

pal.balazs_80_23

MTA Doktori Tézisek

**Ioncsatornákon és gliasejteken keresztül érvényesülő
neuromodulációs mechanizmusok hatása az idegrendszeri
excitabilitásra**

Pál Balázs

DE ÁOK Élettani Intézet

Debrecen

2023

Bevezetés

A vizsgált struktúrák

A disszertáció alapjául szolgáló tanulmányok a szaglóhámot, az agytörzsi hallópályát és a retikuláris aktivációs rendszert vizsgálták.

Az orrüregben elhelyezkedő fő szaglóhám mellett a szaglást egérben több járulékos szaglószer, mint a vomeronasalis szerv szolgálja. A receptoráram létrejötte szempontjából jelentős ioncsatornák a receptorsejtek ciliumainak a membránjában találhatóak. A G-protein kapcsolt szagreceptorok aktivációja a cAMP ciliumon belüli megemelkedéséhez és a ciklikus nukleotid kapuzott (CNG) csatorna nyitásához vezet. Ez a sejt depolarizációját, az intracelluláris kalcium koncentráció megemelkedését és egy kalciumaktivált kloridcsatorna megnyitását okozza. Emlősökben a kloridcsatorna nyitását jelentős erősítő lépésnek gondolták, ami a receptor áram 80-90%-áért felelős.

A központi hallópálya első magja a nucleus cochlearis dorsalis (DCN). A mag élettani szerepe a hangforrás lokalizációval összefüggő reflexekben van, de kiemelkedő kórélettani szerepe van a magnak a tinnitus kialakulásában. A DCN koncentrikus szerveződésű rétegekből tevődik össze. A legkülsőbb a molekuláris réteg, ahol a szemcse sejtek axonjai futnak. A következő a piramis- vagy fusiform sejtek rétege. Itt a névadó sejt típuson túl a szemcse-, kocsikerék- ('cartwheel') és csillag ('stellate') sejtek szómái találhatóak. A két mélyebb rétegben a

piramissejtek basalis dendritjei, valamint az óriássejtek és multipolaris sejtek szómái helyezkednek el. A szemcse-, piramis- és óriássejtek glutamaterg serkentő neuronok, míg a csillag-, kocsikerék- és multipoláris sejtek GABAerg és glicinerg neuronok. A nervus acusticus I. típusú ganglion spirale sejtekből eredő axonjai a szemcsejteket és a piramissejtek basalis dendritfáját, míg a II. típusú sejtek rostjai a kocsikerék- és csillagsejteket látják el serkentő bemenettel. Az utóbbiak a piramissejtekkel formálnak gátló szinapszisokat.

A retikuláris aktivációs rendszer (RAS) a pons és mesencephalon területén elhelyezkedő magcsoport, amelynek kritikus szerepe van a deszinkronizált kérgi aktivitás és az ébrenléti állapot fenntartásában. A RAS egyik, általunk vizsgált magja a nucleus pedunculopontinus (PPN) volt. Ez a mag a kolinerg neuronokon túl GABAerg és glutamaterg neuronokat is tartalmaz. Nemcsak az alvás-ébrenlét szabályozásban tölt be szerepet, de a mesencephalicus locomotor régió részeként a mozgásszabályozásban és a startle reflexben betöltött szerepével a szenzoros kapuzásban is. Kórélettani jelentőségét az adja, hogy Parkinson-kórban, progresszív szupranukleáris parézisben, skizofréniában és peduncularis hallucinosisban írták le szerepét. A RAS kolinerg ágán számos neuromodulációs hatás, mint pl. a muszkarinos kolinerg, endokannabinoid, szerotoeng és orexinerg hatások érvényesülnek.

A RAS másik, általunk vizsgált magjai a nucleus raphe medianus (MR) és a nucleus raphe dorsalis (DR) voltak. A DR és MR szerotonerg sejtjeinek számos alpopulációját lehet elkülöníteni expressziós markereik, elektrofiziológiai sajátásaik és morfológiai jegyeik alapján. A DR rostralis része szerepet játszik a mozgásfüggő stressz toleranciában, míg az MR a krónikus pszichoszociális stresszhez történő adaptációhoz járul hozzá.

A hallópálya és a RAS magjain az M-áram szerepét vizsgáltuk. Ez egy alacsony küszöbű feszültségfüggő káliumáram, ami lassan aktiválódik és nem inaktiválódik; és muszkarinos acetilkolin receptorok aktivációja képes az áramot gátolni. Az M-áramért felelős ioncsatorna KCNQ (Kv7) alegységekből épül fel. Az M-áram a neuronális ingerlékenységet képes hatékonyan szabályozni és a neuromodulációs hatások gyakran ennek az áramnak a gátlásán keresztül fokozzák az excitabilitást. Az egyes akciós potenciálok és akcióspotenciál-sorozatok jellegzetességeit is szabályozza: felelős az utóhiperpolarizáció közepes és késői szakaszának kialakításáért, valamint a tüzelési frekvencia adaptáció jelenségéért.

A KCNQ2, 3 és 5 alegységek a központi idegrendszer számos területén megtalálhatóak, de a KCNQ4 alegység előfordulása az agytörzsi hallópályára, a nervus trigeminus magjaira és a RAS egyes elemeire korlátozódik. A periférián a KCNQ4 alegység a cochlea külső szőrsejtjein fordul elő; emberben a KCNQ4 alegység domináns negatív

mutációja okozza a DFNA2 nem-szindrómás 2-es típusú halláscsökkenést.

Az asztrociták és az extraszinaptikus glutamát

Az asztrociták a gliasejtek egy, a központi idegrendszerben elterjedt típusa. Bár az asztrocitákat nem-ingerlékeny sejtekként ismerjük, speciális "ingerlékenysége" az ún. "kalcium-excitabilitás", ami azt jelenti, hogy spontánul és különböző hatásokra is képesek az intracelluláris kalcium koncentrációjukat hullámszerűen megváltoztatni. A neuronok neurotranszmittereihez hasonlóan, az asztrociták is szabadítanak fel ún. gliotranszmittereket. Az általuk is szabályozott extraszinaptikus glutamaterg szignalizáció számos élettani és kórélettani folyamatban játszik kiemelkedő szerepet. Az élettani folyamatok közül a neuronális ingerlékenységet, azok nyugalmi membránpotenciálját határozza meg, az alvás-ébrenlét ciklusok szabályozásának egy fontos faktora és a szinaptikus plaszticitáshoz is hozzájárul. Számos neurológiai, pszichiátriai megbetegedésben ismert a kóroki szerepe vagy hozzájárulása a betegség súlyosbodásához.

Az extraszinaptikus glutamát forrásai lehetnek a neuronok, asztrociták, a mikroglia és oligodendroglia. Az extraszinaptikus glutamát receptorok közül a leginkább ismert a neuronális extraszinaptikus NMDA receptor. Az NMDA receptor tetramer szerkezetű, ami di- vagy triheteromer formában fordul elő. A GluN2A

alegységet inkább a szinaptikus, míg a GluN2B alegységet inkább az extraszinaptikus NMDA receptor jellegzetes alegységének tartják. Az extraszinaptikus NMDA receptorok a dendriteken és a periszinaptikus régióban az asztrocita végtalpakkal szemben 'cluster'-eket formálnak.

Az extraszinaptikus glutamát eltávolítását nagyrészt, de nem kizárólag az asztrociták végzik glutamáttranszportereken keresztül. A glutamáttranszporterek a központi idegrendszerben olyan gyakoriak, hogy az összes protein mintegy 1%-át teszik ki. Ezeket a transzportereket az EAAT ("excitatory amino acid transporter") néven szokták illetni. Az asztrocitákból felszabaduló glutamát neuronális extraszinaptikus NMDA receptorok aktivációjával lassú befelé irányuló áramokat ('slow inward current', SIC) és tónusos serkentő áramokat hoz létre.

Célkitűzések

1. Meg kívántuk ismerni a szaglóhám kalciumaktivált kloridcsatornájának identitását és jelentőségét a receptor neuron aktivációban (*Billig és mtsai, 2011*)
2. A nucleus cochlearis dorsalis és a colliculus inferior muszkarinos kolinerg neuromodulációjának hálózati és posztzinaptikus, M-áramon keresztül kifejtett hatását kívántuk feltérképezni (*Pál és mtsai, 2009; további nem közölt adatok*).

3. Az M-áramnak a nucleus pedunculopontinusban betöltött szerepét, az érte felelős csatorna alegység összetételét terveztük megfigyelni (*Bordás és mtsai, 2015; Bayasgalan és mtsai, 2021a; Maamrah és mtsai, 2023*).
4. Az M-áram jelenlétének a nucleus raphe medialis és dorsalis szerotoninerg neuronok közötti megoszlását, annak esetleges topográfiai mintázatát kívántuk megismerni (*Bayasgalan és mtsai, 2021b*).
5. A nucleus pedunculopontinuson érvényesülő neuromodulációs hatások átfedéseinek hátterét, annak eredetét terveztük megérteni (*Kőszeghy és mtsai, 2015; Kovács és mtsai, 2015; 2017; Kovács és Pál, 2017; Kovács és mtsai, 2019*).
6. A fázisos asztrocita-függő befelé irányuló áramok fiziológias és patológias szerepét, annak életkorfüggését kívántuk egerben és emberben megismerni (*Kovács és Pál, 2017; Csemer és mtsai, 2023*).

