügg a különböző neuronok átlagos alapaktivitásával. Ezt kizárandóan megvizsgáltuk, hogy ugyanazon sejt aktivitását hogyan befolyásolja a szerotonin fotostimuláció és az utána altatásban jól ismert jelenség, az alapaktivitás bizonyos mértékű spontán ingadozása. Azt tapasztaltuk, hogy a hatás abszolút értéke nagyobb volt azokban az esetekben, amikor a sejt alapaktivitása fokozott volt, mint amikor ugyanannak a sejtnek a spontán tüzelése mérsékelt volt, tehát elmondhatjuk, hogy a szerotonin fotostimuláció hatása egy tisztán divizív inhibíció.

Mivel a szerotoninerg sejtek a szaglórendszer más területeire is vetítenek (McLean és Shipley, 1987), nem zárható ki a lehetőség, hogy a tapasztalt hatás a szaglórendszer egy korábbi állomásán, például a bulbus olfactoricusban (BO) következik be. Emiatt szaglókérgi és BO neuronok elektromos aktivitását is tanulmányoztuk szerotonin fotostimulációja közben. A szerotonin fotostimuláció csak mérsékelt hatással volt a regisztrált 14 BO (valószínűleg mitrális sejtek és/vagy ecsetsejtek) neuron elektromos aktivitására: mindössze 2 neuron aktivitása mutatott jelentős eltérést. Ezek aktivitása pedig szerotonin fotostimuláció hatására enyhén fokozódott (65. ábra). Tehát az aPC szerotonin fotostimulációt követő aktivitáscsökkenés nem magyarázható a BO-ban történő szerotoninerg hatással.

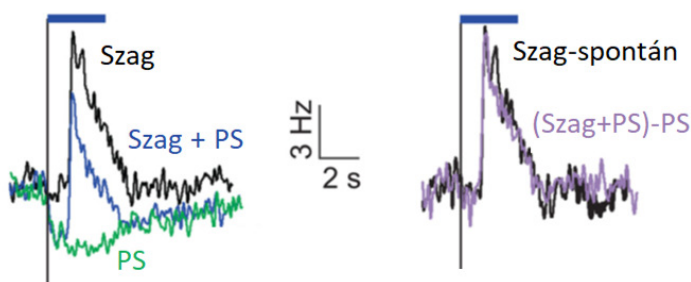


64. ábra. A DR szerotoninerg neuronok stimulációjának hatása az aPC neuronok spontán aktivitására. A körök az egyes neuronok aktivitását (szürke: kontroll, kék: DR fotostimuláció), a vonalak a lineáris regressziós illesztést ábrázolják.



65. ábra. A szerotoninerg neuronok specifikus optogenetikai stimulációjának hatása a szaglógumó (BO) és a szaglókéreg (aPC) neuronjainak spontán aktivitására. (A) Szimultán extracelluláris aPC és BO neuron regisztráció nyers felvételén jól látható a hosszú időtartamú (30s) fotostimuláció szelektív hatása az aPC neuronra. (B) az összes regisztrált BO (zöld) és aPC (piross) peristimulus hisztogramja a fotostimuláció körül. (C) A regisztrált BO és aPC neuronok fotostimulációs modulációs indexe (eloszlás oldalt). (D) A szimultán regisztrált BO és aPC neuron fotostimulációs modulációs indexe.

A szaglókérgi spontán aktivitás megfigyelését követően a szaglókérgi sejtek szenzoros ingerekre adott válaszát tanulmányoztuk. Ennek érdekében különböző szagingereket prezentáltunk az állatoknak egy saját készítésű olfaktométer segítségével. A különböző szagingerek szignifikáns választ váltottak ki 33 neuronban (52%), 25 sejtben pedig (40%) szimultán tapasztaltunk szagválaszt és szerotonin fotostimulációt követő alapaktivitás-csökkenést. Ha a szerotoninerg fotostimulációt és a szagingert egyidejűleg alkalmaztuk, akkor azt tapasztaltuk, hogy a hatás nagymértékben hasonlított a spontán

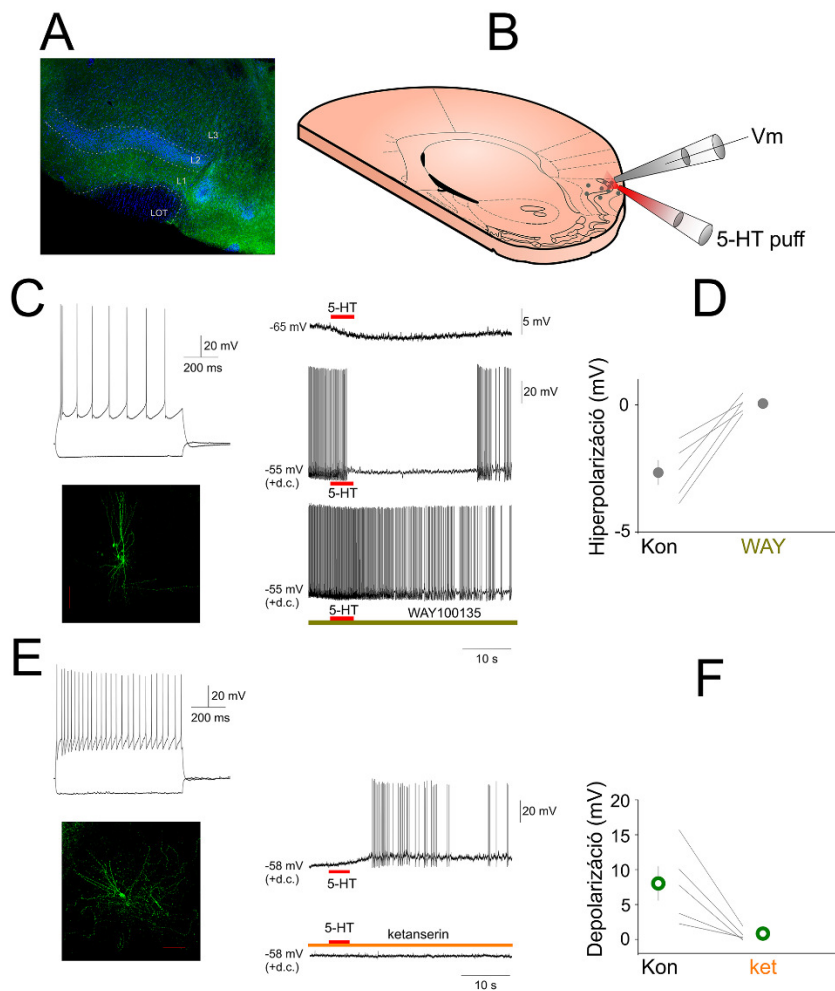


66. ábra. Szerotoninerg fotostimuláció hatása a szaglókérgi neuronok szagingerek által kiváltott válaszaikra. Részletek a szövegben.

aktivitáskor tapasztaltakhoz. A 25 regisztrált neuron aktivitását háromféle peristimulus hisztogramként ábrázolhatjuk (66. ábra, bal oldal): a spontán aktivitásra gyakorolt fotostimuláció hisztogramját (PS), illetve a szaginger által kiváltott

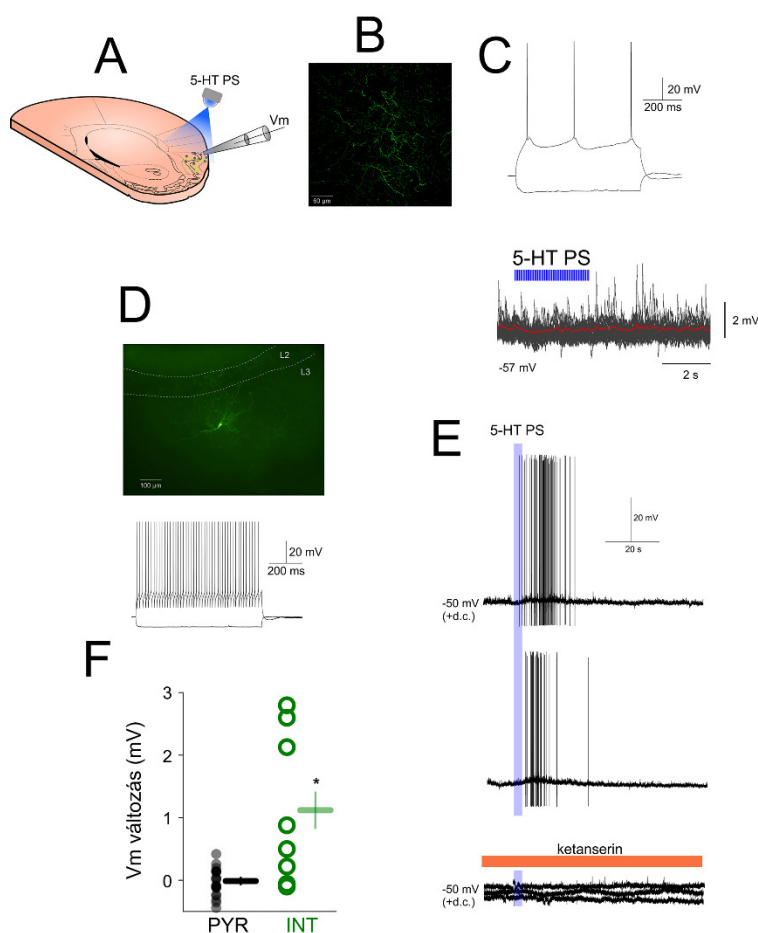
aktivitás hisztogramját fotostimuláció jelenlétében (Szag+PS) és annak hiányában (Szag). Ha a fotostimuláció jelenlétében szaginger által kiváltott aktivitás hisztogramjából kivonjuk a spontán aktivitásra gyakorolt fotostimuláció hisztogramját, akkor megkapjuk a tulajdonképpeni szaginger által kiváltott válaszokra gyakorolt fotostimuláció hatását. Az így kapott hisztogram teljesen megegyezik a szaginger által (fotostimuláció nélkül) kiváltott aktivitás hisztogramjával (66. ábra, jobb oldal). Vagyis a szaginger által kiváltott válaszra gyakorolt szerotonin fotostimulációs hatás teljes mértékben magyarázható a spontán aktivitásra gyakorolt hatással.

6.1.7 A szerotonin sejt-specifikus szerepei a szaglókéregben



67. ábra. Szerotoninerg hatások a szaglókéregben. (A) Szerotonin immunreaktív rostok a szaglókéregben (zöld csatorna). A szaglókérgi rétegeket (LI-3) szaggatott vonalakkal jelöltük, a kék csatorna a DAPI festést illusztrálja. (B) A lokális szerotonin applikáció vázlatos ábrázolása. (C) Szaglókérgi piramisajt membránválasza és morfológiája (bal oldal), szerotonin válasza kontroll és 5-HT_{1a} antagonist (WAY100135) jelenlétében. (D) A szerotonin hatása a szaglókérgi piramisajt membránpotenciáljára. (E) Szaglókérgi interneuron membránválasza és morfológiája (bal oldal), szerotonin válasza kontroll és 5-HT_{2a} antagonist (ketanserin) jelenlétében. (F) A szerotonin hatása a szaglókérgi interneuronok membránpotenciáljára.

A szerotonin celluláris hatásait *in vitro* túlélő szövetszelet preparátumokban tanulmányoztuk lokális farmakológiai és optogenetikai módszereket kombinálva whole-cell patch clamp technikával morfológiailag azonosított szaglókérgi principális sejteken és interneuronokon. A szaglókéreg területén. Szerotonin immunhisztokémiai festést alkalmazva a szaglókéreg területén gazdag rosthálózat figyelhető meg az 1-es és a 3-as rétegek esetén (**67. A ábra**). A szerotonin különböző azonosított szaglókérgi neuronokra gyakorolt hatását először lokális szerotonin applikáció segítségével tanulmányoztuk (**67. A ábra**). A principális neuronok membránpotenciálja szerotonin hatására hiperpolarizált (kontrol: -70.47 ± 0.79 , 5-HT: -73.38 ± 1.07 , $p < 0.05$, $n = 5$), ez a hiperpolarizáló hatás az áraminjekcióval kiváltott akciós potenciál leadást nagymértékben csökkentette (**67. B és D ábra**). Mind a hiperpolarizáció, mind pedig a tüzelés csökkenés megelőzhető volt az 5-HT_{1a} receptor blokkoló jelenlétére (5-HT: -2.64 ± 0.47 mV, WAY100635 + 5-HT: 0.05 ± 0.14 mV, $p < 0.05$, $n = 5$).

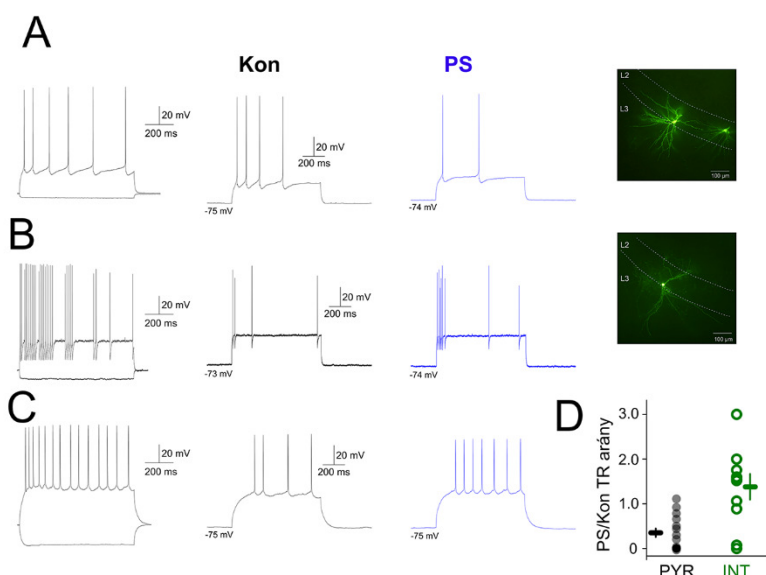


68. ábra. Szerotoninerg fotostimuláció hatása a szaglókérgi neuronok membránpotenciáljára. (A) Kísérleti felállítás. (B) ChR2 expresszáló DR rostok a szaglókéregben. (C) Szaglókérgi piramisajt membránválasza a DR rostok lokális fotostimulációjára (5-HT PS). (D) Szaglókérgi gyorsan tüzelő neuron membránválasza hipo- és hiperpolarizáló áraminjekcióra és (E) a DR rostok lokális fotostimulációjára (5-HT PS) kontroll és 5-HT_{2a} receptorok blokkolása mellett (ketanserin). (F) 5-HT PS hatása az összes regisztrált piramisajt és interneuron membránpotenciáljára.

Az interneuronok membránpotenciálja szerotonin hatására hipopolarizált (5-HT: 7.30 ± 3.24 mV, $n = 5$), illetve akciós potenciál leadást eredményezett (átlag kiváltott tüzelési ráta: 2.66 ± 1.40 Hz, $n = 5$), ezt a hatást az 5-HT₂ receptorok antagonistája gátolta (**67. E és F ábra**).

Az endogén 5-HT leadás hatását a szaglókérgi neuronokra SERT-cre egerekben tanulmányoztuk, amelyek 5-HT neuronjai ChR2-t expresszáltak. A vírusfertőzést követő 8-15 hét posztinfekciós időszak elteltével túlélő agyszeleteket készítettünk az egerek szaglókérgéből és optogenetikai stimulációnak vetettük alá szimultán azonosított neuronokból készült whole-cell

patch clamp regisztrációval (**68. A ábra**). A szaglókéreg területén jelentős ChR2 expresszálo rost figyelhető meg (**68. B ábra**). 20 azonosított szaglókérgi principális sejtben a ChR2 expresszálo 5-HT axonok lokális fotostimulációja nem okozott számottevő membránpotenciál változást (5-HT fotostimulációt követő átlag V_m változás: -0.03 ± 0.04 mV, $p > 0.05$, $n=20$). Interneuronok esetén a ChR2 expresszálo 5-HT axonok lokális fotostimulációja a membránpotenciál hipopolarizációját okozta (5-HT fotostimulációt követő átlag V_m változás: 1.11 ± 0.42 mV, $n=8$). Bizonyos esetekben a fotostimulációt akciós potenciál leadás követte (**68. E ábra**). Az 5-HT₂ receptorok antagonistája megszüntette a depolarizációt és az akciós potenciál leadást (**68. E ábra**). A továbbiakban szaglókérgi principális sejtek és interneuronok által kiváltott akciós potenciál leadás 5-HT függését tanulmányoztuk úgy, hogy azonos áramlépcső által kiváltott tüzelést hasonlítottunk össze 5-HT fotostimuláció jelenlétében és



69. ábra. Szerotoninerg fotostimuláció hatása a szaglókérgi neuronok kiváltott elektromos aktivitására. (A) Piramis sejt membránválasza hiperpolarizáló és depolarizáló áraminjekcióra (bal oldal). Áraminjekcióra jelentkező tüzelés kontroll (Kon) és 5-HT fotostimuláció (PS) alatt. A regisztrált neuron morfológiája az ábra jobb oldalán látható. (B) "Stuttering" interneuron membránválasza (bal oldal). Áraminjekcióra jelentkező tüzelés Kon és 5-HT PS alatt. A regisztrált neuron morfológiája az ábra jobb oldalán látható. (C) Szaglókérgi interneuron membránválasza (bal oldal). Áraminjekcióra jelentkező tüzelés Kon és 5-HT PS alatt. (D) Kontroll és 5-HT fotostimuláció alatti kiváltott elektromos aktivitás az összes regisztrált szaglókérgi neuron esetén.