Az alkalmazott technikák

A disszertációban szereplő kísérleteket az érvényes nemzeti és nemzetközi törvényi szabályozással összhangban végeztük (2010/63/EU sz. EU direktíva az állatkísérletekről). A kísérleti protokollokat a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérletes Bizottsága hagyta jóvá (6/2011/DEMÁB, 5/2015/DEMÁB, 19/2019/DEMÁB,

2/2012/DEMÁB). Kísérleteinkhez vad típusú Wistar patkányokat és különböző genetikai háttérű egereket használtunk. Konstitucionális knockout egértörzsek közül Thomas Jentsch laboratóriumában (MDC/FMP, Berlin, Németország) létrehozott KCNQ4 knockout egértörzset és az ANO2 knockout egértörzset használtuk. A CB1 receptor knockout egerek Andreas Zimmer laboratóriumából (Bonn, Németország) származtak. A cre-lox rendszer felhasználásával, homozigóta transzgén állatok keresztezésével is hoztunk létre transzgén egereket. Ezek az egerek bizonyos sejtjeikben fejeztek ki fluoreszcens markereket és optogenetikai aktuátort (ld. az eredményeknél).

A cre-lox rendszer részleges helyettesítése és a fluoreszcens markerek, opto- és kemogenetikai aktuátorok, valamint kalcium- és neurotranszmitter indikátorok agyterületekre és sejtípusokra egyaránt specifikus expresszáltatása céljából szterotaxiás célzóberendezéssel egyes agyterületekre (neocortex, PPN, nucleus pontis caudalis) adeno-asszociált vírusvektorral juttattuk be a megfelelő plazmidot.

A szelet elektrofiziológiai vizsgálatokhoz használt debreceni mérőrendszer Zeiss Axioskop mikroszkóppal (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Németország) és 2 db Axopatch 200A erősítővel (Molecular Devices, Union City, CA, USA) volt felszerelve. Az adatok rögzítése Clampex 10.0 szoftverrel (Molecular Devices, Union City, CA, USA) történt, míg az elemzésükhöz Clampfit 10.0 (Molecular Devices, Union City, CA, USA) és MiniAnalysis (Synaptosoft, Decatur, GA,

USA) szoftvereket használtunk. A fluoreszcens jelek láthatóvá tételéhez, fluoreszcens képalkotáson alapuló mérésekhez és egyes esetekben az optogenetikai stimulációhoz a Till Photonics rendszerét (Till Photonics GmbH, Gräfeling, Németország) használtuk. Egyes kísérletekben a preszinaptikus rostok elektromos stimulációjához saját készítésű monopóláris vagy wolfrám szálú bipoláris stimuláló elektródát és BioStim STC-7a elektromos stimulátort (Supertech, Pécs) használtunk. Az optogenetikai stimulációhoz a LED fényforrást (470 nm, Thorlabs, Newton, NJ, USA) használtuk. A mérőrendszer a flash fotolízis kísérletekhez fel volt szerelve Rapp flash lámpával (JML-C2, Rapp OptoElectronic GmbH, Wedel, Németország), amivel az egész látóteret világítottuk meg.

Az intracelluláris kalcium koncentráció változásainak vizualizálásához Oregon Green 488 BAPTA 1 acetoxi-metilésztert (OGB, Invitrogen-Molecular Probes, Carlsbad, CA, USA) használtunk. Optogenetikai vizsgálatainkat szelet-elektrofiziológiával együtt végeztük. Az optogenetikai aktuátor minden esetben ChR2 volt, amit a cre-lox törzsek keresztezésével fejeztünk ki asztrocitákban, kolinerg vagy glutamaterg neuronokban. A teljes látóteret 470 nm hullámhosszúságú fényel világítottuk meg. Kemogenetikai vizsgálataink során hM3 receptort alkalmaztunk aktuátorként, amit clozapine N-oxid (CNO) segítségével aktiváltunk. A kemogenetikát felhasználó szelet-elektrofiziológiai vizsgálatok során 10 $\mu\text{mol/l}$ CNO-

val aktiváltuk az aktuátort. A viselkedési tesztek során a CNO-t vagy ivóvízzel vette fel az egér, vagy intraperitonealis (ip.) injekció formájában (1 mg/kg).

A viselkedési tesztek során a cirkadián ritmust és a mozgásteljesítményt (activity wheel test-tel) és az akusztikus startle reflex amplitúdóját vizsgáltuk kontroll körülmények között, KCNQ4 knockout állatokon és akut vagy krónikus kemogenetikai kísérletekben. Az akusztikus startle reflex méréséhez egy saját magunk által tervezett és épített rendszert használtunk.

Eredmények

Szaglóhám primer neuronok modulációja kalcium-aktivált kloridcsatornákon keresztül (Billig és mtsai, 2011)

Az először bemutatott kísérletsorozatot berlini tanulmányutam során, Thomas Jentsch laboratóriumában, az ő szakmai irányítása alatt végeztem. A transzgén egértörzs létrehozása, valamint az immunhisztokémiai és viselkedési tesztek Gwendolyn Billig munkája. A kísérletsorozat fő kérdése az volt, hogy a szaglóhám ANO2 kalciumaktivált kloridcsatornája hogyan modulálja a szaglóhám membránsajátságait és milyen aktív szerepet játszik a szaganyagok érzékelésében. A primer szaglóhámból készült szeleteken a szenzoros neuronok szómáján végeztem patch clamp kísérleteket teljes sejtes elrendezésben. Vad típusú állaton, nominálisan kalciummentes

intracelluláris oldatot használva nem volt mérhető áram, 1,5 $\mu\text{mol/l}$ -es szabad kalcium koncentráció mellett kifelé egyenirányító áramot lehetett mérni, míg 13 $\mu\text{mol/l}$ -es szabad kalciumkoncentrációnál megszűnt az egyenirányítás. Ezek az áramok nem voltak jelen az ANO2 knockout egérből származó mintákon. A vomeronasalis szerv szenzoros neuronjainak végbunkóin hasonló áramot lehetett mérni. A következő kísérletben a teljes szaglóhámot tartalmazó *ex vivo* preparátumon elektroolfaktogramm (EOG) segítségével vizsgáltuk egyes szaganyagok hatását. A szaganyagokra adott válasz mintegy 40%-kal csökkent a knockout egérből származó mintákon a vad típusú alomtársak mintáihoz képest. A levegőfázisú EOG esetében nem láttunk különbséget a vad típusú és knockout minták között.

A hallópálya kolinerg modulációja az M-áramon és más muszkarinos acetilkolin receptorhoz kötött hatásokon keresztül (Pál és mtsai, 2009)

A hallópálya kolinerg modulációjának vizsgálatát a DCN óriássejtjein végeztük. A muszkarinos acetilkolin receptor agonista karbakol hatására a neuronok depolarizálódtak és valamennyi neuron akcióspotenciál-sorozatot tüzelt. Amikor karbakol alkalmazása közben a membránpotenciált az eredeti nyugalmi membránpotenciál értékre állítottuk vissza, az akcióspotenciál-tüzelés frekvenciája mérséklődött, de nem szűnt meg vagy tért vissza a kiindulási értékre. Ez arra utal, hogy

a látott akcióspotenciál-tüzelés nem kizárólag a közvetlen depolarizáció eredménye, hanem más, hálózati hatásoknak is következménye.

A következő kísérletben a felületes és mély rétegekből származó gátló szinaptikus neurotranszmisszióra gyakorolt muszkarinos hatást vizsgáltuk. A felületes réteg IPSC-in kifejezett rövid távú depresszió érvényesült, míg a mély réteg esetén ez a jelenség sokkal gyengébbnek bizonyult. A rövid távú plaszticitásban megfigyelt különbségek mellett az IPSC-ken érvényesülő muszkarinos hatások is különböztek. A felületes rétegre nem gyakorolt a karbakol gátló hatást, míg a mély rétegben jelentős, M3 receptoron keresztüli gátlás volt az első IPSC-n. A felületes réteg stimulációjával kiváltott EPSC-k esetén gyenge rövid távú depressziót figyeltünk meg. Karbakolt alkalmazva az első amplitúdó csökkent és a második és első amplitúdók aránya, a 'paired pulse ratio' (PPR) emelkedett. A mély réteg stimulációjával kiváltott EPSC-k átlagos amplitúdója nagyobbak bizonyult, míg a rövid távú szinaptikus depresszió gyengébb volt. Karbakol jelenlétében, a felületes rétegben látottakhoz hasonlóan, az amplitúdó csökkent, míg a PPR növekedett. A felületes réteg esetében a nem szelektív atropin hatása az M3 receptor specifikus 4-DAMP-hez bizonyult hasonlóknak, míg a mély réteg esetén az AF-DX116 (M2 szelektív), a 4-DAMP (M3 szelektív) és a tropicamid (M4 szelektív) egyaránt hatékonyak bizonyult.

A karbakol előkezelés nélkül alkalmazva, -60 mV tartópotenciálon történő mérés során befelé irányuló, M3- és M4 receptor

függő tónusos áramot keltett. A mért tónusos áram háttérében egy depolarizáció-aktivált káliumáram, valószínűleg az M-áram állt.

A retikuláris aktivációs rendszer egyes tagjainak kolinerg modulációja az M-áramon keresztül (Bordás és mtsai, 2015; Bayasgalan és mtsai, 2021a; Bayasgalan és mtsai, 2021b; Maamrah és mtsai, 2023)

Az M-áram kutatását célzó vizsgálataink következő helye a retikuláris aktivációs rendszer, azon belül is a PPN és a DR, MR voltak.