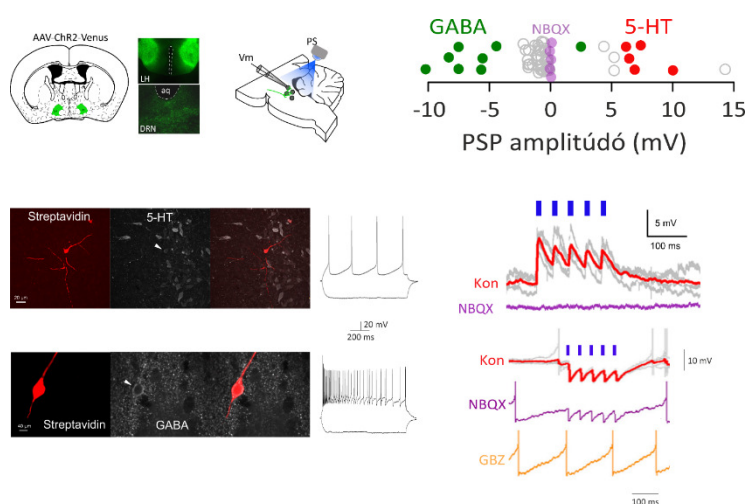
annak hiányában (**69. ábra**).

Principális sejtek esetén az 5-HT fotostimuláció hatására az akciós potenciál leadás csökkent (normalizált fotostimuláció alatti átlag tüzelés: $30.96 \pm 9.51\%$,

$p < 0.01$, $n=16$) (**69. A és D ábra**). Interneuronok esetén az 5-HT fotostimuláció hatására az akciós potenciál leadás a sejtek többsége

esetén növekedett, de ez a hatás az egész csoportra nem volt szignifikáns (normalizált fotostimuláció alatti átlag tüzelés: $133.73 \pm 28.63\%$, $p > 0.05$, $n=10$) (**69. B, C és D ábra**).

6.1.8 A raphe-hipotalamik kölcsönhatások szerepe az ébrenlétben

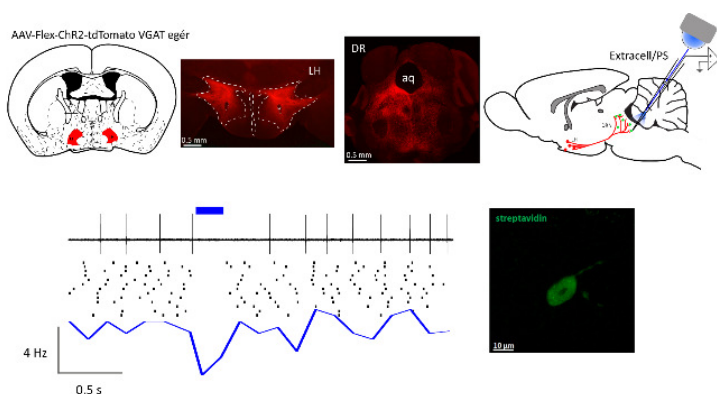


70. ábra. LH-DR szinaptikus hatások *in vitro*. LH fertőzött egerekből készített agytörzsi stülélő szövetszeletekben jól láthatók a ChR2-Venus expresszáló LH axonok. A szerotonerg neuronok (5-HT immunreaktív, lassú tüzelés) iGluR mediált EPSP-vel, a GABAerg neuronok (GABA immunreaktív, gyors tüzelés) GABA_A mediált IPSP-vel válaszoltak az LH axonok lokális fotostimulációját követően. Az összes regisztrált neuron PSP amplitudó eloszlása az ábra felső jobb oldalán látható (piross: szerotonerg, zöld: GABAerg neuronok, szürke: azonosítatlan neurokémiai identitású neuronok).

Az LH-raphe pálya funkcionális jellemzése érdekében különböző állatok LH területét adenoasszociált vírussal injektáltuk, amelybe a ChR2 fehérje és a Venus fluorofórt kódoló DNS-t csomagolták. Harminc nap elteltével az állatok raphe magvában prominens ChR2 expresszáló axonplexus volt megfigyelhető (70. ábra). Az *in vitro* túlélő agyszeletekben „whole cell patch clamp” technikával regisztrálva kiderült, hogy a neuronok egy részében ChR2 expresszáló LH axonok

fotostimulációja posztszinaptikus válaszokat vált ki (29/68 neuron, 42%).

Kiderült ugyanakkor, hogy ChR2 expresszáló LH axonok fotostimulációja azonosított szerotonerg neuronokban AMPA/KA receptor mediált excitatorikus posztszinaptikus potenciálokat, azonosított GABAerg interneuronokban pedig GABA_A receptor mediált inhibitorikus posztszinaptikus válaszokat eredményez (70. ábra). A regisztrált serkentő és gátló posztszinaptikus potenciálok monoszinaptikusak, mivel latenciájuk ingadozása minimális (<0.3 ms), illetve TTX és 4-AP sem a serkentő, sem pedig a gátló potenciálokat nem blokkolta, kizárva így a poliszinaptikus hatások lehetőségét. Bebizonyítottuk tehát, hogy az LH neurokémiaailag specifikus projekciókat küld a DR-be, GABA_A receptor mediált monoszinaptikus gátlást eredményezve a GABAerg neuronokon, és AMPA/KA glutamát receptor mediált monoszinaptikus serkentést eredményezve a szerotonerg neuronokon.



71. ábra. A GABAerg LH axonok lokális fotostimulációjának hatása a DR neuronális aktivitásra. Felül: kísérleti felállítás és hisztológia. VGAT egerek LH területének cre-dependens vírussal való fertőzése tdTomato expressziót eredményez az LH GABAerg neuronjaiban, amelyek axonjai jól láthatóak a DR területén (aq: aqueductus cerebri). Alul: reprezentatív regisztráció DR neuronból, lokális fotostimuláció hatására jelentkező aktivitáscsökkenés, illetve a regisztrált és feltöltött neuron fluoreszcens mikroszkópiás felvétele.

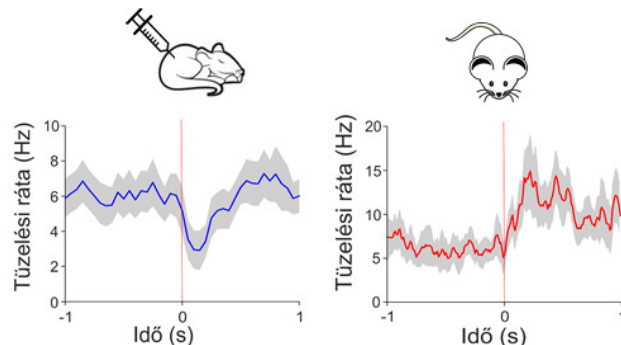
Az LH-ből DR-be irányuló gátló projekciók szerepét úgy vizsgáltuk, hogy VGAT-cre egerek LH magját cre-dependens adenoasszociált vírussal (AAV1-CAGGS-FLEX-CHR2-tdTomato-SV40) fertőztük meg, amelynek eredményeképpen az LH GABAergikus neuronjai ChR2 és tdTomato fluorofort expresszáltak (**71. ábra**). Altatott állatokban jutacelluláris technikával morfológiailag azonosított DR neuronok elektromos aktivitását

regisztráltuk szimultán LH VGAT rostok lokális fotostimulációjával (5 db 10 ms-os felvillanás, 20 Hz, 5 mW). A regisztrált neuronok jelentős része esetén az LH VGAT axonok lokális fotostimulációja a neuronok spontán tüzelési rátáját csökkentette (kontroll aktivitás: 7.72 ± 6.43 Hz, fotostimulációt követő aktivitás: 5.37 ± 6.77 , $p < 0.001$; **72. ábra**). 8 neuron morfológiáját sikerült azonosítani, ezek a neuronok nagy valószínűséggel GABAerg neuronok voltak kis méretű sejttestűk, viszonylag magas spontán tüzelési rátájuk (6 Hz), illetve a DR-en belüli laterális lokalizációjuk miatt.

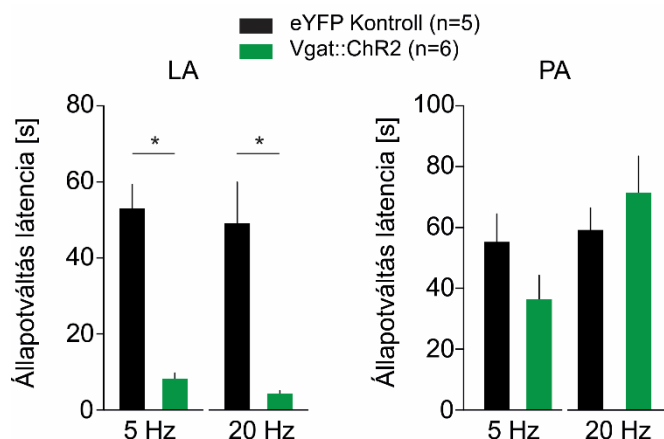
Éber egerek raphe magjából regisztrálva az LH VGAT neuronok axonjainak lokális fotostimulációjával (5 db 10 ms-os felvillanás, 20 Hz, 5 mW) egyidőben azt tapasztaltuk, hogy az alacsony, reguláris spontán tüzeléssel jellemezhető neuronok aktivitása fokozódott

(10 neuron a regisztrált 12-ből, 83%), a magas és irreguláris spontán aktivitású (feltehetőleg GABAerg) neuronok aktivitása pedig mérséklődött (2 neuron a regisztrált 12-ből, 17%).

Az eddigiekben jellemzett LH-DR GABAerg projekció funkcionális szerepét alvásvizsgálatok során vizsgáltuk meg. Az ChR2 expresszáló LH GABAerg neuronok axonjainak DR-ben történő fotostimulációja képes az alvó egereket felébreszteni LA



72. ábra. LH GABAerg axonok DR fotostimulációjának hatásai a DR neuronális aktivitásra. A fotostimuláció alapján készült peri-stimulus hisztogramok altatott (bal oldal, $n=25$ neuron) és éber (jobb oldal, $n=12$ neuron) állatokból regisztrált neuronális aktivitások alapján.



73. ábra. Az LH GABAerg rostok fotostimulációja a DR-ben ébresztő hatású. LH GABAerg rostok fotostimulációját követő LA-ébrenlét (bal oldal) és PA-ébrenlét átmenetek latenciája (jobb oldal).

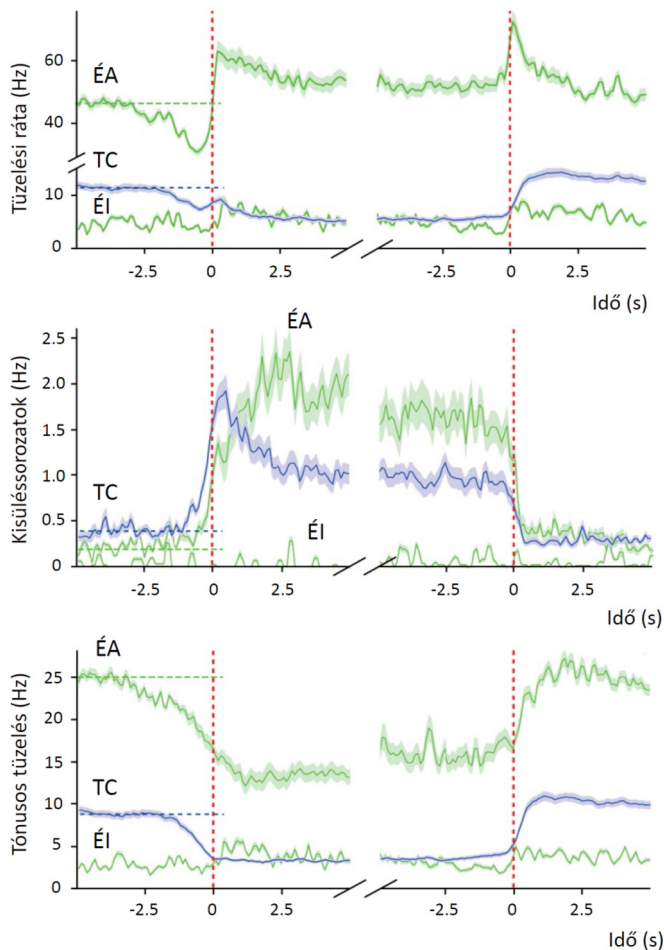
alvástádiumból, viszont PA stádiumban a fotostimuláció nem eredményezett ébredést (73. ábra), tehát az LH-DR GABAerg projekció hatásai állapotspecifikusak.

6.2 A patológiás agyi állapotok mechanizmusai és szerepei a thalamokortikális rendszerben

6.2.1 Az absence rohamok generálásának thalamokortikális mechanizmusai

Az *in vitro* modelleken alapuló kutatási eredmények szerint az absence roham generálásában a TC neuronok kisüléssorozatos tüzelése fontos szerepet játszik (von Krosigk és mtsai., 1993; Bal és mtsai., 1995b, a; McCormick és Contreras, 2001). Az iktogenezis mechanizmusait szabadon mozgó GAERS patkányokban tanulmányoztuk szimultán thalamikus és agykérgi egysejtaktivitás monitorozás és lokális farmakológia kombinációjának segítségével. Összehasonlítottuk a szomatoszenzoros thalamusz, a nucleus reticularis thalami és az elsődleges szomatoszenzoros kéreg infragranuláris rétegi neuronok aktivitását iktális (rohamok alatti), illetve interiktális (rohamok közötti) időszakokban.