Első lépésként azt vizsgáltuk, hogy a PPN sejtípusai rendelkeznek-e a szómáról elvezethető M-árammal. Kolinerg neuronokon mérve, az esetek túlnyomó részében mértünk M-áramot. GABAerg neuronokon nem volt M-áram mérhető, glutamaterg neuronokon elvéve találtunk M-áramot.

Ahogy korábbi irodalmi adatokból is ismert, az M-áram a neuron tüzelési sajátságait befolyásolja. A tüzelési frekvencia depolarizáló áraminjekciók esetén GABAerg neuronokon szignifikánsan nagyobb volt, mint kolinerg neuronokon. A tüzelési frekvencia adaptáció számszerűsítésére az adaptációs indexet (AI) használtuk, ami a kolinerg neuronokon magas, míg a GABAerg neuronokon szignifikánsan alacsonyabb volt. A gyors, közepes és lassú utóhiperpolarizáció amplitúdója is szignifikánsan lassabb volt a kolinerg neuronokon, mint a GABAerg neuronokon. A fenti különbségek háttérében nagyrészt az M-áram állt.

A PPN neuronok egy fontos sajátása a 10-45 Hz közötti frekvenciájú magas küszöbű membránpotenciál-oszcilláció, amit P/Q- és N típusú kalciumáramok és káliumáramok mediálnak és rámpa alakú depolarizáló impulzussal nagyobb amplitúdójú oszcillációkat lehet kiváltani. Ezeket az oszcillációkat csak kolinerg neuronokon láttunk és csaknem teljesen hiányoztak a GABAerg neuronokon. Az M-áram gátlása a membránpotenciál oszcillációkat nagyrészt blokkolta.

Az M-áramért felelős ioncsatornák egyik alegysége a KCNQ4. Mivel a PPN (más RAS magvakkal, mint az erős pozitivitást mutató raphe magvakkal együtt) a cirkadián ritmus és a mozgás szabályozásában is részt vesz, az első kísérletünk annak a feltérképezésére irányult, hogy a KCNQ4 alegység hiánya befolyásolja-e ezeket a funkciókat. Kísérletünkhöz "activity wheel test"-et használtunk és megállapítottuk, hogy váltakozó fény-sötétség viszonyok mellett a KCNQ4 alegység hiánya nincs hatással az állat cirkadián ritmusára vagy mozgására, de a sötétséghez történő adaptációban jelentős különbségeket okoz.

Kollaborációs partnerünk, Guillermo Spitzmaul (Bahia Blanca, Argentína) immunhisztokémiai és PCR eredményei azt mutatták, hogy nem a KCNQ4 az egyetlen M-áram alegység a PPN neuronjain, hanem a KCNQ3 és 5 is jelen van a neuronok szómáján. Ezen kísérletek nyomán meg kívántuk vizsgálni a KCNQ4 alegység sejtszintű funkcionális jelenlétét a PPN neuronokon. Ehhez az egyik stratégia a vad típusú alomtársak és a KCNQ4 knockout egerek különböző PPN neuronjain

mérhető M-áramok összehasonlítása volt. A kolinerg neuronok esetében a vad típusú minták 7,7%-áról hiányzott az M-áram, míg a knockout minták 62,5%-áról. A KCNQ4 alegység funkcionális jelentőségét szelektív M-áram nyitószerekkel is vizsgáltuk és arra a következtetésre jutottunk, hogy a PPN neuronok mintegy felében a KCNQ4 meghatározó M-áramért felelős ioncsatorna alegység.

A következő kísérlet az M-áram *in situ* felszabaduló acetilkolin általi modulációját vizsgálta. A kolinerg nucleus laterodorsalis tegmentalis (LDT) optogenetikai ingerlése alatt az M-áram amplitúdója szignifikánsan csökkent, amit az ingerlés megszűnése után regeneráció követett.

Az M-áram szerepét a neuronális szinkronizációban két szomszédos PPN kolinerg neuronon egyidejűen végzett akcióspotenciál-méréssel mutattuk meg. A kontroll körülmények közötti szinkronizáció az M-áram gátlásával szignifikánsan kisebb mértékű lesz.

A KCNQ4 alegység hiánya az akusztikus startle reflex amplitúdóját fokozta.

A KCNQ4 immunjelölés a RAS magjai közül a legintenzívebb a nucleus raphe dorsalisban és medialisban (DR, MR), ezért további vizsgálatunk tárgya ez a két struktúra volt. A DR és MR szerotoninerg neuronjait két alpopulációra tudtuk az M-áram megléte vagy hiánya alapján osztani. Az M-árammal rendelkező és azzal nem rendelkező

serotonerg neuronok az MR és DR területén jellegzetes topográfiai eloszlást mutatnak. A DR esetében az M-árammal rendelkező neuronok rostralisabban helyezkednek el, az MR-en belül az M-árammal rendelkező neuronok dorsalisabban, míg az azzal nem rendelkezők ventralisabban találhatóak.

A PPN neuronok membránsajátságai és az azokért felelős ionáramok (Baksa és mtsai, 2019)

A PPN kolinerg neuronjai membránsajátságait tekintve négy csoportba sorolhatók. Az I. csoportba a kalciumáramok jelenléte miatt kialakuló kalciumtüskékkel rendelkező, de A-árammal (tranziens káliumárammal) nem rendelkező neuronokat soroltuk. A II. csoportba a csak A-árammal, a III. csoportba a mind A-árammal, mind kalciumtüskékkel rendelkező neuronokat, míg a IIIK. csoportba az egyik sajátsággal sem rendelkező neuronokat soroltuk. A 'K' jelölés az első elektrofiziológiai leírás szerzői kezdőbetűjéből származik, mert ők definiálták így a III. csoportot. A vizsgált 91 neuronból 12 tartozott az I. csoportba (13,18%), 44 a II. csoportba (48,35%), 19 a III. csoportba (20,88%) és 16 a IIIK. csoportba (17,58%).

A pars compactában (a mag caudalis részén) a II. típus volt a domináns sejttípus, míg a rostralis pars dissipatában egyenletesebben oszlottak el a sejttípusok. Az alacsony küszöbű kalciumtüskékkel rendelkező neuronok (I. és III. típus) inkább a rostralis PPN-ben

helyezkedtek el és típusosan bipoláris neuronok voltak. A kalciumtűskékkel nem rendelkezők jellemzően a caudalis PPN multipoláris sejtjei voltak.

Az első akciós potenciál késési ideje egyenesen arányos volt a tranziens kifelé irányuló áram decay tau-jával. A hosszú akcióspotenciál-késéssel rendelkező neuronok jellegzetesen a pars compactában helyezkedtek el, a pars dissipata neuronok késési ideje szignifikánsan kevesebb volt. A magas küszöbű membránpotenciál-oszcilláció is rostrocaudalis különbségeket mutatott: a pars compactában mért oszcillációk kis amplitúdójúak és magas frekvenciájúak, míg a pars dissipata oszcillációi alacsony frekvenciájúak és nagy amplitúdójúak voltak. A power maximumnál mért oszcillációs frekvenciát korreláltattuk a 120 pA depolarizáló lépcsőnél mért átlagos akcióspotenciál-tüzeléssel és erős lineáris összefüggést találtunk.

Gliasejteken keresztül érvényesülő neuromodulációs hatások

(Kőszeghy és mtsai, 2015; Kovács és mtsai, 2015; Kovács és mtsai, 2017; Kovács és Pál, 2017; Kovács és mtsai, 2019; Csemer és mtsai, 2023, bírálólat alatti kézirat)

A PPN-re ható számos neuromodulációs hatás közül először az (endo)kannabinoid hatást vizsgáltuk. A PPN neuronok egy része CB1 receptor agonisták (ACEA, WIN55,212-2) és az anandamid membrántranszport gátló UCM707 hatására depolarizálódott és növelte

tüzelési frekvenciáját, egy további alpopuláció hiperpolarizálódott és csökkentette vagy megszüntette a spontán tüzelést, egy harmadik neuroncsoport pedig nem válaszolt. Ezek a változások elmaradtak CB1 knockout egér esetén. A spontán EPSC-k esetében frekvencianövekedést, a spontán IPSC-k esetében frekvenciacsökkenést láttunk előinkubáció nélkül a CB1 receptor agonista hatására. Thapsigargin előinkubáció után mind az EPSC-k, mind az IPSC-k esetében frekvenciacsökkenést okoztak a CB1 receptor agonisták.

A de- vagy hiperpolarizáció nem függött a neurokémiai sejttípustól és a neuronális akcióspotenciál-tüzelés meglététől, de az I. csoportú mGluR gátlása a hiperpolarizációt, míg a II. csoportú mGluR gátlása a depolarizációt védte ki. Az asztrociták kalciumhullám aktivitásának növekedése megelőzte a neuronális membránpotenciál-változásokat, valamint a kalciumhullámok gátlása thapsigarginnal gátolta a neuronális válaszok létrejöttét. Az asztrociták optogenetikai aktivációja hasonló neuronális válaszokat eredményezett, mint a CB1 receptor aktivációja. A posztszinaptikus neuron depolarizációja és a WIN55,212-2 egyaránt a kiváltott EPSC-k és miniatűr IPSC-k amplitúdójának csökkenéséhez vezetett, de az asztrociták optogenetikai aktivációja nem hatott a kiváltott EPSC-kre.

Az egy neuromodulációs hatásra adott háromféle neuronális választ nemcsak CB1 receptor agonisták esetén láttuk, hanem karbakolt és szerotonin (ld. alább) alkalmazása esetén. A karbakolt és a CB1

receptor agonista ACEÁ-t egymás után alkalmazva a hatás nagyobb részben átfedést mutatott.

A SIC-ek asztrocitafüggő neuromodulációs hatásokban betöltött szerepét is vizsgáltuk. Ezek az NMDAR- és asztrocita-függő áramok a PPN neuronokon is jelen vannak és paramétereik, különösen a kinetikai paraméterek alapján jól elkülöníthetőek az EPSC-ktől. A SIC-ek a PPN-ben is asztrocita-aktiváció következtében történő glutamátfelszabadulás és GluN2B alegységet tartalmazó neuronális extraszínaptikus NMDA receptor aktiváció következményei. A TTX a SIC-ek frekvenciáját és felszállószárának kinetikáját nem változtatta meg, de az amplitúdót szignifikánsan csökkentette és a decay tau-t megnyújtotta. A nem specifikus NMDAR gátló D-AP5 és a GluN2B alegység specifikus ifenprodil a SIC aktivitást csaknem teljesen gátolta. Az asztrociták optogenetikai aktivációja a SIC frekvenciát szignifikánsan növelte, azonban az így kiváltott SIC-ek kinetikája jelentősen lassabb volt, mint a spontánul létrejövő eseményeké. A SIC-ek jelenléte vagy hiánya nem függött a neurokémiai sejttypustól: a kolinerg és GABAerg neuronokon mért SIC-ek frekvenciája, amplitúdója és kinetikai paramétere nem különböztek szignifikánsan.

Post hoc morfológiai analízissel meghatároztuk a neuron szómájához legközelebbi asztrocita távolságát és a neuron szómájától 70 μ m-en belüli asztrociták számát. A szómához legközelebb eső asztrocita

távolsága fordítottan arányos volt a SIC frekvenciával és az egy perc alatt mért SIC-ek általi töltéstranszferrel.

Amikor két szomszédos, egymástól 20 μm -en belül elhelyezkedő neuron szómájáról mértünk párhuzamosan, azt tapasztaltuk, hogy a két közeli neuron szómáján egyszerre soha nem jelentkezett SIC, így azok a PPN neuronok szomatikus depolarizációját valószínűleg nem szinkronizálják.

A SIC aktivitás változása a kontroll körülmények között mért SIC aktivitástól függött: kis kiindulási SIC aktivitásnál növekedett, míg ennél nagyobb SIC aktivitás esetén azt gátolta vagy teljesen elmosta a kannabinoid, muszkarinos és szerotonerg agonista. Különböző neuromodulációs hatások (kannabinoid, muszkarinos, szerotonerg, orexinerg) képesek a neuronális ingerlékenységet tónusosan megváltoztatni és a SIC aktivitásra is hatnak. A SIC aktivitás változása a tartóáram változással nem, de annak abszolút értékével egyenes arányosságot gyenge korrelációt mutatott. Orexin-A bemosása esetén, a többi neuromodulációs hatástól eltérően, az esetek túlnyomó többségében depolarizációt láttunk. A többi neuromodulációs hatással megegyezően, az alacsony kiindulási SIC aktivitás esetén az orexin a SIC aktivitást növelte, míg magas SIC aktivitás esetén csökkentette.

Valamennyi neuromodulációs hatást figyelembe véve, a SIC aktivitás hatásukra bekövetkező változása nagyon hasonló minden esetben és nem a neuromodulációs hatás természetétől, hanem a

kiindulási SIC aktivitástól függ. Ennek háttérében az emelkedő extracelluláris glutamátkoncentráció NMDA receptor inaktivációt okozó hatása állt.

A PPN-en asztrocitákon keresztül érvényesülő neuromodulációs hatások robusztusnak látszottak, de mivel *ex vivo* körülmények között történt a mérés, valódi jelentőségüket *in vivo* rendszerben is szeretnénk megismerni. Folyamatban levő kísérleteinkben az asztrociták kemogenetikai aktivációját kombináljuk viselkedési tesztekkel. Eddigi kísérleteink alapján az asztrociták krónikus aktivációja a cirkadián ritmust, az izomtónus szabályozást és az akusztikus startle reflexet érinti.

A következő kísérletsorozatban a SIC-ek általános szerepét és annak a normál öregedéssel megfigyelhető összefüggéseit kívántuk feltárni. Ehhez az eddig használt egér modellen kívül humán neocorticalis mintákat is használtuk, amelyeket agyi tumorok eltávolításakor ugyancsak eltávolított ép kéregrészekből preparáltunk.

A humán és egér egyedi SIC-ek paraméterei eltérnek egymástól: a középkorú populációkat összehasonlítva az amplitúdó humánban kisebb volt, viszont a SIC-ek kinetikai paraméterei lassabbak voltak, és töltéstranszfer nagyobb.

A SIC-ek bár fiziológiásan ritkán jelentkező események, feltehetően nem funkció nélküliek. Azt a feltételezést vizsgáltuk meg a továbbiakban, hogy a szinaptikus plaszticitásban szerepet játszanak-e. A

SIC-eket az asztrociták kemogenetikai aktivációjával váltottuk ki, miközben a vizsgált neuron serkentő szinaptikus bemeneteit stimulálva EPSC-t váltottunk ki. Az esetek 50%-ában láttunk változást. Ha a SIC előbb (negatív időeltolódás) vagy az EPSC-vel egy időben jelent meg (nulla időeltolódás), 21-137% amplitúdónövekedést figyeltünk meg. Ha a SIC az EPSC után jelentkezett (pozitív eltolódás), 22-33% csökkenést láttunk. A változás a mérések 40 perces időtartama alatt fennmaradt. Hasonló eredményeket kaptunk akkor is, ha glutamát uncaging-et alkalmaztunk az asztrocita aktiváció helyett vagy a SIC-et mint parancsjelet alkalmaztuk különböző időzítéssel. Kísérleteink eredményeként levonhatjuk azt a következtetést, hogy a SIC-ek képesek elektromos szignálként szinaptikus plaszticitást kiváltani mind egéren, mind emberi mintákon.

A SIC-ek korfüggése egéren részben ismert, emberen azonban eddig még nem volt ismert, ezért célunk volt mindkét fajban bemutatni és összehasonlítani a SIC szignalizáció öregedését. Az egyedi SIC-ek általi töltésmozgás egéren -a korábbi irodalmi adatokkal összhangban- nem mutatott életkorfüggést. A SIC aktivitás (időegység alatti töltésmozgás a SIC-ek által) a SIC frekvencia életkorfüggő csökkenése miatt hanyatlást mutatott. A SIC aktivitás ugyan szignifikánsan csökkent idős egyedekben, de nem tűnt el. Erős kontrasztban az egéren megfigyeltekkel, emberben az egyes SIC-ek töltésmozgása az életkor előrehaladtával meredeken csökkent, majd 70 éves korra a SIC-ek

eltűntek. Ezzel összhangban a SIC aktivitás is erőteljesen csökkent, majd megszűnt 70 éves korra. Nemcsak maguknak a SIC-eket, hanem az EPSC-kre gyakorolt hatásukat is különböző módon érinti az öregedés egéren és emberen.

Megbeszélés

Az ANO2 nem elengedhetetlen a szaglásban, de egyes esetekben az adaptációt szolgálja

A szaglóhám neuronok ciliumainak kalciumaktivált kloridáramáért potenciálisan két ioncsatorna, a Bestrophin-2 (Best2) és az ANO2 felelhet. Az utóbbinak a szerepét Thomas Jentsch laboratóriumában, az én hozzájárulásommal erősítettük meg. Az ANO2 knockout egér fő szaglóhámjának és vomeronasalis szervének neuronjain teljesen hiányzott a kalciumaktivált kloridáram. A várakozásokkal ellentétben, Gwendolyn Billig munkatársam ANO2 knockout egereken végzett viselkedési tesztjei nem mutattak ki szaglási deficitet. A folyadékfázisú EOG amplitúdók is –a várható 80-90%-os csökkenés helyett- mindössze 40%-os csökkenést mutattak. Ennek az eltérésnek az lehet az oka, hogy a kloridcsatorna hozzájárulását annak a nifluminsav általi gátlásával becsülték meg, ami nem szelektív az ANO2 általi áramra. A levegőfázisú EOG amplitúdók nagyrészt változatlanok voltak.

A folyadékfázisú EOG 40%-os amplitúdócsökkenésével járó, hasonló nagyságú tüzelési frekvencia csökkenés nem olyan nagymértékű, hogy a viselkedési teszttel felderíthető legyen.

Későbbi kutatások feltárták, hogy az ANO2 knockout minták szaglóhám neuronjainak az alap akcióspotenciál-tüzelési frekvenciája alacsonyabb, de a szaganyagok alkalmazásakor megfigyelt tüzelési frekvenciája magasabb, mint a vad típusúak esetében. A fenti megállapítások tükrében elmondhatjuk, hogy az ANO2 nélkülözhető eleme a szaglóhám receptor működésének; szerepe a szaglóhám neuronok tüzelésének modulációjában és bizonyos új, ismeretlen szaganyagokhoz való alkalmazkodásban van.