Kísérleteink során 139 TC neuron aktivitását monitoroztuk; akcióspotenciáljaik időtartama 11.5 ± 4.4 s volt. Iktális aktivitásuk rátája az interiktálisnál alacsonyabb volt (iktális ráta: 5.44 ± 0.03 , interiktális ráta: 11.4 ± 0.04 Hz, $P < 0.001$) (74. ábra). Az iktális aktivitáscsökkenést a tónusos tüzelés csökkenése okozta (iktális tónusos tüzelési ráta: 2.8 ± 0.01 , interiktális tónusos tüzelési ráta: 9.3 ± 0.03 Hz, $P < 0.001$) (74. ábra), az aktivitáscsökkenés az EEG-n detektálható rohamokat mintegy 2s-mal megelőzte, és a roham végéig fennmaradt. A

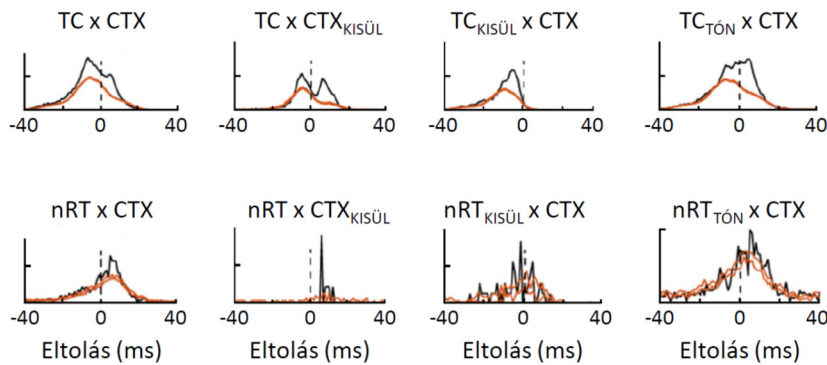


74. ábra. TC és nRT neuronok iktális és interiktális aktivitása. A TC (kék) és az nRT (zöld) neuronok teljes (felül), a kisüléssorozatos (középen) és a tónusos (alul) tüzelése az absence rohamok előtt, közben és után. A rohamok kezdetét és végét függőleges szaggatott vonalak jelzik. Részletek a szövegben.

ritmikus volt. A regisztrált nRT neuronok az interiktális aktivitásuk szerint két csoportba oszthatók: ébrenlét alatt aktív (ÉA, >10 Hz) és ébrenlét alatt inaktív (ÉI, ≤ 10 Hz) neuronokra. Az ÉA neuronok átlagos interiktális tüzelési rátája (47 ± 1.8 Hz, 13 neuron) a preiktális szakaszban (500 ms-mal a roham kezdete előtt) csökkent (31 ± 0.9 Hz), majd az iktális szakasz kezdetén nőni kezdett (62.1 ± 0.2 Hz), és a teljes iktális szakaszban emelkedett maradt (52 ± 2 Hz). Az ÉA neuronok tónusos tüzelése (25 ± 1 Hz) is csökkent preiktálisan, majd iktálisan 14 ± 2 Hz volt. Az ÉA neuronok interiktális kisüléssorozatos tüzelése (0.31 ± 0.01 Hz) az iktális

kisüléssorozatos tüzelés rátája viszont az iktális periódus előtt 1s-mal kezdett növekedni (iktális kisüléssorozatos tüzelési ráta: 1.8 ± 0.22 Hz, interiktális kisüléssorozatos tüzelési ráta: 0.40 ± 0.01 Hz), majd a roham kezdetét követő 2s után ért el stabil értéket (0.9 ± 0.01 Hz). A teljes iktális szakasz tekintetében a kisüléssorozatos tüzelés alacsony volt (az SWD-k $15.7 \pm 0.1\%$ -a), a tónusos tüzelés az SWD-k $30.1 \pm 0.1\%$ -ában volt megfigyelhető. Összességében a neuronok közel fele (62 neuron a 139 regisztráltból, 45%) az SWD-k 50%-ában nem adott le akcióspotenciált. A viszonylag alacsony tüzelés ellenére az iktális neuronális aktivitás kifejezetten

szakasz elején (2.5s a roham kezdete után) volt a leghangosabb (2.4 ± 0.02 Hz), majd a roham végéig fokozatosan csökkent. Az ÉA neuronok esetében kisüléssorozat az SWD-k 25%-ában, tónusos tüzelés pedig az SWD-k 53%-ában volt jelen. Az átlag AP/SWD 6.2 ± 0.3 volt.



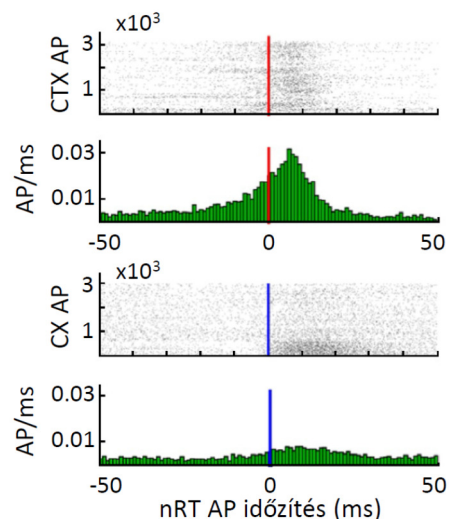
75. ábra. A thalamikus neuronok iktális kérgi serkentése. Reprezentatív keresztkorrelációk TC és S1 infragranuláris neuron (CTX), illetve nRT és CTX neuronokból. A bal oldali oszlopok keresztkorrelációi a teljes tüzelésből, a második oszlopban a TC és nRT neuron teljes tüzelése a CTX kisüléssorozat tüzeléséből (KISÜL), a harmadik oszlop a CTX teljes tüzeléséből és a TC, illetve az nRT neuron kisüléssorozat tüzeléséből, a jobb oldali oszlop a TC és nRT neuron tónusos (TÓN) tüzeléséből, illetve a CTX teljes tüzeléséből let számolva.

S1 infragranuláris neuronok aktivitását regisztráltuk. 58 szimultán regisztrált TC és agykérgi neuron regisztrátum közül 13 esetben az iktális keresztkorrelogramok két jól meghatározott csúccsal rendelkeztek, ami minden valószínűség szerint reciprok serkentés következménye (**75. ábra**). A kérgi neuron kisüléssorozat tüzeléséből számolt keresztkorrelogramok esetében a korreláció a tónusos tüzelés felhasználásával készültnél kifejezettebb, tehát a kérgi kisüléssorozat tüzelés nagyobb hatással van a TC neuronok aktivitására, mint a tónusos tüzelés (**75. ábra**).

A TC neuron kisüléssorozat tüzelés keresztkorrelogramok csúcsa viszont alig látható, tehát a kérgi tüzelés a TC neuronokban szinte kizárólag tónusos aktivitást vált ki (**75. ábra**). A szimultán regisztrált S1 és nRT neuronok keresztkorrelációi egyetlen csúccsal rendelkeztek mind a tónusos, mind pedig a kisüléssorozat kérgi aktivitás esetében, tehát a kérgi aktivitás képes tónusos és kisüléssorozat nRT aktivitást is kiváltani (**76. ábra**). Az nRT neuronok tüzelési valószínűsége a kérgi

Az ÉI neuronok iktális és interiktális aktivitása között nem észleltünk számottevő különbségeket (**74. ábra**).

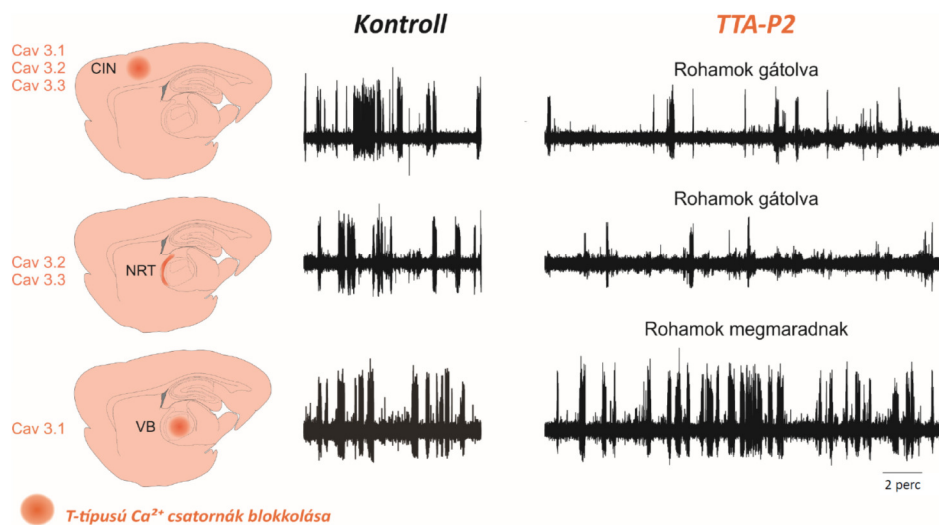
Annak érdekében, hogy az iktális aktivitás létrejöttében szerepet játszó kortikothalamikus hatásokat azonosítsuk, szomatotopikusan hasonló területekről TC és



76. ábra. nRT aktivitás TC és kérgi bemeneteinek összehasonlítása. nRT aktivitás raster ábrája (felül) és eloszlása (alul) a kérgi (piros függőleges vonal) vagy TC (kék függőleges vonal) akciós potenciálok hoz viszonyítva szimultán regisztrált CTX-nRT és TC-nRT regisztrátumokból számolva.

aktivitást követő 100 ms periódusban kifejezettebb volt, mint a TC aktivitást követően, tehát az nRT aktivitást a kérgi aktivitás hatékonyabban serkenti, mint a TC aktivitás (76. ábra).

Kutatási eredményeink azt valószínűsítették, hogy a TC neuronok kisüléssorozatos tüzelése nem játszik kulcsszerepet az iktogenezisben, de ennek pontos feltárása érdekében a T-típusú Ca^{2+} csatornákat szelektíven blokkoltuk lokális thalamikus és S1 farmakológiát alkalmazva. A primer szomatoszenzoros relémagba, a ventrobazális komplexbe (VB) reverz mikrodialízissel juttattunk be T-típusú Ca^{2+} csatorna blokkolót, TTA-2P-t. TTA-2P hatására a regisztrált TC neuronok kisüléssorozatos tüzelése megszűnt, tónusos tüzelésük pedig közel a kontrollértékek felére csökkent ($57 \pm 6\%$, $n=7$). Ennek ellenére a neuronok SWD-hez viszonyított fázispreferenciája nem változott ($p=0.843$), tehát a VB TC neuronokat kisüléssorozatos tüzelés nélkül is ritmikus iktális aktivitás jellemzi. Annak ellenére, hogy a proximálisan regisztrált TC neuronok kisüléssorozatos tüzelése megszűnt, a TTA-2P VB magba történő beadása ($300 \mu\text{M}$ a dialízispróba) nem szüntette meg az EEG absence rohamait. A TTA-2P nRT magba vagy az S1 periorális régiójába történő beadása ($300 \mu\text{M}$ a dialízispróba) 50%-os rohamcsökkenést eredményezett (77. ábra).

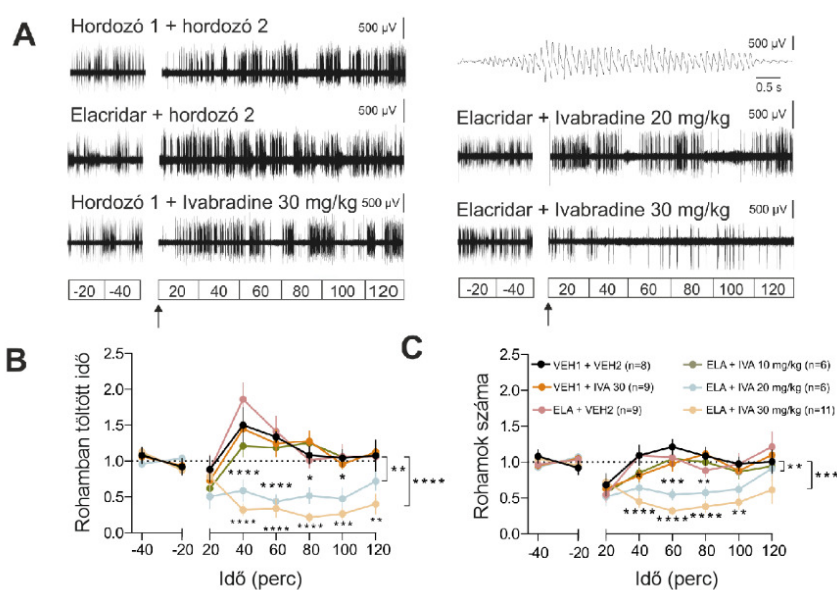


77. ábra. Agykérgi iniciációs hálózati (CIN), nucleus reticularis thalami (nRT) és szomatoszenzoros thalamikus TTA-P2 hatása az absence rohamokra. Az ábra bal oldalán a beadás helyei, illetve a különböző releváns agyterületekben jelen levő T-típusú Ca^{2+} csatorna izoformák. EEG regisztrátumok a TTA-P2 beadás előtti (kontroll) illetve azt követő szakaszból.

A fenti kutatási eredményekből arra következtethetünk, hogy a kérgi aktivitás az nRT neuronok aktiválásával szinkronizálja a VB TC neuronok aktivitását, ami a rohamok keletkezéséhez vezet. A TC neuronok szinkron kisüléséhez azonban nem szükséges T-típusú Ca^{2+} csatorna mediált kisüléssorozatos tüzelés a TC neuronokban, az nRT sejtekben és a kérgi neuronokban viszont szükséges.

6.2.2 Az intrinszek thalamokortikális mechanizmusok szerepei

A hiperpolarizáció által aktivált nemspecifikus kationáram fontos szerepet játszik a ritmikus aktivitással rendelkező sejtek tüzelésének meghatározásában (Benzoni és mtsai., 2021). A rendelkezésre álló csatornablokkolók túlnyomó részét lokális anyagbeadás vagy *in vitro* kísérletek során tesztelték, azonban szisztémikusan ható anyag esetleges antiepileptikus hatását még nem írták le. Ennek legfőbb oka a legtöbb csatornagátló vér-agy gát impermeabilitása. Kísérleteinkben a P-glikoprotein gátló Elacridart (ELA) használtuk, hogy az Ivabradine (IVA) gyógyszert a vér-agy gáton átjuttassuk. Ezt követően az IVA hatását *in vitro* thalamikus és agykérgi neuronokon teszteltük. 5 mg/kg ELA előkezelte GAERS patkányoknál a szájon keresztül történő 20 és 30 mg/kg IVA beadás csökkentette az állatok spontán rohamainak időtartamát és számát, a 10 mg/kg dózis hatástalan volt (**78. ábra**).

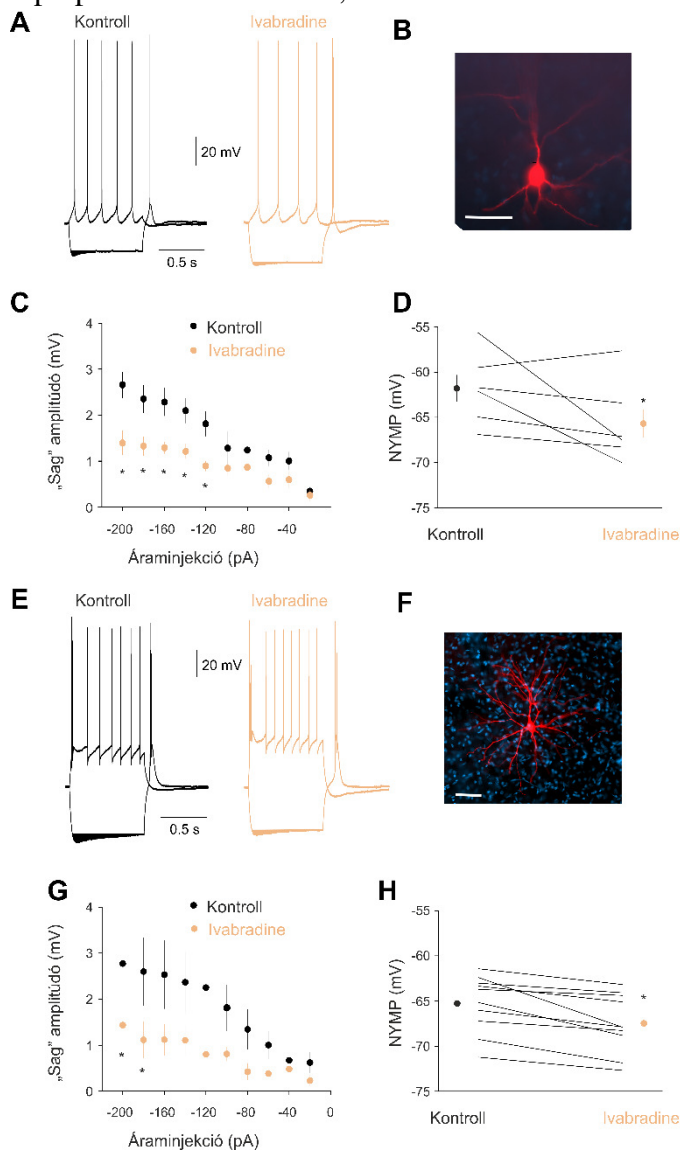


78. ábra. Szisztémás IVA beadás hatása a GAERS patkányok tüske-hullám kisüléseire. (A) EEG regisztráció kontroll és IVA jelenlétében. (B) Rohamokkal eltöltött idő, (C) rohamok időtartama és (D) rohamok számának kvantifikációja kontroll és IVA kezelés hatására.

végzett patch clamp regisztrációval vizsgáltuk. A szeletkamrához adagolt 3 µM IVA megszüntette a hiperpolarizáló áramlépcső által kiváltott h-áram mediált membrán-

Az IVA lokális VB-be, vagy S1-be történő injektálása szintén csökkentette az absence rohamokat (Iacone és mtsai., 2021), de a kérgi beadás a thalamikusnál hatékonyabbnak bizonyult. Az absence epilepsziás rohamok IVA általi blokkolásának mechanizmusait *in vitro* túléló agszeleteken

hipopolarizációt a szomatoszenzoros kéreg infragranuláris neuronjaiban és thalamokortikális neuronjaiban egyaránt (79. ábra). Ugyanakkor az IVA mindkét neurontípusban membránhiperpolarizációt okozott, illetve csökkent a kiváltott LT kisülésenkénti akcióspotenciálók



79 ábra. Az Ivabradin (IVA) hatása az agykérgi és thalamikus h-áram okozta "sag" potenciálokra *in vitro*. (A) Agykérgi neuron membránpotenciálválaszai hiper- és depolarizáló áraminjekcióra kontroll körülmények között és IVA jelenlétében. (B) A regisztrált neuron morfológiája. (C) Agykérgi neuronok "sag" potenciál amplitúdói kontroll és IVA jelenlétében különböző áraminjekciók esetén. (D) Agykérgi neuronok nyugalmi membránpotenciálja (NYMP) kontroll és IVA jelenlétében. (E) TC neuron membránpotenciálválaszai hiper- és depolarizáló áraminjekcióra kontroll körülmények között és IVA jelenlétében. (F) A regisztrált neuron morfológiája.

száma (thalamusz kontroll: 5.3 ± 0.8 , IVA: 4.5 ± 0.9 , $n = 10$, $p < 0.05$; agykéreg kontroll: 2.5 ± 0.28 , IVA: 1.0 ± 0.4 , $n = 6$, $p < 0.05$). Az IVA nem volt hatással a depolarizáló áramlépcső által kiváltott tónusos tüzelés akcióspotenciáljainak számára (thalamusz kontroll: 7.9 ± 0.4 , IVA: 7.6 ± 0.6 , $n = 10$, $p > 0.05$; agykéreg kontroll: 4.6 ± 0.2 , IVA: 4.5 ± 0.2 , $n = 6$, $p > 0.05$), illetve az akcióspotenciálók amplitúdójára (thalamusz kontroll: 71.2 ± 6.8 mV, IVA: 71.4 ± 6.5 mV, $n = 11$, $p > 0.05$; agykéreg kontroll: 78.05 ± 4.75 mV, IVA: 80.51 ± 5.32 mV, $n = 6$, $p > 0.05$) vagy küszöbére (thalamusz kontroll: -51.3 ± 3.3 mV, IVA: -51.7 ± 2.7 mV, $n = 11$, $p > 0.05$; agykéreg kontroll: -43.7 ± 2.3 mV, IVA -42.6 ± 2.2 mV, $n = 6$, $p > 0.05$). Mindezekből az IVA h-áramra gyakorolt specifikus hatására következtettünk.