A muszkarinos neuromodulációs hatások a hallópályán pleiotróp támadásponttal rendelkeznek

A hallópálya agytözsi szakaszának számos pontján érvényesül kolinerg neuromoduláció. Az alsóbb szakaszokon (a cochlea és a nucleus cochlearis szintjén) az olivocochlearis nyáláb, a felsőbb szakaszokon (colliculus inferior) a PPN a kolinerg rostok fő forrása. A nucleus cochlearisban a kolinerg beidegzés meglétére a kolin acetiltranszferáz- és vezikuláris acetilkolin transzporter pozitív boutonok jelenléte utal. Az M2, M3 és M4 muszkarinos acetilkolin receptorok magbeli előfordulása is ismert. Azt találtuk, hogy a szemcses sejtek parallel rostjai által formált serkentő szinapszisokat M3, a mély réteg serkentő I-es típusú, nervus

acusticusból származó rostjait M2, M3, és M4, a mély réteg tuberculoventralis és T-csillag ("T-stellate") sejtjeinek gátló rostjait M3 receptor szabályozza. A felületes réteg kocsikerék- ("cartwheel-") sejtjeinek gátló rostjain nem érvényesült muszkarinos hatás. A szóma ingerlékenységét M4 és kisebb részben M3 receptorok szabályozzák káliumáramok gátlásán keresztül. A karbakolérzékeny káliumáramnak volt egy lassú, nem inaktiválódó komponense, ami megfeleltethető az M-áramnak.

A muszkarinos neuromoduláció szerepe valószínűleg a DCN elemeinek és szinaptikus hálózatának a hangingerék erősségéhez hangolása. A DCN hálózatain megfigyelt pleiotróp támadáspontú muszkarinos hatások valószínűleg a hallópálya más elemein, mint a colliculus inferior centrális magjának neuronjain is jelen vannak.

A PPN és raphe neuronok ionáramai és ebből következő membrántulajdonságai alcsoportokat határoznak meg

A PPN két neurokémiaailag elkülöníthető populációjában, a ChAT-pozitív kolinerg és a Vglut2-pozitív glutamaterg neuronok esetében vizsgáltuk az egyes elektrofiziológiai sejtípusok arányát. A kolinerg neuronokról származó adataink nagy vonalakban egyeznek a korábbi tanulmányok megállapításaival.

A korábbi elektrofiziológiai csoportosítási lehetőségek mellett a PPN kolinerg neuronok tranziens káliumárammal rendelkező

al csoportját (II-III.) a káliumáram inaktivációjának időállandója és az ezzel egyenesen arányos első AP késési idő alapján „korai” és „késői tüzelésű” neuronokra lehet osztani, akárcsak a basalis előagyi kolinerg neuronok esetében.

A kolinerg neuronok túlnyomó része (91%) rendelkezik magas küszöbű membránpotenciál oszcillációkkal. Hasonló membránpotenciál oszcillációk más agyterületeken is ismertek (entorhinalis cortex, neocortex, amygdala, thalamus, parabrachialis area). Azt találtuk, hogy a PPN kolinerg neuronok egy csoportja kis amplitúdójú és nagy frekvenciájú, mások nagy amplitúdójú és kis frekvenciájú oszcillációkkal rendelkezik. Az oszcillációk frekvenciája jól korrelált a neuron tüzelési frekvenciájával. Feltételezhetjük, hogy a membránpotenciál-oszcillációk szerepe a magasabb tüzelési frekvenciák „letiltása” lehet.

A kolinerg és nem-kolinerg neuronok membránsajátságai között általunk talált legélesebb különbség az M-áram megléte a kolinerg neuronokon és annak hiánya a GABAerg és glutamaterg populációkon. Az M-áram –ahogy az a neuronális M-áram más struktúrákat vizsgáló leírásaiból ismert- a tüzelési frekvencia adaptációt (azaz az egy akcióspotenciál-sorozaton belüli frekvenciacsökkenést) fokozza, a közepes utóhiperpolarizáció amplitúdóját növeli és a tüzelési frekvenciát csökkenti. Ezek a jelenségek nemcsak a PPN kolinerg neuronjain, hanem az MR és DR szerotoninerg neuronjain is látható volt.

Számos elektrofiziológiai paraméter, mint az elektrofiziológiai sejtípusok és az azokat meghatározó kalciumtűskék és az A-áram, valamint az oszcillációk paraméterei egy meghatározott topográfiai mintát követ a PPN-ben. Az egyes elektrofiziológiai paraméterek topográfiai eloszlása kutatástechnikai, fiziológiai és patofiziológiai jelentőséggel bír. A PPN rostralis területe a mozgásszabályozásban, míg a caudalis régiók a tanulásban és figyelemben töltenek be szerepet. A rostralis PPN-be adott acetilkolin injekció rövidebb időn belül és nagyobb valószínűséggel váltott ki REM alvást, mint a caudalis magterületbe injektálva. A PPN egyes részeinek különbségei a Parkinson-kórban alkalmazott mély agyi stimulációkor is tettenérhetőek: a rostralis PPN-t stimulálva a beteg mozgási tünetei súlyosbodtak, míg a caudalis PPN stimuláció javította a mozgási tüneteket.

A DR és MR szerotonerg neuronjain az M-áram jelenléte ugyancsak topográfiai eloszlást követett. A nucleus raphe dorsalisban az M-árammal rendelkező neuronok rostralisabban, a nucleus raphe medialisban dorsalisabban belyezkedtek el. Mivel az M-árammal rendelkező régiók a stressz adaptációban és -toleranciában kapnak szerepet, az M-áram az anxiolitikus terápia potenciális célpontja lehet.

A KCNQ4 alegység lehetséges szerepe az agytörzsi neuromodulációban

A KCNQ4 alegységről ismert, hogy a központi idegrendszeren belül egyes szenzoros magvakban (nucleus principalis és spinalis nervi

trigemini, agytörzsi hallópálya magvai) és a RAS egyes elemeiben (raphe magvak, VTA) fordul elő. Ennek az alegységnek az élettani és kórélettani szerepét a korábbi, M-áramot és kolinerg neuromodulációt vizsgáló kutatásaink folytatásaként kezdtük el vizsgálni.

Az M-áram gátlása a PPN neuronális tüzelés kolinerg hatásra bekövetkező deszinkronizációját okozza, ami a kortikális deszinkronizációval párhuzamosan történik meg. A PPN kolinerg hatásra bekövetkező deszinkronizációja része a kolinerg autoregulációs mechanizmusoknak, ami az egymással összeköttetésben levő kolinerg magvak működésének összehangolását szolgálhatja.

Nem az összes kolinerg neuron rendelkezik KCNQ4 alegységgel, csupán egy alpopulációjuk. Különböző morfológiai és funkcionális módszerekkel 9-27%-ban bizonyultak KCNQ4 pozitívnak. A KCNQ4 knockout és vad típusú állatok összehasonlításával a funkcionáló KCNQ4 alegységgel rendelkező neuronok arányát jóval jelentősebbnek, 62,5%-osnak becsültük. Ennek a jelentős eltérésnek az állhat a háttérében, hogy a KCNQ4 expressziójának a hiánya más KCNQ alegységek vagy egyéb ioncsatorna alegységek expresszióját, membránban helyeződését vagy funkcióját is megváltoztathatja. Ezt a feltevésünket alátámasztja, hogy az M-árammal nem rendelkező nem-kolinerg sejtek adaptációs indexe KCNQ4 knockout állatokban szignifikánsan csökkent. Ez azért lehetséges, mert más, olyan ioncsatorna

alegységeket is érinthetett a KCNQ4 expresszió elvesztése, amelyek részt vesznek a tüzelési frekvencia adaptáció kialakításában.

A KCNQ4 alegység hiányának fő tünete a korral előrehaladó, mintegy 60 dB-es halláscsökkenés, ami a hasonló mutáción alapuló humán DFNA2 nonszindrómásként ismert halláscsökkenésben is megfigyelhető. A mutáció azonban nem tekinthető nonszindrómásnak, mert általunk és mások által megfigyelt további tünetekkel is jár. A cirkadián ritmus külső fény-sötétség viszonyokhoz történő adaptációja az alegység hiányában zavart szenvedett. Teljes sötétségre váltva a knockout állatok aktivitással töltött ideje növekedett és nagyobb távolságokat tettek meg, aminek a hátterében a PPN, a raphe magvak és a VTA megnövekedett ingerlékenysége állhat.

Kísérleteinkkel igazoltuk azt a hipotézist, hogy a KCNQ4 alegység és a startle reflex közt van kapcsolat: a knockout egerekben a startle reflex amplitúdója jelentősen megnövekedett.

Asztrocita aktiváción és az extraszinaptikus glutamátfelszabaduláson keresztül érvényesülő neuromodulációs hatások

Az asztrociták a neuronális excitabilitás fontos szabályozói. Az asztrocita aktiváción és az extraszinaptikus glutamátszint emelkedésén keresztül többféle neuromodulációs hatás egymással átfedő módon járul hozzá a PPN neuronok ingerlékenységének szabályozásához

Többféle, általunk vizsgált neuromodulációs hatás (kannabinoid, kolinerg, szerotoninerg és orexinerg) hasonlóan hat a PPN-re. A neuromodulációs hatások által aktivált neuronok és asztrociták kölcsönhatásán keresztül kétféle válasz jön létre: tónusos, mGluR-on keresztüli és fázisos, extraszínaptikus NMDA receptor függő. A tónusos hatás, a mGluR típusától függően egyes sejteken depolarizáció, máshol hiperpolarizáció, a neuronok harmadik csoportján pedig válaszhiány. A fázisos hatás mindig depolarizál és függ a kiindulási SIC aktivitástól, de nem függ a neuromodulációs hatás típusától. A többtől részben elüt az orexinerg hatás: bár a SIC-ekre az orexin ugyanúgy hat, mint a többi neuromodulációs hatás, a tónusos membránpotenciál-változások az esetek túlnyomó többségében depolarizációt jelentenek.

A kannabinoidok által okozott tónusos membránpotenciál változások kialakításában a mGluR-oknak volt kulcsszerepe. Az I. csoportú mGluR-ok hiperpolarizációt, a II. csoportúak depolarizációt okoztak.

Azt, hogy tónusos membránpotenciál-változásokat asztrocita aktiváció kelti, több megfigyelés támasztja alá. Először, a thapsigarginnal előinkubált szeleteken eltűntek az asztrociták kalciumhullámai és a CB1 receptor stimulációra adott válaszok is. A thapsigargin az intracelluláris kalciumraktárak deplécióját okozza, ami jellemzően nagyobb hatással van az asztrocitákra, mint a neuronokra, azonban a hatásai nem szelektívek az asztrocitákra. Másodszor, az

asztrocita kalciumhullámok megjelenése ACEA hatására egy időben történt vagy megelőzte a neuronális változásokat. Harmadszor, az asztrociták optogenetikai aktivációja mGluR-függő depolarizációt és hiperpolarizációt is váltott ki.

Az endokannabinoid hatáshoz hasonlóan depolarizáció, hiperpolarizáció és hatástalanság kombinációját mutatták a muszkarinos kolinerg és szerotoninerger hatások. A kolinerg és endokannabinoid hatások a depolarizáció esetében teljes, a hiperpolarizáció és hatástalanság esetében részleges átfedést mutattak. Az orexin azonban kilógott a sorból: az irodalmi adatokkal összhangban, az esetek túlnyomó többségében depolarizációt okozott. A kolinerg és szerotoninerger hatásoknál feltételezzük, hogy itt is jelen lehet egy hasonló, asztrocita- és mGluR-függő hatás, de a közvetlen neuronális hatások a kannabinoid hatásokhoz képest eltéréseket okoznak. Ezzel szemben, ha az orexinerger neuromodulációnál esetleg jelen is lehet egy hasonló asztrocitafüggő hatás, azt az erősebb közvetlen neuronális hatások elfedik.

Több átfedést találtunk az egyes neuromodulációs hatások eredményében egy másik, asztrocita- és glutamátfüggő jelenségben, az NMDA receptor mediált tónusos befelé irányuló áramban. A SIC-ek korábbi irodalmi adatokból ismertek számos központi idegrendszeri struktúra esetén. Ezek az események GluN2B alegységet tartalmazó neuronális extraszinaptikus NMDA receptorok aktivációjának

következményei. Ezeket a receptorokat az asztrocita aktiváció hatására felszabaduló glutamát aktiválja.

A SIC-ek frekvenciája és az általuk megvalósuló töltésmozgás nem függött a neurokémiai sejtípustól, de függött a legközelebbi asztrocita neuronális szómától mért távolságtól. Ez feltehetően a szóma és azzal kapcsolatba kerülő asztrocita végtalpak száma (és a szóma közelében kialakuló extraszinaptikus glutamát koncentráció) közötti korrelációt is jelenti.

A SIC-ek egyik feltételezett szerepe az egy asztrocita doménben levő neuronok ingerlékenységének szinkronizálása. Több struktúrában ugyanis (thalamus, hippocampus, nucleus accumbens) a szomszédos neuronokon egyszerre jelentek meg SIC-ek. Ilyen szinkronizációt a PPN-ben nem sikerült megfigyelnünk, csakúgy, mint az MNTB neuronok esetén leírták.

A SIC-ekre ható neuromodulációs hatások a PPN-ben egységesnek tűnnek. A kannabinoid, muszkarinos kolinerg, szerotoninerg és orexinerg hatások a SIC aktivitást fokozták, ha kontroll körülmények között az alacsony volt; de gátolták, ha kontroll körülmények között magas volt. Ennek hátterében az áll, hogy az alacsony kiindulási extraszinaptikus glutamátkoncentráció növekedése NMDA receptor aktivációt, míg a magas kiindulási glutamátkoncentráció további növekedése NMDA receptor inaktivációt okoz.

A neuronális ingerlékenység tónusos változásainak abszolút értékével a SIC-ekre gyakorolt kannabinoid, kolinerg és szerotoninerg hatások kis mértékű korrelációt mutattak, míg az orexinerg hatások esetén semmilyen összefüggést nem találtunk. Feltételezhető, hogy az első három hatás esetén az extraszinaptikus glutamátkoncentráció növekedése mind mGluR, mind NMDA receptorokat aktivál és emellett a neuronokra gyakorolt direkt neuromodulációs hatás kisebb, míg az orexin esetén a direkt neuronális depolarizáció erősebb, mint az asztrocita-függő indirekt glutamaterg hatás.

A SIC-ek központi idegrendszeri általános jelentőségét és a jelenség életkorfüggését humán és egér temporalis és parietalis neocortex mintákon vizsgáltuk. A jelentőségén túl azért esett erre az agyterületre a választásunk, mert a műtétből származó humán minták túlnyomó többsége erről az agyterületről származott.

Az egyetlen, humán SIC-ekről szóló közlemény eredményeit mi is meg tudtuk erősíteni, valamint kiegészíteni azzal, hogy a humán SIC-ek amplitúdója kisebb, kinetikai paraméterei lassabbak és a SIC-ek általi töltésmozgás nagyobb volt, mint egéren. A kinetikai paraméterek eltéréseinek hátterében feltehetően a glutamát diffúziós útvonalának különbsége, így a koncentráció időbeli változásának az eltérései állnak.

A SIC-ek időzítésfüggő szerepet játszottak a szinaptikus plaszticitásban. Ha a SIC a kiváltott EPSC-t megelőzte vagy azzal egy időben jelentkezett, a szinaptikus erősség fokozódott. Ha a SIC követte

az EPSC-t, a szinapszis ereje gyengült. Ez a jelenség hasonlít az időzítésfüggő szinaptikus plaszticitás ('spike timing dependent plasticity', STDP) nevű jelenséghez. Az asztrociták hozzájárulása a hosszú távú szinaptikus plaszticitáshoz korábban is ismert volt. Az asztrociták egyes szerzők szerint modulálják azt, mások kutatásai alapján az asztrocita aktivitás egymagában is ki tud LTP-t váltani. A mi eredményeink ehhez képest abban számítanak újnak, hogy az asztrociták aktivitása által kiváltott neuronális depolarizáció mint elektromos jelenség is képes önmagában hosszú távú szinaptikus plaszticitást kiváltani, az asztrocita aktiváció egyéb hatásai (pl. más gliotranszmitterek felszabadítása, ionkoncentráció változások, extraszinaptikus tér térfogatának változásai) nélkül is.

Az asztrociták számos morfológiai és funkcionális paraméterét érinti az öregedés. Az irodalommal összhangban, egér mintákon nem láttunk változást az egyedi SIC-ek paramétereiben. Ezzel szemben, a humán egyedi SIC-ek általi töltésmozgás és a SIC frekvencia is erős csökkenést mutatott az életkorral, és 70 éves korra teljesen eltűnt. Ha a SIC-eket a szinaptikus plaszticitás fiziológiás szabályozó mechanizmusának tekintjük, az időskori kognitív hanyatlás hátterében állhat ez a jelenség. Nagyobb frekvenciában aSIC-ek patológiás körülmények között fordulnak elő. Ha a SIC aktivitás az életkorral csökken, ez magyarázhatja azt a megfigyelést, hogy a cortex kúszó depolarizáció általi sebezhetősége az életkorral csökken.

A főbb megállapítások összegzése

1. A kalciumaktivált kloridcsatornák nélkülözhetőek a szaglóhám neuronok aktivációjában (*Billig és mtsai, 2011*).
2. A muszkarinos kolinerg neuromoduláció a hallópálya több szintjén fejt ki összetett, pre- és posztszinaptikus hatásokat. A posztszinaptikus hatások egy részéért az ún. M-áram a felelős (*Pál és mtsai, 2009*).
3. Az M-áram a muszkarinos kolinerg neuromodulációs hatások egyik fontos közvetítője a PPN-ben. Az M-áram a kolinerg neuronok jellegzetessége és hatékonyan modulálja azok tüzelési sajátságait, a szomszédos neuronok szinkronizációját. A bizonyos agytörzsi magvakban megtalálható KCNQ4 alegység deléciója más ioncsatorna fehérjékben és membránsajátságokban, a cirkadián ritmus szabályozásában és a startle reflexben okoz változásokat (*Bordás és mtsai, 2015; Bayasgalan és mtsai, 2021a; Maamrah és mtsai, 2023*).
4. Az M-áram a nucleus raphe medialis és dorsalis szerotoninerg neuronok között is alcsoportokat határoz meg; azok topográfiaileg elkülönülnek az M-árammal nem rendelkező szerotonerg neuronoktól (*Bayasgalan és mtsai, 2021b*).
5. A PPN-en érvényesülő neuromodulációs hatások hátterének egy részében asztrocita-aktiváció áll. Az asztrocita-aktiváció tónusos

excitabilitás-változásokat és fázisos aktivációt okoz. A tónusos hatások többféle neuromodulációs mechanizmus esetén nagy átfedéseket mutatnak, a fázisos aktiváció változása a neuromodulációs hatás előtt jelen lévő fázisos aktiváció mértékétől függ (Kószeghy és mtsai, 2015; Kovács és mtsai, 2015; 2017; Kovács és Pál, 2017; Kovács és mtsai, 2019).

6. A fázisos asztrocita-függő aktiváció a szinaptikus plaszticitásban játszik szerepet, az életkorral csökken az amplitúdója, 70 év felett eltűnik (Csemer és mtsai, 2023-bírálat alatt).