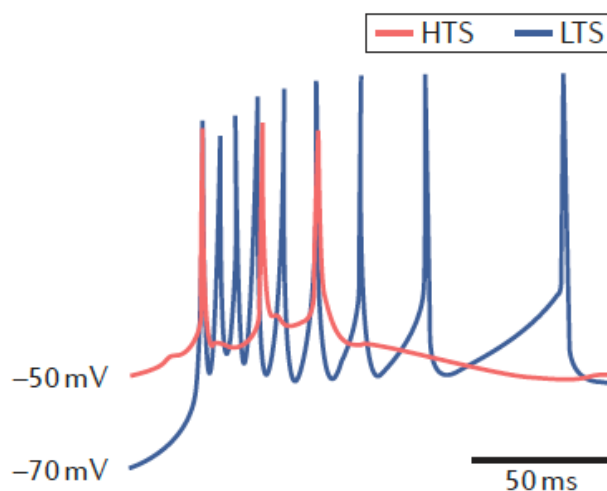
7. Összefoglalás

7.1 A thalamokortikális neuronok tüzelési módjai

A „klasszikus” TC aktivitásrepertoár membránpotenciál függő LT kisüléssorozatos és tónusos tüzelésből áll (Llinas és Jahnsen, 1982; Jahnsen és Llinas, 1984; McCormick és Bal, 1997). A kisüléssorozatos aktivitás intakt állatokban alvás és altatás alatt regisztrálható (Hirsch és mtsai., 1983; Domich és mtsai., 1986). Az LT kisüléssorozatok ritmicitása (Leresche és mtsai., 1991) alapján azt feltételezték, hogy a TC neuronok fontos szerepet játszanak a mélyalvás δ oszcillációinak generálásában, valamint hogy ébrenlét során, hipopolarizált membránpotenciál mellett jelentkező tónusos tüzelésük szenzoros relé szerepüket segíthet betölteni (Steriade, 2003). Az *in vitro* vizsgálatok (Hughes és mtsai., 2002; Hughes és mtsai., 2004) során viszont kiderült, hogy a szivárgó K^+ csatornák aktivitásának mérséklése (amely történhet kortikothalamikus glutamáterg vagy agytörzsi kolinerg neuromoduláció közreműködésével) az eddig ismert két tüzelési módon kívül (LT kisülés, tónusos tüzelés) egy újszerű kisüléssorozatos tüzelést vált ki, mégpedig a magas küszöbű kisülést (**80.ábra**), amely a hiperpolarizáltabb membránpotenciál mellett lassú oszcillációt eredményez. A HT kisülések a proximális TC neuronokat réskapcsolatokkal (Hughes és mtsai., 2011) szinkronizálva α oszcillációkat generálnak, és a lokális thalamikus interneuronok szinaptikus serkentése által hatással vannak a tónusosan tüzelő TC neuronok aktivitásának időzítésére (Lőrincz és mtsai., 2009a). A HT kisülések lehetnek az *in vitro* preparátumban jelentkező melléktermékek is, így igen lényeges kérdés, hogy intakt preparátumokban regisztrálhatók-e annak fényében, hogy a Steriade laboratóriumban igen nagy számú kiváló minőségű intracelluláris regisztrációt készítettek az évek során, de HT kisüléseket nem írtak le. A HT kisülések számos biofizikai tulajdonsága eltér az LT kisülésektől, például a generált Na^+ akcióspotenciálok közötti intervallumok eloszlását illetően. Szabadon mozgó, nyugodt ébrenlét állapotában levő macskák CGL TC neuronjainak egy része α hullámok alatt olyan kisüléssorozatokat produkált, amelyek tulajdonságai megegyeztek az *in vitro* regisztrátumok HT kisüléseivel. Közvetlen bizonyítékot thalamikus HT kisülés jelenlétére csak rágesálókban sikerült találnunk, ugyanis sekély altatásban a szomatoszenzoros thalamusz TC neuronjainak egy része HT kisüléssorozatokat produkált (Crunelli és mtsai., 2012). Újabb kísérleteink során sikerült immobilizált éber egerek CGL magjából is HT kisülést regisztrálni intracelluláris technikát alkalmazva (Molnár és mtsai., 2021). Kiderült, hogy ugyanaz a neuron képes alvási orsók alatt LT kisüléseket, nyugodt

dc_1964_21

ébredési állapotban pedig HT kisüléseket generálni. Így a „klasszikus” TC aktivitásrepertoár LT kisülései és tónusos tüzelése kiegészül a TC neuronok egy részében megjelenő HT kisülésekkel. A HT kisülések és α oszcillációk hálózati mechanizmusairól számos adat áll rendelkezésünkre: jól ismert a kortikothalamikus (Hughes és mtsai., 2008) és agytörzsi (Lőrincz és mtsai., 2008) neuromoduláció általi generálásuk, az intrathalamikus szinkronizációjuk (Hughes és mtsai., 2011), illetve lehetséges



80. ábra. *LT és HT kisülések összehasonlítása. A két kisülés mind membránpotenciál polarizáció, mind pedig a keletkező akciós potenciálok közötti időtartam tekintetében eltérést mutat.*

szerepeik a globális thalamikus funkciókban (Lőrincz és mtsai., 2009a). Viszont keletkezésük celluláris mechanizmusai még feltáratlanok, feltételezhetően valamilyen dendritikus Ca^{2+} konduktancia játszik fontos szerepet generálásukban.

7.2 A sejtspecifikus állapotfüggő thalamikus aktivitás

Az állapotfüggő agyi aktivitásokat leginkább az agykéregi neuronokra gyakorolt hatásuk miatt vizsgálták (McGinley és mtsai., 2015). Lényeges kérdés viszont, hogy az állapotfüggő agyi aktivitás generálásában fontos szerepet játszó kéregalatti struktúrák neuronjait hogyan érinti az ébredési különböző állapotainak változása. A nyugodt ébredési állapot megfigyelhető rágszálókban annak ellenére, hogy „klasszikus” α oszcillációik nincsenek. Ezek helyett egy 6–9 Hz-es oszcillációt írtak le patkányok (Buzsáki, 1991), illetve 3–6 Hz-es oszcillációt egerek vizuális kérgi regisztrációin (Einstein és mtsai., 2017; Senzai és mtsai., 2019), amelyek számos tekintetben az α oszcillációk homológjainak tekinthetők. Hasonlóképpen, az α oszcillációk és a rágszálók nyugodt ébredési ritmusai összefüggnek a θ oszcillációkkal (Osipova és mtsai., 2008; Senzai és mtsai., 2019), motorikus tevékenység hatására megszűnnek (Klimesch és mtsai., 2007; Arroyo és mtsai., 2018; Senzai és mtsai., 2019). Kutatási eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a CGL neuronok állapotfüggő aktivitása összefüggést mutat a neuronok identitásával: a CGL TC neuronok az aktív ébredési alatt, a CGL interneuronok viszont a nyugodt ébredési alatt aktívabbak. A kortikothalamikus visszacsatolásnak szerepe lehet a TC neuronok állapotfüggő aktivitásában, ugyanis a vizuális

kéreg farmakológiai inaktivációja csökkentette a thalamikus neuronok állapotfüggését, de nem szüntette meg teljesen ezt. Mi lehet az oka a két sejtípus egymástól eltérő aktivitásának? Elképzelhető, hogy a két neurontípust különböző bemenetek aktiválják, amelyek más-más állapotban aktívak. Azonos bemenetek esetén akkor jelentkezhet eltérő válasz, ha a célsejtek posztszinaptikus receptorai eltérőek. Mind az agytörzsi kolinerg thalamikus innerváció, mind pedig a kortikothalamikus innerváció posztszinaptikus receptorai eltérőek a CGL TC és CGL interneuronok esetén. A kolinerg aktiváció $mAChR_3$ által hipopolarizálja a TC neuronokat (McCormick és Prince, 1987) és $mAChR_2$ által hiperpolarizálja a CGL interneuronokat (McCormick és Pape, 1988).

A thalamikus neuronok állapotfüggésének kiemelt szerepe lehet mind az állapotfüggő spontán kortiko-thalamo-kortikális rendszer aktivitásának finomhangolásában, mind pedig a szenzoros információ közvetítésében. Érdeemes megjegyezni, hogy olyan magasabbrendű funkciók, mint például az orientációs hangolás – amelyet korábban kizárólag a V1 neuronok sajátosságának tekintettek –, megjelenik már a vizuális útvonal köztes stációjában is, a CGL-ben (Piscopo et al., 2013). Nem meglepő tehát, hogy a vizuális rendszer állapotfüggése nem csupán kérgi területekre korlátozódik, hanem jelen van a thalamusz szintjén is. Az újabb kutatások szerint már a retinális kimenet is állapotfüggést mutat (Schroder és mtsai., 2020). Az állapotfüggő agyi aktivitás különböző aspektusai a vizuális útvonalak több szintjén megjelennek, és kiemelt szerepet játszhatnak mind a spontán aktivitások finomhangolásában, mind pedig a szenzoros információfeldolgozásban.

7.3 Az α hullámok keletkezésének thalamikus mechanizmusai

A θ hullámok szendergés állapotában regisztrálhatók humán, illetve bizonyos ragadozó emlősfajok EEG-jén (Niedermeyer, 1993b), és nem azonosak a rágcsálók exploráció során regisztrálható hippocampális θ hullámaival (Buzsaki és Moser, 2013). Eredetüket tekintve számos hasonlóságot mutatnak az α hullámokkal, ezért a két hullám generálását együtt tárgyaljuk. Fontos kiemelnünk, hogy a thalamikus α és θ aktivitás előfeltétele a HT kisülés, amelyet részletesen tárgyaltunk a 7.1 fejezetben. A HT kisülések réskapcsolatok által szinkronizálják a proximális HT neuronokat. Ezt bizonyítják a réskapcsolatok farmakológiai blokkolásának α szupresszív hatásai *in vitro* (Lőrincz és mtsai., 2008) és *in vivo* (Lőrincz és mtsai., 2009a), illetve a TC neuronok között jelen levő réskapcsolatok strukturális bizonyítékai (Hughes és mtsai., 2011). A ritmikus kisülések által az egyedi HT TC neuronok

aktivitásfokozódása képes növelni a proximális α mezőpotenciál amplitúdóját, míg a tónusos tüzelésű TC neuronok aktivitása erre képtelen (Lőrincz és mtsai., 2008). Hasonló egyedi neuronaktivitáshoz kapcsolódó proximális neuronaktivitás-változást leírtak már agykérgi (Li és mtsai., 2009; London és mtsai., 2010) és hippokampális neuronok kapcsán is (Cossart, 2014).

A muszkarinikus acetilkolinreceptorok thalamikus aktivációja α oszcillációkat eredményez *in vitro* túlélő agyszeletekben. Ezt az oszcillációt egy a thalamokortikális sejtek ~30%-ában felbukkanó, eddig ismeretlen, magas küszöbű kisüléssorozatos tüzelési mód megjelenése eredményezte (Hughes és mtsai., 2004; Lőrincz és mtsai., 2008; Lőrincz és mtsai., 2009a). A magas küszöbű kisüléssorozatokkal rendelkező thalamokortikális sejtek között elektromos szinapszisok találhatók, amelyek az egyes sejtek aktivitását szinkronizálják, így az intrinszek ritmikus tüzelés 8–13 Hz-es populációs aktivitást eredményez a lokális mezőpotenciálban. A kémiai szinaptikus transzmisszió blokkolása nem szünteti meg a lokális mezőpotenciálként regisztrált α oszcillációt, tehát az oszcilláció thalamikus generálásában a ritmikus magas küszöbű kisüléssorozatos tüzelés, illetve a sejtek egy csoportja között jelenlevő elektromos szinapszisok fontosabb szerepet játszanak. Ennek megfelelően az elektromos szinapszisok blokkolása drasztikusan képes az oszcilláció amplitúdóját csökkenteni *in vitro* és *in vivo*.

Intakt állatokon végzett kísérleteink alátámasztják a túlélő agyszeletekben tapasztaltakat, ugyanis a magas küszöbű kisüléssorozatok jelen vannak egyes thalamokortikális sejtekben (Crunelli és mtsai., 2012; Molnár és mtsai., 2021). A kolinerg rendszer, illetve a thalamokortikális neuronok közötti elektromos szinapszisok α hullámok generálásában játszott szerepét is sikerült igazolnunk. Ezek szerint a thalamusz fontos szerepet játszik a globális α oszcillációk generálásában, ugyanis a thalamikus acetilkolin receptorok, illetve az elektromos szinapszisok lokális blokkolása nemcsak a thalamikus α oszcillációt, hanem az EEG-n regisztrált α hullámokat is csökkentette (Lőrincz és mtsai., 2009a). Az α hullámok keletkezésében valószínűleg kiemelt szerepe van a thalamusznak, és az itt keletkező ritmikus aktivitás kihat a neocortex aktivitására, és elősegíti az EEG-n regisztrálható α hullámok keletkezését. Fontos megjegyeznünk, hogy a thalamikus α oszcillációk kialakulásában döntő jelentőségű az egyes thalamokortikális sejtek azon tulajdonsága, hogy képesek unortodox módon (hipopolarizált membránpotenciál mellett) ritmikus kisüléssorozatokat generálni. Ezek a ritmikus magas küszöbű kisüléssorozatok elektromos szinapszisok közvetítésével áttérjednek a környező sejtekre és ritmikus populációs aktivitásként jelentkeznek a lokális mezőpotenciálban. Az egyes sejtek kiemelt szerepét jól illusztrálja az a tény, hogy egyetlen

magas küszöbű kisüléssorozatú thalamokortikális sejt aktivitása is képes a proximális mezőpotenciált befolyásolni, amire a csak tónusosan tüzelő sejtek nem képesek (Lőrincz és mtsai., 2008).