A disszertáció alapjául szolgáló publikációk

(Az MTMT nyilvános keresői felülete alapján)

Közlemények száma: 15 (ebből bírálat alatti: 1, D1: 5, Q1: 6; Q3: 3)

Független hivatkozások száma: 379.

Utolsó szerzős közlemények száma: 11 (ebből bírálat alatti: 1, D1: 3,

Q1: 4; Q3: 3) Független hivatkozások száma: 64.

Első/egyetlen szerzős közlemények száma: 3 (ebből D1: 1, Q1: 2)

Független hivatkozások száma: 122.

Társszerzős közlemények száma: 1 (ebből D1: 1) Független

hivatkozások száma: 193.

Csemer A, Kovács A, Maamrah B, Pocsai K, Korpás K, Klekner Á, Szücs P, Nánási PP, Pál B (2023) Astrocyte- and NMDA receptor-dependent slow inward currents differently contribute to synaptic plasticity in an age dependent manner in mouse and human neocortex. Under revision in Aging Cell.

Maamrah B, Pocsai K, Bayasgalan T, Csemer A, Pál B (2023) KCNQ4 potassium channel subunit deletion leads to exaggerated acoustic startle reflex in mice. *Neuroreport* 34(4): 232-237. *Q3*

Bayasgalan T, Stupniki S, Kovács A, Csemer A, Szentesi P, Pocsai K, Dionisio L, Spitzmaul G, Pál B. (2021) Alteration of mesopontine cholinergic function by the lack of KCNQ4 subunit. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 15: 707789. *Q1, összes idéző: 1; független idéző: 1*

Bayasgalan T, Csemer A, Kovacs A, Pocsai K, Pal B (2021) Topographical organization of M-current on dorsal and median raphe serotonergic neurons. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 15: 614947. *Q1, összes idéző: 1; független idéző: 1*

Baksa B, Kovács A, Bayasgalan T, Szentesi P, Kőszeghy Á, Szücs P, Pál B (2019) Characterization of functional subgroups among genetically identified cholinergic neurons in the pedunclopontine nucleus. *Cell Mol Life Sci.* 76(14): 2799-2815. *D1, összes idéző: 8; független idéző: 4*

Kovács A; Baksa B; Bayasgalan T; Szentesi P; Csemer A; Pál B (2019) Orexinergic actions modify occurrence of slow inward currents on neurons in the pedunclopontine nucleus. *Neuroreport* 30(14): 933-938. *Q3*

Pál B (2018) Involvement of extrasynaptic glutamate in physiological and pathophysiological changes of neuronal excitability. *Cell Mol Life Sci.* 75(16): 2917-2949. *D1, összes idéző: 91; független idéző: 91*

Kovács A, Pál B (2017) Astrocyte-dependent slow inward currents (SICs) participate in neuromodulatory mechanisms in the pedunculo pontine nucleus (PPN). *Frontiers in Cellular Neuroscience* 11(16): 1-16. *Q1, összes idéző: 19; független idéző: 16*

Kovács A, Bordás Cs, Bíró T, Hegyi Z, Antal M, Szűcs P, Pál B (2017) Direct presynaptic and indirect astrocyte-mediated mechanisms both contribute to endocannabinoid signaling in the pedunculo pontine nucleus of mice. *Brain Structure Function* 222(1): 247-266. *D1, összes idéző: 16; független idéző: 12*

Bordas C, Kovacs A, Pál B (2015) The M-current contributes to high threshold membrane potential oscillations in a cell type-specific way in the pedunculo pontine nucleus of mice. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 9: 121; 92015. *Q1, összes idéző: 19; független idéző: 14*

Kovács A, Bordás C, Pál B (2015) Cholinergic and endocannabinoid neuromodulatory effects overlap on neurons of the pedunculo pontine nucleus of mice. *Neuroreport* 26(5): 273-278. *Q3, összes idéző: 7; független idéző: 4*

Kőszeghy Á, Kovács A, Bíró T, Szűcs P, Vince J, Hegyi Z, Antal M, Pál B (2015) Endocannabinoid signaling modulates neurons of the pedunculo pontine nucleus (PPN) via astrocytes. *Brain Structure Function* 220(5): 3023-3041. *D1, összes idéző: 21; független idéző: 12*

Pál B (2015) Astrocytic actions on extrasynaptic neuronal currents. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 9: 474. *Q1, összes idéző: 26; független idéző: 24*

Billig G, Pál B, Fidzinski P, Jentsch T (2011) Ca²⁺-activated Cl⁻ currents are dispensable for olfaction. *Nat. Neurosci.* 14 (6), 763-769. *D1, összes idéző: 195; független idéző: 193*

Pál B., Kőszeghy Á., Pap P., Bakondi G., Pocsai K., Szűcs G., Rusznák Z. (2009) Targets, receptors and effects of muscarinic neuromodulation on giant neurones of the rat dorsal cochlear nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 30 (5), 769-782. *Q1, összes idéző: 10; független idéző: 7*

A jelölt tudományos publikációi

(Az MTMT nyilvános keresői felülete alapján)

Közlemények száma: 41 (ebből D1: 14, Q1: 13; Q2: 7; Q3: 3; Q4: 1; nem besorolható: 3) Független hivatkozások száma: 936.

Utolsó szerzős közlemények száma: 10 (ebből D1: 3, Q1: 4; Q3: 3) Független hivatkozások száma: 92.

Első/egyetlen szerzős közlemények száma: 7 (ebből D1: 3, Q1: 2; Q2:1; Q4: 1) Független hivatkozások száma: 162

Társszerzős közlemények száma: 24 (ebből D1: 8, Q1: 7; Q2:6; nem besorolható: 3) Független hivatkozások száma: 682

Maamrah B, Pocsai K, Bayasgalan T, Csemer A, Pál B (2023) KCNQ4 potassium channel subunit deletion leads to exaggerated acoustic startle reflex in mice. *Neuroreport* 34(4): 232-237. *Q3*

Gönczi M, Csemer A, Szabó L, Sztretye M, Fodor J, Pocsai K, Szenthe K, Keller-Pintér A, Köhler ZM, Nánási P, Szentandrassy N, Pál B, Csernoch L (2022) Astaxanthin exerts anabolic effects via pleiotropic modulation of the excitable tissue. *Int.J. Mol.Sci-* 23(2):917. *Q1*

Bayasgalan T, Stupniki S, Kovács A, Csemer A, Szentesi P, Pocsai K, Dionisio L, Spitzmaul G, Pál B. (2021) Alteration of mesopontine cholinergic function by the lack of KCNQ4 subunit. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 15: 707789. *Q1, összes idéző: 1; független idéző: 1*

Bayasgalan T, Csemer A, Kovacs A, Pocsai K, Pal B (2021) Topographical organization of M-current on dorsal and median raphe serotonergic neurons. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 15: 614947. *Q1, összes idéző: 1; független idéző: 1*

Dautan D, Kovacs A, Bayasgalan T, Diaz-Acevedo MA, Pal B, Mena-Segovia J (2021) Modulation of motor behavior by the mesencephalic locomotor region. *Cell Reports* 36(8): 109594. *DI, összes idéző: 21; független idéző: 21*

Baksa B, Kovács A, Bayasgalan T, Szentesi P, Kőszeghy Á, Szücs P, Pál B (2019) Characterization of functional subgroups among genetically identified cholinergic neurons in the pedunculo pontine nucleus. *Cell Mol Life Sci.* 76(14): 2799-2815. *DI, összes idéző: 8; független idéző: 4*

Kovács A; Baksa B; Bayasgalan T; Szentesi P; Csemer A; Pál B (2019) Orexinergic actions modify occurrence of slow inward currents on neurons in the pedunculo pontine nucleus. *Neuroreport* 30(14): 933-938. *Q3*

Pal B (2019) Response to "Concerns regarding Baksa et al., *Cell Molec. Life Sci.*, 2019." by Edgar Garcia-Rill and Francisco J. Urbano (CMLS-D-18-0156R1) *Cell Mol Life Sci* 76(23): 4583-4587. *DI*

Hegyí Z, Oláh T, Kőszeghy Á, Piscitelli F, Holló K, Pál B, Csernoch L, Di Marzo V, Antal M (2018) CB1 receptor activation induces intracellular Ca²⁺ mobilization and 2-arachidonoylglycerol release in rodent spinal cord astrocytes. *Sci Reports* 8: 10562. *DI, összes idéző: 37; független idéző: 35*

Pál B (2018) Involvement of extrasynaptic glutamate in physiological and pathophysiological changes of neuronal excitability. *Cell Mol Life Sci.* 75(16): 2917-2949. *DI, összes idéző: 91; független idéző: 91*

Bardóczi Z, Pál B, Kőszeghy Á, Wilhelm T, Watanabe M, Záborszky L, Liposits Z, Kalló I (2017) Glycinergic input to the mouse basal forebrain cholinergic neurons. *J Neurosci.* 37(39): 9534-9549. *DI, összes idéző: 7; független idéző: 6*

Goncz M, Nagy D, Bai P, Pal B, Kis G, Antal M, Csernoch L (2017) Role of TASK-3 channels in the mitochondria of melanoma cells. *Acta Physiologica* 221(S713): 130-131.