Főemlősök elsődleges látókérgi regisztrációja során prominens lokális α generátorokat találtak mind az infra-, mind pedig a granuláris rétegekben (Bollimunta és mtsai., 2008; Bollimunta és mtsai., 2011). Az α oszcillációk kérgi rétegek szerinti eloszlása szenzoros modalitástól független és minden kérgi réteg transzmembrán áramainak szerepe lehet ezek generálásában (Ujma és mtsai., 2021). Más szerzők szerint az α oszcillációk kérgi generátorai az infragranuláris rétegekben vannak, és így elsősorban visszacsatolós folyamatokban játszanak szerepet (van Kerkoerle és mtsai., 2014). A vizuális percepcióban fontos szerepet játszó θ oszcillációk a V1 granuláris és szupragranuláris rétegeiben keletkeznek (Fries és mtsai., 2007). Összefüggés mutatható ki az infragranuláris kérgi rétegek α hullámok fázisa és a granuláris, illetve szupragranuláris rétegek θ oszcillációinak amplitúdója között (Spaak és mtsai., 2012). Humán vizsgálatok alapján fény derült arra, hogy a vizuális és a szomatoszenzoros rendszer esetében is az α hullámok a magasabbrendű kérgi területek felől a primer területek felé terjednek. A kérgi α hullámok alatt kiemelkedő szerepet játszanak mind az infragranuláris, mind a szupragranuláris neuronok ionáramai és tüzelése (Halgren és mtsai., 2019). Tehát mind agykérgi, mind pedig thalamikus α generátorok létezése igazolt. A kortiko-thalamo-kortikális hálózatok a kérgi lassú hullámokhoz hasonlóan valószínűleg az α hullámok generálásában is dinamikus interakciók révén vesznek részt. Bizonyos körülmények között mindkét struktúra létre tudja hozni az oszcillációt, de az igazán fontos kérdések a következők: miként vesznek részt a két terület neuroncsoportjai az oszcillációkban, hogyan befolyásolják egymás működését, miként hat mindkét területre a neuromoduláció, vannak-e hosszú távú plaszticitásbeli következményei az oszcillációk alatti ritmikus aktivitásoknak akkor, amikor egyik vagy másik célstruktúrára hatnak szinaptikus kapcsolataik által.

7.4 Az α hullámok lehetséges szerepei

Amellett, hogy feltárjuk az α oszcilláció keletkezésének celluláris és hálózati mechanizmusait, azt is lényeges tisztázni, hogy az α oszcillációk által modulált neuronális aktivitás milyen funkcionális jelentőséggel bír. A thalamokortikális sejtek döntő többsége ugyanis tónusos aktivitással rendelkezik α oszcilláció alatt *in vitro* és *in vivo* körülmények között egyaránt (Hughes és mtsai., 2004; Lőrincz és mtsai., 2008; Lőrincz és mtsai., 2009a). A ritmikus kisüléssorozatú aktivitás nyilvánvalóan fontos az oszcilláció generálásában és

terjedésében (Lőrincz és mtsai., 2008), viszont a thalamokortikális sejtek elsődleges szerepe az, hogy közvetítsék a szenzoros információt az agykéregnek. A ritmikus aktivitás nonlinearitása miatt elméletileg kevésbé alkalmas gyors és pontos információ-közvetítésre. Valószínű, hogy a szenzoros információ közvetítését a tónusos aktivitással rendelkező thalamokortikális sejtek végzik, és ezek az oszcillációk generálásában csak mellékszerepet játszanak, ugyanis aktivitásuk mérsékeltebben korrelál az α oszcillációkkal, mint a kisüléssorozatos tüzelésű sejteké. A tónusos tüzelésű sejtek aktivitása viszont az α oszcillációk hullámvölgye vagy -csúcsa körül csökkenést mutat, ami a kisüléssorozatos sejtek által aktivált lokális interneuronok általi gátlás révén valósul meg. Az interneuronok általi gátlás pontos időzítését azok membránpotenciálja határozza meg. Tehát az interneuronok intrinszek membrántulajdonsága képes befolyásolni a szenzoros információt közvetítő thalamokortikális neuronok aktivitásának finomhangolását. Érdekes jelenség, hogy a humán magatartáskísérletekben a különböző modalitások szenzoros percepciója egyértelmű összefüggést mutat az inger α hullám ciklusán belüli időzítésével (Busch és mtsai., 2009; Mathewson és mtsai., 2009). Kutatási eredményeink ennek a jelenségnek a valószínű celluláris mechanizmusát tárták fel. Az információt közvetítő thalamokortikális sejtek aktivitásának szabályozásában fontos szerepet játszik egy lokális gátló interneuron működése is. Az ezekre a gátlósejtekre érkező serkentést a membránpotenciáljuknak megfelelően képesek azonnali vagy késleltetett gátlásként közvetíteni a tónusosan tüzelő thalamokortikális sejteknek. A neuronok membránpotenciáljának értékét nyilván a lokális neuronhálózat aktivitásának mennyisége határozza meg, de valószínű, hogy a különböző neuromodulátor rendszerek is hatással vannak rá.

7.5 Az infralassú oszcillációk thalamikus mechanizmusai

Primér thalamikus relémagok TC neuronjainak aktivitása *in vitro* körülmények között infralassú oszcillációval jellemezhető, amely gyorsabb (α és paroxizmális oszcillációk) aktivitás ciklikus modulációjából épül fel. Az infralassú oszcilláció sejtes szubsztrátuma egy prominens hiperpolarizáció, amelyet az ATP-ből származó adenozin vált Ba^{2+} szenzitív K^+ csatornák megnyitása által. Az ATP valószínűleg thalamikus asztrocitákból származik, amelyek ritmikus infralassú Ca^{2+} oszcillációi közismertek (Parri és Crunelli, 2007). ATP alapú alacsony frekvenciájú oszcillációkat az enthorinális kéregben már leírtak a vonatkozó szakirodalomban (Cunningham és mtsai., 2006). Infralassú thalamikus oszcillációkat *in vivo* kísérletek során is megfigyeltek már.

7.6 A kolinerg rendszer szerepe az alvási lassú oszcillációban

Több tanulmány is foglalkozott már a kolinerg rendszer és az alvási oszcillációk hatásával, ugyanis a nem-specifikus muszkarinikus kolinerg receptor antagonistá szkopolamin hatására a lassú oszcilláció aktív szakaszai megrövidülnek, az oszcilláció domináns frekvenciája pedig növekedik (Steriade és mtsai., 1993c). A kolinerg rendszer főleg ébresztő szerepéről ismert (Pinto és mtsai., 2013), ezért első hallásra unortodoxnak tűnhet az, hogy az alvási oszcillációkban betöltött szerepét vizsgáljuk. Az altatott állatokban végzett kísérletek eredményei arra mutattak rá, hogy a kolinerg neuronok a lassú oszcilláció aktív fázisai alatt tüzelnek (Nunez, 1996; Détári és mtsai., 1997; Manns és mtsai., 2000b; Mena-Segovia és mtsai., 2008). Tehát a lassú hullámok aktív szakaszai alatt az agykéregben jelentős acetilkolin szabadul fel, és ennek hatására az acetilkolin aktívan részt vehet a lassú oszcilláció aktív szakaszainak generálásában. Ezek alapján nem meglepő, hogy *in vitro* túlélő agykérgi szövetszelet kísérleteinkben a kolinerg receptorok reaktivációja elégséges a lassú oszcilláció létrejöttéhez. Ebben az *in vitro* modellben a legjelentősebb szerepet a „hálózat meghajtó” neuronok töltik be, amelyek a lokális mezőpotenciálban megjelenő legelső kilengésekkor aktívvá válnak, és ezekkel összefüggő aktivitást mutatnak. Ezek alapján azt feltételezhetjük, hogy a „hálózat meghajtó” neuronok aktivitása és az általuk létrehozott szinaptikus aktivitás fontos szerepet játszik a lokális mezőpotenciál generálásában, hiszen az oszcilláció kialakulásának kezdeti szakaszában a „korai tüzelésű” neuronok mellett ők a rendszer aktív neuronjai. Az oszcilláció stabilizálódását követően a „hálózat meghajtó” neuronok mellett az IB neuronok is meghatározó szerepet játszanak az oszcilláció fenntartásában. A „korai tüzelésű” neuronok tüzelése a lassú oszcilláció minden ciklusában megelőzi az IB neuronok tüzelését, tehát feltételezhető, hogy a „korai tüzelésű” neuronok aktivitása EPSP-eket generál az IB neuronokban, amint ez *in vivo* körülmények között is előfordul (Chauvette és mtsai., 2010), ami elősegítheti kisüléssorozataik generálását.

A „hálózat meghajtó” neuronok kisüléssorozatait intrinszek mechanizmusok vezérlik, ezek a sejteket szinaptikus blokkolók jelenléte mellett is ritmikus aktivitás jellemzi. A vonatkozó szakirodalom már beszámolt olyan piramissejtekről és Martinotti sejtekről, amelyek intrinszek lassú ritmikus aktivitással jellemezhetők (Le Bon-Jego és Yuste, 2007). Az intrinszek mechanizmusok lassú oszcillációban betöltött szerepének tárgyalása kapcsán elengedhetetlen megemlíteni a TC neuronokat is, hiszen intrinszek lassú, δ , θ és α ritmikus aktivitást képesek generálni (Leresche és mtsai., 1991; Hughes és mtsai., 2002; Hughes és mtsai., 2004). Intakt állatokban, ahol a thalamusz és az agykéreg reciprok kapcsolatai kölcsönösek, ezek az intrinszek mechanizmusok finomhangolhatják a thalamokortikális rendszer működését,

azonban valamely oszcilláció generálását nem egyetlen sejttípus vagy agyterület, hanem dinamikus, térben és időben rendkívüli módon koordinált kortiko-thalamo-kortikális interakciók hozzák létre (David és mtsai., 2013; Lemieux és mtsai., 2014).

7.7 Szerotonerg neuromoduláció a szaglókéregben

A szerotonerg rendszer szenzoros információfeldolgozásban betöltött szerepe nem teljesen tisztázott. A szaglórendszer vizsgálatából nyert kutatási eredményeink azt bizonyítják, hogy a szerotonin képes a szaglókéreg aktivitását modulálni azzal, hogy annak spontán elektromos aktivitását lecsökkenti, de a szenzoros ingerekre adott válaszokat nem befolyásolja, arra utalva, hogy a szerotonin kiemelt szerepet játszhat az olfaktorikus információfeldolgozásban. A szaglókéreg két fő bemenete az afferens információt hordozó bulbus olfactoriusból eredő, illetve az intrakortikális asszociációs útvonal. Túlélő agyszeletben végzett kísérleteink alapján a szerotonin az asszociációs bemenetet lecsökkenti, de az afferens bemenetet nem. Az *in vivo* kutatási eredményeink azt mutatják, hogy a szaglókérgi neuronok spontán aktivitását drasztikusan lecsökkenti a szerotonerg stimuláció, viszont a szagingerekre adott válaszokra nincs hatással.

A tapasztalt jelenség funkcionális jelentősége abban áll, hogy a szerotonerg rendszer útvonal-specifikusan képes a szaglókérgi információfeldolgozást módosítani. Ha a beérkező szenzoros információ a detekciós küszöb körüli, idegrendszerünk mintegy előrelátja a szenzoros környezetet úgy, hogy előzetes tapasztalatok alapján megfelelteti a kérdéses ingert egy modellnek. Ez a jelenség prediktív kódolás néven ismert (Srinivasan és mtsai., 1982; Rao és Ballard, 1999; Summerfield és mtsai., 2006; Shipp, 2016; Liu és mtsai., 2021; Meirhaeghe és mtsai., 2021). A modell nyilván az intrakortikális (asszociációs) úton érhető el, a szenzoros ingerek pedig az afferens útvonalon érkeznek a kéregbe. Az említett modell megkönnyíti a szenzoros információk felismerését, ha rendelkezünk előzetes tapasztalatokkal az illető szenzoros környezetről. Ha a szenzoros környezet megváltozik, a már felépített modell nem könnyíti meg a szenzoros információfeldolgozást. Ilyen esetben az intrakortikális (asszociációs) aktivitás egy már nem megfelelő modellként működik, ami szenzoros zajként is felfogható, és ennek szerotonin általi mérséklése az afferens útvonal relatív arányát növeli. A szerotonerg neuromoduláció hatása ennek a belső modellnek a törlését eredményezheti anélkül, hogy az afferens útvonalon beérkező információ nagymértékben módosulna. Így a hatás valószínű következménye a szaglórendszerben és valószínűleg egyéb szenzoros

modalitásokban a jel/zaj arány növelése lesz. Ehhez hasonló hatásról már beszámolt a szakirodalom a noradrenalin és az acetilkolin esetében is (Hasselmo és Bower, 1992; Hasselmo és mtsai., 1997). A jelenség tehát általános, *in vivo* körülmények között viszont először sikerült bizonyítani a szerotoninerg neuromoduláció gyors és útvonal-specifikus hatását. Kutatási eredményeink alapján a szerotonin nagy valószínűséggel fontos szerepet játszik az olfaktorikus információfeldolgozásban. Ennek megfelelően diszkriminációs feladat teljesítése közben patkányok dorzális raphe neuronjai tranziens tüzelési ráta változásokat mutatnak a szaginger prezentációjakor (Ranade és Mainen 2009). Ezek szerint a szaglórendszer dinamikusan képes az őt elérő szerotonin koncentrációját modulálni. További érdekesség, hogy a szenzoros válaszok mellett a raphe magvak szerotoninerg neuronjainak aktivitása különböző „magasabbrendű” tevékenységekkel, például a jutalmazással is korrelál (Liu és mtsai., 2014).

A szaglókérgi szerotoninerg hatások mechanizmusát illetően az *in vivo* és *in vitro* eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a szerotonin képes hiperpolarizálni a szaglókéreg principális neuronjait 5-HT₁ receptorok által és depolarizálja a gyorsan tüzelő interneuronokat 5-HT₂ receptorok által, ami megegyezik a korábbi irodalmi adatokkal (Sheldon és Aghajanian, 1990, 1991; Gellman és Aghajanian, 1994; Marek és Aghajanian, 1994). Érdekes módon, az *in vitro* optogenetikai kísérletek esetén a direkt membránválaszok kevésbé voltak szembetűnők, mint az exogén 5-HT adagolás esetén. A piramis sejtek nagy részének membránpotenciálja nem változott 5-HT fotostimuláció következtében, viszont ilyenkor az áraminjekció hatására jelentkező akcióspotenciál leadásuk jelentős mértékben csökkent. Néhány interneuron esetében sikerült 5-HT₂ mediált membránpotenciál hipopolarizációt regisztrálni 5-HT fotostimuláció következtében. Az interneuronok áraminjekció által kiváltott akciós potenciál leadása bizonyos esetekben fokozódott, más esetekben csökkent. Mindezekből arra következtethetünk, hogy a kérgi szerotonerg hatások rendkívül heterogének, ezek feltárása érdekében további vizsgálatok szükségesek. A posztzinaptikus hatások mellett a szerotoninnak lehetnek sejt- és útvonal-specifikus preszinaptikus hatásai is a szaglókéregben, ahogy ezt az entorhinális kéregben és a hippocampusban kimutatták (Schmitz és mtsai., 1999; Winterer és mtsai., 2011), de ezek feltárására további kísérletek szükségesek.

7.8 A laterális hipotalamusz és a raphe magok közötti interakció szerepe az ébrenlétben

Igazoltuk, hogy a laterális hipotalamusz GABAerg axonjainak lokális fotostimulációja az agytörzsi raphe magban ébrenlétet eredményez GABA helyi felszabadulásán keresztül, ami gátolja a lokális GABAerg neuronok aktivitását, de közvetve –valószínűleg diszinhibíció által– aktivál egyéb DR neuronokat. Vírusos nyomkövetés és *in vitro* ChR2-asszisztált hálózattérképezés segítségével kimutattuk, hogy az LH GABAerg neuronok egy alcsoportja monoszintaptikus kapcsolatokat alakít ki DR neuronokkal GABA_AR-mediált gátló hatást gyakorolva a DR GABAerg neuronokra mind *in vitro*, mind pedig *in vivo* kísérleteinkben. A DR projektáló LH GABAerg neuronok pontos neurokémiai identitása viszont tisztázatlan maradt. Tekintettel az LH gátló neuronjai között található számos alpopulációra (Mickelsen és mtsai., 2017), ez nem egyszerű feladat.

Fontos megjegyezni, hogy az azonosított DR GABAerg neuronok aktivitása erősen modulálódik a NREM alvás-ébrenlét átmenetek során, és az LH GABA-DR hálózat optogenetikai aktiválása elősegíti a gyors ébredést LA alatt, de nem PA alatt. Ez az eredmény összhangban van azokkal a korábbi tanulmányokkal, amelyekben az LH GABAerg rostjainak optogenetikai stimulációja a mediális szeptumban, az LC-ben, a retikuláris talamuszmagban és a ventrolaterális preoptikus területen ébredést eredményezett (Herrera és mtsai., 2016; Venner és mtsai., 2016; Venner és mtsai., 2019).