Kovács A, Pál B (2017) Astrocyte-dependent slow inward currents (SICs) participate in neuromodulatory mechanisms in the pedunclopontine nucleus (PPN). *Frontiers in Cellular Neuroscience* 11(16): 1-16. *Q1, összes idéző: 19; független idéző: 16*

Kovács A, Bordás Cs, Bíró T, Hegyi Z, Antal M, Szücs P, Pál B (2017) Direct presynaptic and indirect astrocyte-mediated mechanisms both contribute to endocannabinoid signaling in the pedunclopontine nucleus of mice. *Brain Structure Function* 222(1): 247-266. *D1, összes idéző: 16; független idéző: 12*

Malina T, Krecsák L, Westerström A, Szemán-Nagy G, Gyémánt Gy, M-Hamvas M, Rowang E, L Harvey A, Warrell D, Pál B, Rusznák Z, Vasas G (2017) Individual variability of venom from the European adder (*Vipera berus berus*) from one locality in Eastern Hungary. *Toxicon* 135: 59-70. *Q2, összes idéző: 20; független idéző: 19*

Bordas C, Kovacs A, Pal B (2015) The M-current contributes to high threshold membrane potential oscillations in a cell type-specific way in the pedunclopontine nucleus of mice. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 9: 121; 92015. *Q1, összes idéző: 19; független idéző: 14*

Kovács A, Bordás C, Pál B (2015) Cholinergic and endocannabinoid neuromodulatory effects overlap on neurons of the pedunclopontine nucleus of mice. *Neuroreport* 26(5): 273-278. *Q3, összes idéző: 7; független idéző: 4*

Kőszeghy Á, Kovács A, Bíró T, Szűcs P, Vince J, Hegyi Z, Antal M, Pál B (2015) Endocannabinoid signaling modulates neurons of the pedunculo pontine nucleus (PPN) via astrocytes. *Brain Structure Function* 220(5): 3023-3041. *DI, összes idéző: 21; független idéző: 12*

Pál B (2015) Astrocytic actions on extrasynaptic neuronal currents. *Frontiers in Cellular Neurosci.* 9: 474. *Q1, összes idéző: 26; független idéző: 24*

Petzold A, Valencia M, Pal B, Mena-Segovia, J (2015) Decoding brain state transitions in the pedunculo pontine nucleus: cooperative phasic and tonic mechanisms. *Frontiers in Neural Circuits* 9:68. *Q1, összes idéző: 29; független idéző: 23*

Olah A, Toth BI, Borbiri I, Sugawara K, Szollosi AG, Czifra G, Pal B, Ambrus L, Klopper J, Camera E, Ludovici M, Picardo M, Voets T, Zouboulis CC, Paus R, Bíró T (2014) Cannabidiol exerts sebostatic and antiinflammatory effects on human sebocytes. *J Clin Invest* 124(9): 3713-3724. *DI, összes idéző: 157; független idéző: 127*

Rusznak Z, Pal B, Koszeghy A, Fu Y, Szucs G, Paxinos G (2013) The hyperpolarization-activated non-specific cation current (I_h) adjusts the membrane properties, excitability, and activity pattern of the giant cells in the rat dorsal cochlear nucleus. *Eur J Neurosci.* 37(6): 876-890. *Q1, összes idéző: 10; független idéző: 10*

Szabo L, Szentandrassy N, Kistamas K, Hegyi B, Ruzsnavszky F, Vaczi K, Horvath B, Magyar J, Banyasz T, Pal B, Nánási P (2013) Effects of tacrolimus on action potential configuration and transmembrane ion currents in canine ventricular cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 386(3): 239-246. *Q1, összes idéző: 6; független idéző: 3*

Bányász T, Bíró T, Cseri J, Csernoch L, Fodor J, Jóna I, Lukács B, Magyar J, Nánási PP, Pál B, Rusznák Z, Szentesi P, Szigeti G, Szűcs G (2012) *Physiological practice: A laboratory guide* Debrecen, Debrecen University Press

Lontay B, Pál B, Serfőző Z, Kőszeghy Á, Szűcs G, Rusznák Z, Erdődi F (2012) Protein phosphatase-1M and Rho-kinase affect exocytosis from cortical synaptosomes and influence neurotransmission at a glutamatergic giant synapse of the rat auditory system. *J. Neurochem.* 123 (1), 84-99. *Q1, összes idéző: 11; független idéző: 5*

Billig G, Pál B, Fidzinski P, Jentsch T (2011) Ca²⁺-activated Cl⁻ currents are dispensable for olfaction. *Nat. Neurosci.* 14 (6), 763-769. *D1, összes idéző: 195; független idéző: 193*

Szabó L, Rusznák Z, Szűcs G, Asztalos L, Pál B (2010) Effect of tacrolimus on the excitatory synaptic transmission between the parallel fibers and pyramidal cells in the rat dorsal cochlear nucleus. *Transplant. Proc.* 42 (6), 2339-2343. *Q2, összes idéző: 2; független idéző: 2*

Kőszeghy Á, Pál B, Pap P, Pocsai K, Nagy Z, Szűcs G, Rusznák Z (2009) Purkinje-like cells of the rat cochlear nucleus: a combined functional and morphological study. *Brain Res.* 1297 57-69. *Q2, összes idéző: 6; független idéző: 5*

Pál B, Kőszeghy Á, Pap P, Bakondi G, Pocsai K, Szűcs G, Rusznák Z (2009) Targets, receptors and effects of muscarinic neuromodulation on giant neurones of the rat dorsal cochlear nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 30 (5), 769-782. *Q1, összes idéző: 10; független idéző: 7*

Elfant D, Pál B, Emptage N, Capogna M (2008) Specific inhibitory synapses shift the balance from feedforward to feedback inhibition of hippocampal CA1 pyramidal cells. *Eur. J. Neurosci.* 27 (1), 104-113. *Q1, összes idéző: 71; független idéző: 67*

Rusznák Z, Bakondi G, Pocsai K, Pór Á, Kosztka L, Pál B, Nagy D, Szűcs G.(2008) Voltage-gated potassium channel (Kv) subunits expressed in the rat cochlear nucleus. *J. Histochem. Cytochem.* 56 (5), 443-465. *D1, összes idéző: 27; független idéző: 24*

Pocsai K, Pál B, Pap P, Bakondi G, Kosztka L, Rusznák Z, Szűcs G. (2007) Rhodamine backfilling and confocal microscopy as a tool for the unambiguous identification of neuronal cell types: a study of the neurones of the rat cochlear nucleus. *Brain Res. Bull.* 71 (5), 529-539. *Q2, összes idéző: 13; független idéző: 7*

Szappanos H, Szigeti G, Pál B, Rusznák Z, Szűcs G, Rajnavölgyi É, Balla J, Balla G, Nagy E, Leiter É, Pócsi I, Hagen S, Meyer V, Csernoch L (2006) The antifungal protein AFP secreted by *Aspergillus giganteus* does not cause detrimental effects on certain mammalian cells. *Peptides.* 27 (7), 1717-1725. *Q2, összes idéző: 46; független idéző: 38*

Kecskeméti V, Rusznák Z, Riba P, Pál B, Wagner R, Harasztosi C, Nánási P, Szűcs G.(2005) Norfluoxetine and fluoxetine have similar anticonvulsant and Ca channel blocking potencies. *Brain Res. Bull.* 67 (1-2), 126-132. *Q2, összes idéző: 37; független idéző: 36*

Pál B, Pór Á, Pocsai K, Szűcs G, Rusznák Z. (2005) Voltage-gated and background K⁺ channel subunits expressed by the bushy cells of the rat cochlear nucleus. *Hear. Res.* 199 (1-2), 57-70. *Q2, összes idéző: 21; független idéző: 16*

Price C, Karayannis T, Pál B, Capogna M. (2005) Group II and III mGluRs-mediated presynaptic inhibition of EPSCs recorded from hippocampal interneurons of CA1 stratum lacunosum moleculare. *Neuropharmacology.* 49 (Suppl.1.), 45-56. *D1, összes idéző: 31; független idéző: 31*

Rusznák Z, Pocsai K, Pál B, Pap P, Csernoch L, Szűcs G. (2005) Time-dependent changes of the TASK-3 channel expression pattern of melanoma cells maintained in tissue culture: is there a connection between cell-division and TASK-3 expression? *J. Physiol.-London*. 567 (Suppl.), 3P-4P.

Szappanos H, Szigeti G, Pál B, Rusznák Z, Szűcs G, Rajnavölgyi É, Balla J, Balla G, Nagy E, Leiter É, Pócsi I, Marx F, Csernoch L (2005) The *Penicillium chrysogenum*-derived antifungal peptide shows no toxic effects on mammalian cells in the intended therapeutic concentration. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 371 (2), 122-132. *Q1, összes idéző: 47; független idéző: 25*

Pál B, Rusznák Z, Harasztosi C, Szűcs G (2004) Depolarization-activated K⁺ currents of the bushy neurones of the rat cochlear nucleus in a thin brain slice preparation. *Acta Physiol Hung.* 91 (2), 83-98. *Q4, összes idéző: 7; független idéző: 3*

Rusznák Z, Pocsai K, Kovács I, Pór Á, Pál B, Bíró T, Szűcs G (2004) Differential distribution of TASK-1, TASK-2 and TASK-3 immunoreactivities in the rat and human cerebellum. *Cell. Mol. Life Sci.* 61 (12), 1532-1542. *D1, összes idéző: 38; független idéző: 33*

Pál B, Pór Á, Szűcs G, Kovács I, Rusznák Z (2003) HCN channels contribute to the intrinsic activity of cochlear pyramidal cells. *Cell. Mol. Life Sci.* 60 (10), 2189-2199. *D1, összes idéző: 26; független idéző: 21*