Kutatási eredményeink azt mutatják, hogy az LH GABAerg neuronok közvetlenül gátolják a DR GABAerg neuronokat, és ez valószínűleg a különböző DR neuronok gátlásának megszüntetését eredményezi. A diszinhibíció pontos célpontjainak feltárása további vizsgálatokra vár, amelyek feltételezhető eredményeit nehéz megjósolni, tekintettel a raphe magok rendkívüli neurokémiai és fiziológiai sokféleségére (Domonkos és mtsai., 2016; Szonyi és mtsai., 2016; Sos és mtsai., 2017). Az 5-HT neuronok aktivitásának fázisos növekedése gyorsan és kiemelkedően befolyásolhatja az agykérgi aktivitást (Lottem és mtsai., 2016), és így agyi állapotváltozásokhoz vezethet. A közelmúltban azonban kimutatták, hogy a DR 5-HT neuronok szelektív tónusos aktiválása elősegíti az alvást, míg a burst stimuláció ébrenlétet okoz (Oikonomou és mtsai., 2019). A jelen eredmények fényében lehetséges, hogy a DR neuronok fázisos aktivitásváltozásai és azok következményei agykérgi szinten legalább részben az LH GABAerg neuronok aktivációjából származnak az alvás-ébrenlét átmenetek során.

Együttesen az energiaegyensúlyban és az AÉC szabályzásában szerepet játszó LH képes befolyásolni a magasabb agyi funkciók szabályozását, beleértve a jutalmazást, az impulzivitást,

a hangulatot és az érzékszervi kódolást irányító DR neuronális aktivitását. Tehát az anyagcsere-állapotok és az agyi állapotok közötti kölcsönhatások lehetséges útja a két agyterület közötti kölcsönhatás.

7.9 Az absence epilepsziás rohamok keletkezésének intrinszek és szinaptikus mechanizmusai a thalamuszban

Éber GAERS patkányok TC, nRT és S1 neuronjainak regisztrációja, illetve lokális T-típusú Ca^{2+} csatornák blokkolása során kiderült, hogy a TC neuronok intrinszek kisüléssorozatainak az iktogenezisben játszott szerepe kevésbé jelentős, mint azt az *in vitro* kísérletek alapján feltételezték. Az nRT és a kérgi iniciációs hálózat T-típusú Ca^{2+} csatornái viszont kiemelt szerepet játszanak az iktogenezisben, mivel blokkolásuk a rohamok szupressziójához vezet. Meglepő eredmény a TC neuronok számottevő iktális aktivitáscsökkenése, illetve a T-típusú Ca^{2+} csatorna mediált kisüléssorozatok alacsony iktális gyakorisága. Kutatási eredményeink szerint az absence rohamok az elsődleges szomatoszenzoros kéreg periorális zónájából indulnak, és innen terjednek át a szomatoszenzoros relémagok TC neuronjaira, illetve az nRT GABAerg neuronjaira. A vonatkozó szakirodalmi adatok szerint a kérgi iniciációs hálózat neuronjait fokozott aktivitás jellemzi (Polack és mtsai., 2007), viszont ennek oka kevésbé ismert. A szimultán regisztrált kérgi és TC neuron aktivitások analíziséből fény derült arra, hogy a kérgi neuronok aktivitása tónusos aktivitást vált ki a TC neuronokban. Ennek oka valószínűleg az ébrenlét alatti hipopolarizált TC membránpotenciál (Hirsch és mtsai., 1983; Molnár és mtsai., 2021), ugyanis a T-típusú Ca^{2+} csatornák -65 mV-os membránpotenciál értékek mellett inaktíválnak (REF). A kérgi aktivitás során jelentős nRT aktivitásnövekedés is megfigyelhető, viszont az nRT aktivitásfokozódás szinte kizárólag kérgi bemenet által valósul meg; a szimultán regisztrált TC-nRT neuronok aktivitásának elemzése során a TC neuron aktivitás nem növeli számottevően az nRT neuronok aktivitását, ami valószínűleg a visszafogott TC-nRT szinaptikus hatékonyság következménye. A számottevő iktális nRT aktivitás viszont nem vált ki prominens kisüléssorozatos TC neuron aktivitást. Ezt valószínűleg egyrészt az ébrenlét alatti hipopolarizált TC neuron membránpotenciál, másrészt az extraszinaptikus GABA receptorok általi söntölő hatás okozza (Cope és mtsai., 2005; Cope és mtsai., 2009). A TC neuronok iktális aktivitása a nem túl számottevő kisüléssorozatos tüzelés ellenére jelentős ritmicitást mutat, amely elengedhetetlen a rohamok alatti thalamokortikális hiperszinkronitáshoz. Tehát a kérgi eredetű serkentés eredményezi az nRT neuronok aktivitásnövekedését és ritmicitását, amely erős gátló

dc_1964_21

hatást gyakorol a TC neuronokra. A gátlás alól felszabadulva a TC neuronok szinkron ritmikus tónusos tüzelése tartja fenn az iktális időszakban a thalamokortikális hiperszinkronitást.

8. Irodalom

8.1 Az értekezés alapjául szolgáló jelölt saját közlemények jegyzéke

8.1.1 Eredeti közlemények

1. **Lőrincz ML**, Crunelli V, Hughes SW (2008) Cellular dynamics of cholinergically induced alpha (8-13 Hz) rhythms in sensory thalamic nuclei in vitro. *The Journal of Neuroscience* 28:660-671.
2. **Lőrincz ML**, Geall F, Bao Y, Crunelli V, Hughes SW (2009a) ATP-dependent infra-slow (<0.1 Hz) oscillations in thalamic networks. *PloS one* 4:e4447.
3. **Lőrincz ML**, Kekesi KA, Juhasz G, Crunelli V, Hughes SW (2009b) Temporal framing of thalamic relay-mode firing by phasic inhibition during the alpha rhythm. *Neuron* 63:683-696.
4. Hughes SW, **Lőrincz ML**, Blethyn K, Kekesi KA, Juhasz G, Turmaine M, Parnavelas JG, Crunelli V (2011) Thalamic Gap Junctions Control Local Neuronal Synchrony and Influence Macroscopic Oscillation Amplitude during EEG Alpha Rhythms. *Frontiers in psychology* 2:193.
5. **Lőrincz ML**, Gunner D, Bao Y, Connelly WM, Isaac JT, Hughes SW, Crunelli V (2015) A distinct class of slow (~0.2-2 Hz) intrinsically bursting layer 5 pyramidal neurons determines UP/DOWN state dynamics in the neocortex. *The Journal of Neuroscience* 35:5442-5458.
6. Lottem E*, **Lőrincz ML***, Mainen ZF (2016) Optogenetic Activation of Dorsal Raphe Serotonin Neurons Rapidly Inhibits Spontaneous But Not Odor-Evoked Activity in Olfactory Cortex. *The Journal of Neuroscience* 36:7-18.
7. Molnár B, Sere P, Bordé S, Koos K, Zsigri N, Horváth P, **Lőrincz ML** (2021) Cell Type-Specific Arousal-Dependent Modulation of Thalamic Activity in the Lateral Geniculate Nucleus. *Cerebral cortex communications* 2:tgab020.
8. Sere P, Zsigri N, Raffai T, Furdan S, Gyori F, Crunelli V, **Lőrincz ML** (2021) Activity of the Lateral Hypothalamus during Genetically Determined Absence Seizures. *International journal of molecular sciences* 22.

9. Gazea M, Furdan S, Sere P, Oesch L, Molnar B, Di Giovanni G, Fenno LE, Ramakrishnan C, Mattis J, Deisseroth K, Dymecki SM, Adamantidis AR*, **Lőrincz ML*** (2021) Reciprocal Lateral Hypothalamic and Raphe GABAergic Projections Promote Wakefulness. *The Journal of Neuroscience* 41:4840-4849.
10. Iacone Y, Morais TP, David F, Delicata F, Sandle J, Raffai T, Parri HR, Weisser JJ, Bundgaard C, Klewe IV, Tamas G, Thomsen MS, Crunelli V*, **Lőrincz ML*** (2021) Systemic administration of ivabradine, a hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel inhibitor, blocks spontaneous absence seizures. *Epilepsia* 62:1729-1743.
11. Piszár I, **Lőrincz ML** (2022) Differential serotonergic modulation of principal neurons and interneurons in the anterior piriform cortex. *Frontiers in Neuroanatomy (közlésre elfogadva)*

*egyenlő hozzájárulás

8.1.1 Összefoglaló közlemények, könyvfejezetek a témából

1. Hughes SW, **Lőrincz ML**, Parri HR, Crunelli V (2011) Infralow (<0.1 Hz) oscillations in thalamic relay nuclei basic mechanisms and significance to health and disease states. *Progress in brain research* 193:145-162.
2. Crunelli V, David F, **Lőrincz ML**, Hughes SW (2015) The thalamocortical network as a single slow wave-generating unit. *Current opinion in neurobiology* 31:72-80.
3. **Lőrincz ML**, Adamantidis AR (2017) Monoaminergic control of brain states and sensory processing: Existing knowledge and recent insights obtained with optogenetics. *Progress in neurobiology* 151:237-253.
4. Crunelli V*, **Lőrincz ML***, Connelly WM*, David F, Hughes SW, Lambert RC, Leresche N, Errington AC (2018) Dual function of thalamic low-vigilance state oscillations: rhythm-regulation and plasticity. *Nature reviews Neuroscience* 19:107-118.
5. Crunelli V*, **Lőrincz ML***, McCafferty C, Lambert RC, Leresche N, Di Giovanni G, David F (2020) Clinical and experimental insight into pathophysiology, comorbidity and therapy of absence seizures. *Brain : a journal of neurology* 143:2341-2368.

6. **Lőrincz ML**, Crunelli V, David F (2022) Excitation-inhibition balance in absence seizure ictogenesis. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*, 5-ik kiadás. Noebels J, Avoli M, Rogawski MA, Vezzani A, Delgado-Escueta A (Szerk). Oxford University press (*közlésre elfogadva*).

*egyenlő hozzájárulás

8.2. Az értekezés általános irodalomjegyzéke

- Aladjalova NA (1957) Infra-slow rhythmic oscillations of the steady potential of the cerebral cortex.
- Allers KA, Sharp T (2003) Neurochemical and anatomical identification of fast- and slow-firing neurones in the rat dorsal raphe nucleus using juxtacellular labelling methods in vivo. *Neuroscience* 122:193-204.
- Arroyo S, Bennett C, Hestrin S (2018) Correlation of Synaptic Inputs in the Visual Cortex of Awake, Behaving Mice. *Neuron* 99:1289-1301 e1282.
- Aydin C, Couto J, Giugliano M, Farrow K, Bonin V (2018) Locomotion modulates specific functional cell types in the mouse visual thalamus. *Nature communications* 9:4882.
- Bal T, von Krosigk M, McCormick DA (1995a) Synaptic and membrane mechanisms underlying synchronized oscillations in the ferret lateral geniculate nucleus in vitro. *The Journal of physiology* 483 (Pt 3):641-663.
- Bal T, von Krosigk M, McCormick DA (1995b) Role of the ferret perigeniculate nucleus in the generation of synchronized oscillations in vitro. *The Journal of physiology* 483 (Pt 3):665-685.
- Benzoni P, Bertoli G, Giannetti F, Piantoni C, Milanesi R, Pecchiari M, Barbuti A, Baruscotti M, Bucchi A (2021) The funny current: Even funnier than 40 years ago. Unconventional expression and roles of HCN/f channels all over the body. *Progress in biophysics and molecular biology*.
- Berger H (1929) Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* 87:527-570.

dc_1964_21

- Bickford ME (2015) Thalamic Circuit Diversity: Modulation of the Driver/Modulator Framework. *Frontiers in neural circuits* 9:86.
- Blethyn KL, Hughes Sw Fau - Tóth TI, Tóth Ti Fau - Cope DW, Cope Dw Fau - Crunelli V, Crunelli V (2006) Neuronal basis of the slow (<1 Hz) oscillation in neurons of the nucleus reticularis thalami in vitro.
- Bollimunta A, Chen Y, Schroeder CE, Ding M (2008) Neuronal mechanisms of cortical alpha oscillations in awake-behaving macaques. *The Journal of Neuroscience* 8:9976-9988.
- Bollimunta A, Mo J, Schroeder CE, Ding M (2011) Neuronal mechanisms and attentional modulation of corticothalamic alpha oscillations. *The Journal of Neuroscience* 31:4935-4943.
- Busch NA, Dubois J, VanRullen R (2009) The phase of ongoing EEG oscillations predicts visual perception. *The Journal of Neuroscience* 29:7869-7876.
- Buzsaki G (1991) The thalamic clock: emergent network properties. *Neuroscience* 41:351-364.
- Buzsaki G, Moser EI (2013) Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience* 16:130-138.
- Chatila M, Milleret C Fau - Rougeul A, Rougeul A Fau - Buser P, Buser P (1993) Alpha rhythm in the cat thalamus.
- Chauvette S, Volgushev M, Timofeev I (2010) Origin of active states in local neocortical networks during slow sleep oscillation. *Cerebral cortex* 20:2660-2674.
- Chipaux M, Charpier S, Polack PO (2011) Chloride-mediated inhibition of the ictogenic neurones initiating genetically-determined absence seizures. *Neuroscience* 192:642-651.
- Cohen JY, Amoroso MW, Uchida N (2015) Serotonergic neurons signal reward and punishment on multiple timescales. *eLife* 4.
- Cools R, Roberts AC, Robbins TW (2008) Serotonergic regulation of emotional and behavioural control processes. *Trends in cognitive sciences* 12:31-40.
- Cope DW, Hughes SW, Crunelli V (2005) GABAA receptor-mediated tonic inhibition in thalamic neurons. *The Journal of Neuroscience* 25:11553-11563.

dc_1964_21

- Cope DW, Di Giovanni G, Fyson SJ, Orban G, Errington AC, Lőrincz ML, Gould TM, Carter DA, Crunelli V (2009) Enhanced tonic GABAA inhibition in typical absence epilepsy. *Nature medicine* 15:1392-1398.
- Cossart R (2014) Operational hub cells: a morpho-physiologically diverse class of GABAergic neurons united by a common function. *Current opinion in neurobiology* 26:51-56.
- Cossart R, Aronov D, Yuste R (2003) Attractor dynamics of network UP states in the neocortex. *Nature* 423:283-288.
- Crunelli V, Lőrincz ML, Errington AC, Hughes SW (2012) Activity of cortical and thalamic neurons during the slow (<1 Hz) rhythm in the mouse in vivo. *Pflügers Archiv : European journal of physiology* 463:73-88.
- Crunelli V, Lőrincz ML, McCafferty C, Lambert RC, Leresche N, Di Giovanni G, David F (2020) Clinical and experimental insight into pathophysiology, comorbidity and therapy of absence seizures. *Brain : a journal of neurology* 143:2341-2368.
- Crunelli V, Lőrincz ML, Connelly WM, David F, Hughes SW, Lambert RC, Leresche N, Errington AC (2018) Dual function of thalamic low-vigilance state oscillations: rhythm-regulation and plasticity. *Nature reviews Neuroscience* 19:107-118.
- Cunningham MO, Pervouchine DD, Racca C, Kopell NJ, Davies CH, Jones RS, Traub RD, Whittington MA (2006) Neuronal metabolism governs cortical network response state. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103:5597-5601.
- Danober L, Deransart C, Depaulis A, Vergnes M, Marescaux C (1998) Pathophysiological mechanisms of genetic absence epilepsy in the rat. *Progress in neurobiology* 55:27-57.
- Danos P, Guich S, Fau - Abel L, Abel L Fau - Buchsbaum MS, Buchsbaum MS (2001) EEG alpha rhythm and glucose metabolic rate in the thalamus in schizophrenia.
- David F, Schmiedt Jt Fau - Taylor HL, Taylor Hl Fau - Orban G, Orban G Fau - Di Giovanni G, Di Giovanni G Fau - Uebele VN, Uebele Vn Fau - Renger JJ, Renger Jj Fau - Lambert RC, Lambert Rc Fau - Leresche N, Leresche N Fau - Crunelli V, Crunelli V (2013) Essential thalamic contribution to slow waves of natural sleep.
- Davis M, Strachan DI, Kass E (1980) Excitatory and inhibitory effects of serotonin on sensorimotor reactivity measured with acoustic startle. *Science* 209:521-523.

dc_1964_21

- Dayan P, Huys QJ (2009) Serotonin in affective control. *Annual review of Neuroscience* 32:95-126.
- De Lima AD, Singer W (1987) The brainstem projection to the lateral geniculate nucleus in the cat: identification of cholinergic and monoaminergic elements. *The Journal of comparative neurology* 259:92-121.
- De Olmos J, Heimer L (1980) Double and triple labeling of neurons with fluorescent substances; the study of collateral pathways in the ascending raphe system. *Neuroscience letters* 19:7-12.
- Deemyad T, Metzen MG, Pan Y, Chacron MJ (2013) Serotonin selectively enhances perception and sensory neural responses to stimuli generated by same-sex conspecifics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110:19609-19614.
- Deschenes M, Paradis M, Roy JP, Steriade M (1984) Electrophysiology of neurons of lateral thalamic nuclei in cat: resting properties and burst discharges. *Journal of neurophysiology* 51:1196-1219.
- Détári L, Rasmusson Dd Fau - Semba K, Semba K (1997) Phasic relationship between the activity of basal forebrain neurons and cortical EEG in urethane-anesthetized rat. *Brain research reviews*.
- Diekelmann S, Born J (2010) The memory function of sleep. *Nature reviews Neuroscience* 11:114-126.
- Domich L, Oakson G, Steriade M (1986) Thalamic burst patterns in the naturally sleeping cat: a comparison between cortically projecting and reticularis neurones. *The Journal of physiology* 379:429-449.
- Domonkos A, Nikitidou Ledri L, Laszlovszky T, Cserep C, Borhegyi Z, Papp E, Nyiri G, Freund TF, Varga V (2016) Divergent in vivo activity of non-serotonergic and serotonergic VGlut3-neurons in the median raphe region. *The Journal of physiology* 594:3775-3790.
- Dugue GP, Lőrincz ML, Lottem E, Audero E, Matias S, Correia PA, Lena C, Mainen ZF (2014) Optogenetic recruitment of dorsal raphe serotonergic neurons acutely decreases mechanosensory responsivity in behaving mice. *PloS one* 9:e105941.

- Durand S, Iyer R, Mizuseki K, de Vries S, Mihalas S, Reid RC (2016) A Comparison of Visual Response Properties in the Lateral Geniculate Nucleus and Primary Visual Cortex of Awake and Anesthetized Mice. *The Journal of Neuroscience* 36:12144-12156.
- Einstein MC, Polack PO, Tran DT, Golshani P (2017) Visually Evoked 3-5 Hz Membrane Potential Oscillations Reduce the Responsiveness of Visual Cortex Neurons in Awake Behaving Mice. *The Journal of Neuroscience* 37:5084-5098.
- Eisensehr I, Parrino L Fau - Noachtar S, Noachtar S Fau - Smerieri A, Smerieri A Fau - Terzano MG, Terzano MG (2001) Sleep in Lennox-Gastaut syndrome: the role of the cyclic alternating pattern (CAP) in the gate control of clinical seizures and generalized polyspikes.
- Fanselow EE, Connors BW (2010) The roles of somatostatin-expressing (GIN) and fast-spiking inhibitory interneurons in UP-DOWN states of mouse neocortex. *Journal of neurophysiology* 104:596-606.
- Feige B, Scheffler K Fau - Esposito F, Esposito F Fau - Di Salle F, Di Salle F Fau - Hennig J, Hennig J Fau - Seifritz E, Seifritz E (2005) Cortical and subcortical correlates of electroencephalographic alpha rhythm modulation.
- Filippov IV, Frolov VA (2005) Very slow potentials in the lateral geniculate complex and primary visual cortex during different illumination changes in freely moving rats.
- Filippov IV, Williams Wc Fau - Krebs AA, Krebs Aa Fau - Pugachev KS, Pugachev KS (2007) Sound-induced changes of infraslow brain potential fluctuations in the medial geniculate nucleus and primary auditory cortex in anaesthetized rats.
- Fonseca MS, Murakami M, Mainen ZF (2015) Activation of dorsal raphe serotonergic neurons promotes waiting but is not reinforcing. *Current biology : CB* 25:306-315.
- Fox MD, Snyder Az Fau - Vincent JL, Vincent Jl Fau - Raichle ME, Raichle ME (2007) Intrinsic fluctuations within cortical systems account for intertrial variability in human behavior.
- Friedlander MJ, Lin CS, Stanford LR, Sherman SM (1981) Morphology of functionally identified neurons in lateral geniculate nucleus of the cat. *Journal of neurophysiology* 46:80-129.
- Fries P, Nikolic D, Singer W (2007) The gamma cycle. *Trends in Neurosciences* 30:309-316.

dc_1964_21

- Gellman RL, Aghajanian GK (1994) Serotonin₂ receptor-mediated excitation of interneurons in piriform cortex: antagonism by atypical antipsychotic drugs. *Neuroscience* 58:515-525.
- Goldman RI, Stern Jm Fau - Engel J, Jr., Engel J Jr Fau - Cohen MS, Cohen MS (2002) Simultaneous EEG and fMRI of the alpha rhythm.
- Golshani P, Liu XB, Jones EG (2001) Differences in quantal amplitude reflect GluR4- subunit number at corticothalamic synapses on two populations of thalamic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98:4172-4177.
- Haberly LB (1985) Neuronal circuitry in olfactory cortex: anatomy and functional implications. *Chemical senses* 10:219-238.
- Haberly LB (1998) Olfactory cortex. In: *The synaptic organization of the brain* (Shepherd GM, ed). New York: Oxford UP.
- Haberly LB (2001) Parallel-distributed processing in olfactory cortex: new insights from morphological and physiological analysis of neuronal circuitry. *Chemical senses* 26:551-576.
- Haegens S, Nacher V, Luna R, Romo R, Jensen O (2011) alpha-Oscillations in the monkey sensorimotor network influence discrimination performance by rhythmical inhibition of neuronal spiking. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108:19377-19382.
- Haider B, Schulz DP, Hausser M, Carandini M (2016) Millisecond Coupling of Local Field Potentials to Synaptic Currents in the Awake Visual Cortex. *Neuron* 90:35-42.
- Halgren M, Ulbert I, Bastuji H, Fabo D, Eross L, Rey M, Devinsky O, Doyle WK, Mak-McCully R, Halgren E, Wittner L, Chauvel P, Heit G, Eskandar E, Mandell A, Cash SS (2019) The generation and propagation of the human alpha rhythm. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116:23772-23782.
- Hassani OK, Lee MG, Henny P, Jones BE (2009) Discharge profiles of identified GABAergic in comparison to cholinergic and putative glutamatergic basal forebrain neurons across the sleep-wake cycle. *The Journal of Neuroscience* 29:11828-11840.
- Hasselmo ME, Bower JM (1992) Cholinergic suppression specific to intrinsic not afferent fiber synapses in rat piriform (olfactory) cortex. *Journal of neurophysiology* 67:1222-1229.

- Hasselmo ME, Linster C, Patil M, Ma D, Cekic M (1997) Noradrenergic suppression of synaptic transmission may influence cortical signal-to-noise ratio. *Journal of neurophysiology* 77:3326-3339.
- Herrera CG, Cadavieco MC, Jago S, Ponomarenko A, Korotkova T, Adamantidis A (2016) Hypothalamic feedforward inhibition of thalamocortical network controls arousal and consciousness. *Nature Neuroscience* 19:290-298.
- Hirsch JC, Fourment A, Marc ME (1983) Sleep-related variations of membrane potential in the lateral geniculate body relay neurons of the cat. *Brain research* 259:308-312.
- Horne JA (1988) *Why we sleep*. Oxford: Oxford University Press.
- Hughes SW, Cope DW, Blethyn KL, Crunelli V (2002) Cellular mechanisms of the slow (<1 Hz) oscillation in thalamocortical neurons in vitro. *Neuron* 33:947-958.
- Hughes SW, Lőrincz M, Cope DW, Blethyn KL, Kekesi KA, Parri HR, Juhász G, Crunelli V (2004) Synchronized oscillations at alpha and theta frequencies in the lateral geniculate nucleus. *Neuron* 42:253-268.
- Hughes SW, Lőrincz ML, Blethyn K, Kekesi KA, Juhász G, Turmaine M, Parnavelas JG, Crunelli V (2011) Thalamic Gap Junctions Control Local Neuronal Synchrony and Influence Macroscopic Oscillation Amplitude during EEG Alpha Rhythms. *Frontiers in psychology* 2:193.
- Iacone Y, Morais TP, David F, Delicata F, Sandle J, Raffai T, Parri HR, Weisser JJ, Bundgaard C, Klewe IV, Tamas G, Thomsen MS, Crunelli V, Lőrincz ML (2021) Systemic administration of ivabradine, a hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel inhibitor, blocks spontaneous absence seizures. *Epilepsia* 62:1729-1743.
- Isaacson JS (2010) Odor representations in mammalian cortical circuits. *Current opinion in neurobiology* 20:328-331.
- Jacobs BL, Azmitia EC (1992) Structure and function of the brain serotonin system. *Physiological reviews* 72:165-229.
- Jahnsen H, Llinas R (1984) Electrophysiological properties of guinea-pig thalamic neurones: an in vitro study. *The Journal of physiology* 349:205-226.
- Jensen O, Bonnefond M, VanRullen R (2012) An oscillatory mechanism for prioritizing salient unattended stimuli. *Trends in cognitive sciences* 16:200-206.

dc_1964_21

- Klimesch W (2012) alpha-band oscillations, attention, and controlled access to stored information. *Trends in cognitive sciences* 16:606-617.
- Klimesch W, Sauseng P, Hanslmayr S (2007) EEG alpha oscillations: the inhibition-timing hypothesis. *Brain research reviews* 53:63-88.
- Lakatos P, Karmos G, Mehta AD, Ulbert I, Schroeder CE (2008) Entrainment of neuronal oscillations as a mechanism of attentional selection. *Science* 320:110-113.
- Le Bon-Jego M, Yuste R (2007) Persistently active, pacemaker-like neurons in neocortex. *Frontiers in Neuroscience* 1:123-129.
- Lecci S, Fernandez LA-O, Weber FA-O, Cardis R, Chatton JA-O, Born J, Lüthi A (2017) Coordinated infraslow neural and cardiac oscillations mark fragility and offline periods in mammalian sleep.
- Lee MG, Hassani OK, Alonso A, Jones BE (2005) Cholinergic basal forebrain neurons burst with theta during waking and paradoxical sleep. *The Journal of Neuroscience* 25:4365-4369.
- Lemieux M, Chen JY, Lonjers P, Bazhenov M, Timofeev I (2014) The impact of cortical deafferentation on the neocortical slow oscillation. *The Journal of Neuroscience* 34:5689-5703.
- Leopold DA, Murayama Y, Logothetis NK, Logothetis NK (2003) Very slow activity fluctuations in monkey visual cortex: implications for functional brain imaging.
- Leresche N, Lightowler S, Soltesz I, Jassik-Gerschenfeld D, Crunelli V (1991) Low-frequency oscillatory activities intrinsic to rat and cat thalamocortical cells. *The Journal of physiology* 441:155-174.
- Li CY, Poo MM, Dan Y (2009) Burst spiking of a single cortical neuron modifies global brain state. *Science* 324:643-646.
- Liu K, Sibille J, Dragoi G (2021) Orientation selectivity enhances context generalization and generative predictive coding in the hippocampus. *Neuron*.
- Liu S, Aungst JL, Puche AC, Shipley MT (2012) Serotonin modulates the population activity profile of olfactory bulb external tufted cells. *Journal of neurophysiology* 107:473-483.

dc_1964_21

- Liu Z, Zhou J, Li Y, Hu F, Lu Y, Ma M, Feng Q, Zhang JE, Wang D, Zeng J, Bao J, Kim JY, Chen ZF, El Mestikawy S, Luo M (2014) Dorsal raphe neurons signal reward through 5-HT and glutamate. *Neuron* 81:1360-1374.
- Llinas R, Jahnsen H (1982) Electrophysiology of mammalian thalamic neurones in vitro. *Nature* 297:406-408.
- London M, Roth A, Beeren L, Hausser M, Latham PE (2010) Sensitivity to perturbations in vivo implies high noise and suggests rate coding in cortex. *Nature* 466:123-127.
- Lopes da Silva FH, van Lierop TH, Schrijer CF, van Leeuwen WS (1973) Organization of thalamic and cortical alpha rhythms: spectra and coherences. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 35:627-639.
- Lopes da Silva FH, Vos JE, Mooibroek J, Van Rotterdam A (1980) Relative contributions of intracortical and thalamo-cortical processes in the generation of alpha rhythms, revealed by partial coherence analysis. *Electroencephalography and clinical neurophysiology* 50:449-456.
- Lőrincz ML, Crunelli V, Hughes SW (2008) Cellular dynamics of cholinergically induced alpha (8-13 Hz) rhythms in sensory thalamic nuclei in vitro. *The Journal of Neuroscience* 28:660-671.
- Lőrincz ML, Kekesi KA, Juhasz G, Crunelli V, Hughes SW (2009a) Temporal framing of thalamic relay-mode firing by phasic inhibition during the alpha rhythm. *Neuron* 63:683-696.
- Lőrincz ML, Geall F, Bao Y, Crunelli V, Hughes SW (2009b) ATP-dependent infra-slow (<0.1 Hz) oscillations in thalamic networks. *PloS one* 4:e4447.
- Lőrincz ML, Gunner D, Bao Y, Connelly WM, Isaac JT, Hughes SW, Crunelli V (2015) A distinct class of slow (~0.2-2 Hz) intrinsically bursting layer 5 pyramidal neurons determines UP/DOWN state dynamics in the neocortex. *The Journal of Neuroscience* 35:5442-5458.
- Lottem E, Lőrincz ML, Mainen ZF (2016) Optogenetic Activation of Dorsal Raphe Serotonin Neurons Rapidly Inhibits Spontaneous But Not Odor-Evoked Activity in Olfactory Cortex. *The Journal of Neuroscience* 36:7-18.
- Lukashevich OB, Sazonova OB (1996) The effect of lesions of different parts of the optic thalamus on the nature of the bioelectrical activity of the human brain.

- Manning JP, Richards DA, Leresche N, Crunelli V, Bowery NG (2004) Cortical-area specific block of genetically determined absence seizures by ethosuximide. *Neuroscience* 123:5-9.
- Manns ID, Alonso A, Jones BE (2000a) Discharge properties of juxtacellularly labeled and immunohistochemically identified cholinergic basal forebrain neurons recorded in association with the electroencephalogram in anesthetized rats. *The Journal of Neuroscience* 20:1505-1518.
- Manns ID, Alonso A, Jones BE, Jones BE (2000b) Discharge properties of juxtacellularly labeled and immunohistochemically identified cholinergic basal forebrain neurons recorded in association with the electroencephalogram in anesthetized rats. *JNeurosci.*
- Marek GJ, Aghajanian GK (1994) Excitation of interneurons in piriform cortex by 5-hydroxytryptamine: blockade by MDL 100,907, a highly selective 5-HT_{2A} receptor antagonist. *European journal of pharmacology* 259:137-141.
- Marrosu F, Portas C, Mascia MS, Casu MA, Fa M, Giagheddu M, Imperato A, Gessa GL (1995) Microdialysis measurement of cortical and hippocampal acetylcholine release during sleep-wake cycle in freely moving cats. *Brain research* 671:329-332.
- Mathewson KE, Gratton G, Fabiani M, Beck DM, Ro T (2009) To see or not to see: prestimulus alpha phase predicts visual awareness. *The Journal of Neuroscience* 29:2725-2732.
- McCormick DA, Prince DA (1987) Actions of acetylcholine in the guinea-pig and cat medial and lateral geniculate nuclei, in vitro. *The Journal of physiology* 392:147-165.
- McCormick DA, Pape HC (1988) Acetylcholine inhibits identified interneurons in the cat lateral geniculate nucleus. *Nature* 334:246-248.
- McCormick DA, Bal T (1997) Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annual review of Neuroscience* 20:185-215.
- McCormick DA, Contreras D (2001) On the cellular and network bases of epileptic seizures. *Annual review of physiology* 63:815-846.
- McGinley MJ, Vinck M, Reimer J, Batista-Brito R, Zagha E, Cadwell CR, Tolia AS, Cardin JA, McCormick DA (2015) Waking State: Rapid Variations Modulate Neural and Behavioral Responses. *Neuron* 87:1143-1161.

dc_1964_21

- McLean JH, Shipley MT (1987) Serotonergic Afferents to the Rat Olfactory-Bulb .1. Origins and Laminar Specificity of Serotonergic Inputs in the Adult-Rat. *Journal of Neuroscience* 7:3016-3028.
- Meirhaeghe N, Sohn H, Jazayeri M (2021) A precise and adaptive neural mechanism for predictive temporal processing in the frontal cortex. *Neuron* 109:2995-3011 e2995.
- Mena-Segovia J, Sims HM, Magill PJ, Bolam JP (2008) Cholinergic brainstem neurons modulate cortical gamma activity during slow oscillations. *The Journal of physiology* 586:2947-2960.
- Metherate R, Cox Cl Fau - Ashe JH, Ashe JH (1990) Cellular bases of neocortical activation: modulation of neural oscillations by the nucleus basalis and endogenous acetylcholine.
- Meyer J, Maheshwari A, Noebels J, Smirnakis S (2018) Asynchronous suppression of visual cortex during absence seizures in stargazer mice. *Nature communications* 9:1938.
- Mickelsen LE, Kolling FWt, Chimileski BR, Fujita A, Norris C, Chen K, Nelson CE, Jackson AC (2017) Neurochemical Heterogeneity Among Lateral Hypothalamic Hypocretin/Orexin and Melanin-Concentrating Hormone Neurons Identified Through Single-Cell Gene Expression Analysis. *eNeuro* 4.
- Molnár B, Sere P, Bordé S, Koos K, Zsigri N, Horváth P, Lőrincz ML (2021) Cell Type-Specific Arousal-Dependent Modulation of Thalamic Activity in the Lateral Geniculate Nucleus. *Cerebral cortex communications* 2:tgab020.
- Monto S, Palva S Fau - Voipio J, Voipio J Fau - Palva JM, Palva JM (2008) Very slow EEG fluctuations predict the dynamics of stimulus detection and oscillation amplitudes in humans.
- Mulholland TB (1965) Occurrence of the electroencephalographic alpha rhythm with eyes open. *Nature* 206:746.
- Niedermeyer E (1993a) *The normal EEG of the waking adult*. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Niedermeyer E (1993b) Sleep and EEG. In: *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields* (Niedermeyer EaLdS, F., ed), pp 153–191. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Niell CM, Stryker MP (2010) Modulation of visual responses by behavioral state in mouse visual cortex. *Neuron* 65:472-479.

dc_1964_21

- Nunez A (1996) Unit activity of rat basal forebrain neurons: relationship to cortical activity. *Neuroscience* 72:757-766.
- Oesch LT, Adamantidis AR (2021) Sleep and Metabolism: Implication of Lateral Hypothalamic Neurons. *Frontiers of neurology and Neuroscience* 45:75-90.
- Ohmoto T, Mimura Y, Baba Y, Miyamoto T, Matsumoto Y, Nishimoto A, Matsumoto K (1978) Thalamic control of spontaneous alpha-rhythm and evoked responses. *Applied neurophysiology* 41:188-192.
- Oikonomou G, Altermatt M, Zhang RW, Coughlin GM, Montz C, Gradinaru V, Prober DA (2019) The Serotonergic Raphe Promote Sleep in Zebrafish and Mice. *Neuron* 103:686-701 e688.
- Osipova D, Hermes D, Jensen O (2008) Gamma power is phase-locked to posterior alpha activity. *PloS one* 3:e3990.
- Parri R, Crunelli V (2007) Astrocytes target presynaptic NMDA receptors to give synapses a boost. *Nature Neuroscience* 10:271-273.
- Parrino L, Smerieri A, Fau - Spaggiari MC, Spaggiari Mc Fau - Terzano MG, Terzano MG (2000) Cyclic alternating pattern (CAP) and epilepsy during sleep: how a physiological rhythm modulates a pathological event.
- Petzold GC, Hagiwara A, Murthy VN (2009) Serotonergic modulation of odor input to the mammalian olfactory bulb. *Nature Neuroscience* 12:784-791.
- Pinault D (1996) A novel single-cell staining procedure performed in vivo under electrophysiological control: morpho-functional features of juxtacellularly labeled thalamic cells and other central neurons with biocytin or Neurobiotin. *Journal of Neuroscience Methods* 65:113-136.
- Pinault D, Slezia A, Acsady L (2006) Corticothalamic 5-9 Hz oscillations are more pro-epileptogenic than sleep spindles in rats. *The Journal of physiology* 574:209-227.
- Pinault D, Leresche N, Charpier S, Deniau JM, Marescaux C, Vergnes M, Crunelli V (1998) Intracellular recordings in thalamic neurones during spontaneous spike and wave discharges in rats with absence epilepsy. *The Journal of physiology* 509 (Pt 2):449-456.

dc_1964_21

- Pinto L, Goard MJ, Estandian D, Xu M, Kwan AC, Lee SH, Harrison TC, Feng G, Dan Y (2013) Fast modulation of visual perception by basal forebrain cholinergic neurons. *Nature Neuroscience* 16:1857-1863.
- Piscopo DM, El-Danaf RN, Huberman AD, Niell CM (2013) Diverse visual features encoded in mouse lateral geniculate nucleus. *The Journal of Neuroscience* 33:4642-4656.
- Polack PO, Mahon S Fau - Chavez M, Chavez M Fau - Charpier S, Charpier S (2009) Inactivation of the somatosensory cortex prevents paroxysmal oscillations in cortical and related thalamic neurons in a genetic model of absence epilepsy.
- Polack PO, Guillemain I Fau - Hu E, Hu E Fau - Deransart C, Deransart C Fau - Depaulis A, Depaulis A Fau - Charpier S, Charpier S (2007) Deep layer somatosensory cortical neurons initiate spike-and-wave discharges in a genetic model of absence seizures.
- Ranade SP, Mainen ZF (2009) Transient firing of dorsal raphe neurons encodes diverse and specific sensory, motor, and reward events. *Journal of neurophysiology* 102:3026-3037.
- Rao RP, Ballard DH (1999) Predictive coding in the visual cortex: a functional interpretation of some extra-classical receptive-field effects. *Nature Neuroscience* 2:79-87.
- Richards DA, Manning Jp Fau - Barnes D, Barnes D Fau - Rombola L, Rombola L Fau - Bowery NG, Bowery Ng Fau - Caccia S, Caccia S Fau - Leresche N, Leresche N Fau - Crunelli V, Crunelli V (2003) Targeting thalamic nuclei is not sufficient for the full anti-absence action of ethosuximide in a rat model of absence epilepsy.
- Rougeul-Buser A, Buser P (1997) Rhythms in the alpha band in cats and their behavioural correlates.
- Rye DB, Wainer BH, Mesulam MM, Mufson EJ, Saper CB (1984) Cortical projections arising from the basal forebrain: a study of cholinergic and noncholinergic components employing combined retrograde tracing and immunohistochemical localization of choline acetyltransferase. *Neuroscience* 13:627-643.
- Sanchez-Vives MV, McCormick DA (2000) Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex.
- Sauseng P, Klimesch W, Heise KF, Gruber WR, Holz E, Karim AA, Glennon M, Gerloff C, Birbaumer N, Hummel FC (2009) Brain oscillatory substrates of visual short-term memory capacity. *Current biology : CB* 19:1846-1852.

- Schmitz D, Gloveli T, Empson RM, Heinemann U (1999) Potent depression of stimulus evoked field potential responses in the medial entorhinal cortex by serotonin. *British journal of pharmacology* 128:248-254.
- Schreckenberger M, Lange-Asschenfeldt C Fau - Lochmann M, Lochmann M Fau - Mann K, Mann K Fau - Siessmeier T, Siessmeier T Fau - Buchholz H-G, Buchholz Hg Fau - Bartenstein P, Bartenstein P Fau - Gründer G, Gründer G (2004) The thalamus as the generator and modulator of EEG alpha rhythm: a combined PET/EEG study with lorazepam challenge in humans.
- Schroder S, Steinmetz NA, Krumin M, Pachitariu M, Rizzi M, Lagnado L, Harris KD, Carandini M (2020) Arousal Modulates Retinal Output. *Neuron* 107:487-495 e489.
- Schultz W (2007) Multiple dopamine functions at different time courses. *Annual review of Neuroscience* 30:259-288.
- Senzai Y, Fernandez-Ruiz A, Buzsaki G (2019) Layer-Specific Physiological Features and Interlaminar Interactions in the Primary Visual Cortex of the Mouse. *Neuron* 101:500-513 e505.
- Sheldon PW, Aghajanian GK (1990) Serotonin (5-HT) induces IPSPs in pyramidal layer cells of rat piriform cortex: evidence for the involvement of a 5-HT₂-activated interneuron. *Brain research* 506:62-69.
- Sheldon PW, Aghajanian GK (1991) Excitatory responses to serotonin (5-HT) in neurons of the rat piriform cortex: evidence for mediation by 5-HT_{1C} receptors in pyramidal cells and 5-HT₂ receptors in interneurons. *Synapse* 9:208-218.
- Sherman SM, Guillery RW (1998) On the actions that one nerve cell can have on another: distinguishing "drivers" from "modulators". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:7121-7126.
- Shipp S (2016) Neural Elements for Predictive Coding. *Frontiers in psychology* 7:1792.
- Slaght SJ, Leresche N, Deniau JM, Crunelli V, Charpier S (2002) Activity of thalamic reticular neurons during spontaneous genetically determined spike and wave discharges. *The Journal of Neuroscience* 22:2323-2334.
- Sos KE, Mayer MI, Cserep C, Takacs FS, Szonyi A, Freund TF, Nyiri G (2017) Cellular architecture and transmitter phenotypes of neurons of the mouse median raphe region. *Brain structure & function* 222:287-299.

dc_1964_21

- Soubrié P (1986) Reconciling the role of central serotonin neurons in human and animal behavior. *Behavioral and Brain Sciences* 9:319-335.
- Spaak E, Bonnefond M, Maier A, Leopold DA, Jensen O (2012) Layer-specific entrainment of gamma-band neural activity by the alpha rhythm in monkey visual cortex. *Current biology : CB* 22:2313-2318.
- Srinivasan MV, Laughlin SB, Dubs A (1982) Predictive coding: a fresh view of inhibition in the retina. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological sciences* 216:427-459.
- Staudigl T, Hartl E, Noachtar S, Doeller CF, Jensen O (2017) Saccades are phase-locked to alpha oscillations in the occipital and medial temporal lobe during successful memory encoding. *PLoS biology* 15:e2003404.
- Steriade M (2003) *Neuronal Substrates of Sleep and Epilepsy*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Steriade M, Contreras D (1995) Relations between cortical and thalamic cellular events during transition from sleep patterns to paroxysmal activity. *The Journal of Neuroscience* 15:623-642.
- Steriade M, Nunez A, Amzica F (1993a) A novel slow (< 1 Hz) oscillation of neocortical neurons in vivo: depolarizing and hyperpolarizing components. *The Journal of Neuroscience* 13:3252-3265.
- Steriade M, Nunez A, Amzica F (1993b) Intracellular analysis of relations between the slow (< 1 Hz) neocortical oscillation and other sleep rhythms of the electroencephalogram. *The Journal of Neuroscience* 13:3266-3283.
- Steriade M, Amzica F, Nunez A (1993c) Cholinergic and noradrenergic modulation of the slow (approximately 0.3 Hz) oscillation in neocortical cells. *Journal of neurophysiology* 70:1385-1400.
- Steriade M, Jones EG, McCormick DA (1997) *Thalamus – Organisation and Function Vol. 1*. New York: (Elsevier Science).
- Steriade M, Timofeev I, Grenier F (2001) Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *Journal of neurophysiology* 85:1969-1985.

- Steriade M, Contreras D, Curro Dossi R, Nunez A (1993d) The slow (< 1 Hz) oscillation in reticular thalamic and thalamocortical neurons: scenario of sleep rhythm generation in interacting thalamic and neocortical networks. *The Journal of Neuroscience* 13:3284-3299.
- Summerfield C, Egner T, Greene M, Koechlin E, Mangels J, Hirsch J (2006) Predictive codes for forthcoming perception in the frontal cortex. *Science* 314:1311-1314.
- Surwillo WW (1961) Frequency of the 'Alpha' Rhythm, Reaction Time and Age. *Nature* 191:823-824.
- Szonyi A, Mayer MI, Cserep C, Takacs VT, Watanabe M, Freund TF, Nyiri G (2016) The ascending median raphe projections are mainly glutamatergic in the mouse forebrain. *Brain structure & function* 221:735-751.
- Szymusiak R, Alam N, McGinty D (2000) Discharge patterns of neurons in cholinergic regions of the basal forebrain during waking and sleep. *Behavioural brain research* 115:171-182.
- Terao Y, Sakurai Y, Sakuta M, Sakuta M, Ishii K, Ishii K, Sugishita M, Sugishita M (1993) FDG-PET in an amnesic and hypersomnic patient with bilateral paramedian thalamic infarction.
- Thut G, Miniussi C (2009) New insights into rhythmic brain activity from TMS-EEG studies. *Trends in cognitive sciences* 13:182-189.
- Timofeev I, Grenier F, Bazhenov M, Bazhenov M, Sejnowski TJ, Sejnowski TJ, Steriade M, Steriade M (2000) Origin of slow cortical oscillations in deafferented cortical slabs.
- Ujma PP, Hajnal B, Bodizs R, Gombos F, Eross L, Wittner L, Halgren E, Cash SS, Ulbert I, Fabo D (2021) The laminar profile of sleep spindles in humans. *NeuroImage* 226:117587.
- van Kerkoerle T, Self MW, Dagnino B, Gariel-Mathis MA, Poort J, van der Togt C, Roelfsema PR (2014) Alpha and gamma oscillations characterize feedback and feedforward processing in monkey visual cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111:14332-14341.

- Vanhatalo S, Palva Jm Fau - Holmes MD, Holmes Md Fau - Miller JW, Miller Jw Fau - Voipio J, Voipio J Fau - Kaila K, Kaila K (2004) Infralow oscillations modulate excitability and interictal epileptic activity in the human cortex during sleep.
- Vazquez J, Baghdoyan HA (2001) Basal forebrain acetylcholine release during REM sleep is significantly greater than during waking. *American journal of physiology Regulatory, integrative and comparative physiology* 280:R598-601.
- Venner A, Anaclet C, Broadhurst RY, Saper CB, Fuller PM (2016) A Novel Population of Wake-Promoting GABAergic Neurons in the Ventral Lateral Hypothalamus. *Current biology : CB* 26:2137-2143.
- Venner A, De Luca R, Sohn LT, Bandaru SS, Verstegen AMJ, Arrigoni E, Fuller PM (2019) An Inhibitory Lateral Hypothalamic-Preoptic Circuit Mediates Rapid Arousals from Sleep. *Current biology : CB* 29:4155-4168 e4155.
- Vinck M, Batista-Brito R, Knoblich U, Cardin JA (2015) Arousal and locomotion make distinct contributions to cortical activity patterns and visual encoding. *Neuron* 86:740-754.
- von Krosigk M, Bal T, McCormick DA (1993) Cellular mechanisms of a synchronized oscillation in the thalamus. *Science* 261:361-364.
- Vong L, Ye C, Yang Z, Choi B, Chua S, Jr., Lowell BB (2011) Leptin action on GABAergic neurons prevents obesity and reduces inhibitory tone to POMC neurons. *Neuron* 71:142-154.
- Waterhouse BD, Devilbiss D, Seiple S, Markowitz R (2004) Sensorimotor-related discharge of simultaneously recorded, single neurons in the dorsal raphe nucleus of the awake, unrestrained rat. *Brain research* 1000:183-191.
- Williams D (1953) A study of thalamic and cortical rhythms in petit mal. *Brain : a journal of neurology* 76:50-69.
- Williams MS, Altwegg-Boussac T, Chavez M, Lecas S, Mahon S, Charpier S (2016) Integrative properties and transfer function of cortical neurons initiating absence seizures in a rat genetic model. *The Journal of physiology* 594:6733-6751.
- Winterer J, Stempel AV, Dugladze T, Foldy C, Maziashvili N, Zivkovic AR, Priller J, Soltesz I, Gloveli T, Schmitz D (2011) Cell-type-specific modulation of feedback inhibition by serotonin in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience* 31:8464-8475.

dc_1964_21

Zhuang X, Masson J, Gingrich JA, Rayport S, Hen R (2005) Targeted gene expression in dopamine and serotonin neurons of the mouse brain. *Journal of Neuroscience methods* 143:27-32.