

**AGYKÉRGI FOKÁLIS EPILEPTIKUS TEVÉKENYSÉG
TANULMÁNYOZÁSA PATKÁNYBAN**

DOKTORI TÉZISEK

BODA BERNADETT

József Attila Tudományegyetem
Szeged 1997

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS

2. ANYAG ÉS MÓDSZÉR

- 2.1. Aminopiridin epilepszia modell patkány agykéregben
- 2.2. Intracelluláris feszültség elvezetés; neuronok elektromos jellemzőinek és szinaptikus válaszainak elemzése
- 2.3. Substantia nigra ingerlés
- 2.4. Kiváltott potenciál elvezetés és átlagolás
- 2.5. Immunhisztokémia
- 2.6. Nitrogén monoxid szintáz gátlás in vivo
- 2.7. Aminopiridin epilepszia modell fejlődő patkány agykéregben
- 2.8. Statisztikai értékelés

3. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

- 3.1. Aminopiridin görcsmodell jellemzői patkány agykéregben
- 3.2. Tükör fókus kialakulásának sejtszintű jellemzői
- 3.3. Substantia nigra szerepe a görcstevékenység keletkezésében és terjedésében
- 3.4. Uretán altatás hatása az epileptikus tevékenységre
- 3.5. C-fos aktiváció az epileptikus tevékenység során
- 3.6. Nitrogén monoxid szintézis gátlás hatása agykérgi görcstevékenységre
- 3.7. Fiatal patkányok elektrokortikográfiás jellemzői fiziológiás körülmények között és aminopiridin jelenlétében

4. ÖSSZEFOGLALÁS - EREDMÉNYEK JELENTŐSÉGE

5. IRODALOMJEGYZÉK

- 5.1. Az értekezés tárgyköréből megjelent és közlésre benyújtott saját közlemények
- 5.2. Egyéb közlemények
- 5.3. Általános irodalomjegyzék

BEVEZETÉS

Az epilepszia a második leggyakoribb ideggyógyászati megbetegedés, a földön mintegy 40 millió embert érint. Periódikusan visszatérő rohamokkal (konvulziókkal) jelentkező betegség, melyet az agykéreg nagyszámú idegsejtjének együttes kisülése eredményez. Az epilepszia nem egységes megbetegedés, részben genetikus tényezők, részben az agyat érő külső behatások hozzák létre. A roham változatos motoros, szenzoros, vegetatív és pszichés tünetekkel jelentkezik. Az epilepszia elnevezés a görög „hirtelen megtámad rátör” - επιλαμβάνειν - (epilambanein) igéből ered. Az epilepszia gyógyítására ma már nagyszámú antikonvulzív anyag, valamint műtéti megoldás áll rendelkezésre. Mindezek ellenére a betegek egy jelentős százalékában egyik megoldás sem vezet eredményre és mind a gyógyszeres kezelés, mind az operáció számos nemkívánatos mellékhatás okozója.

Az epilepszia keletkezésének és terjedésének mechanizmusai komplexek, több szintű jelenségcsoportra oszthatók és nagy részük még ma is ismeretlen. Az epilepszia kutatásban az állatmodellek és in vitro kísérletek bevezetése lehetővé tesz neurokémiai, elektrofiziológiai és morfológiai megközelítéseket sejt és molekuláris szinten, valamint neuronhálózatok szintjén egyaránt. Állatkísérletes vizsgálatokra különböző genetikai, elektrofiziológiai, fizikai és kémiai eredetű epilepszia modellek születtek, melyek az epileptikus tevékenység más és más jellemzőivel rendelkeznek (Löscher és Schmidt, 1988). Mindezek elősegítik az epileptikus jelenségek kialakulásának és terjedésének tanulmányozását és megértését, valamint új terápiás lehetőségek kidolgozásához vezetnek. Másrészt a patológiás működések alaposabb megismerése mellett a fiziológias jelenségek megértésében is segítenek (Cain, 1989; Goddard, 1976).

Régről ismert feltételezés, hogy az epilepszia az ingerület és gátlás fiziológiai egyensúlyának megbomlására vezethető vissza (Delgado-Escueta és mtsai, 1986). A fokozott ingerület jellemzője a nagyszámú neuron együttes kisülése. Ezt a nagyfokú szinkronizációt paradox módon egyes gátlási folyamatok (kollaterális gátlás) fokozódása is elősegítheti (Engel, 1987). Ugyanakkor csökken a gátlás hatékonysága egyes gátló interneuronok fokozott pusztulásának következtében (Maglóczki és Freund, 1993). Mindezek mellett nem-

szinaptikus folyamatok részvétele (antidróóm aktiváció, extracelluláris tér ionösszetétel megváltozása, stb.) teszi komplexé az epilepszia kialakulásának, fennmaradásának és terjedésének mechanizmusait (Dichter és Ayala, 1987).

Az epileptikus agyi tevékenység kiterjedten tanulmányozott formája az úgynevezett interiktális tüske kisülés. Az interiktális tüske kisülés ideje alatt egy szokatlanul nagy membránpotenciál eltolódást figyeltek meg sejtszinten, melyet paroxizmális depolarizációs shiftnek (PDS) neveztek el. A klinikai gyakorlatban gyakoribb iktális tevékenység kevésbé tanulmányozott, így sejtszintű mechanizmusairól kevés adat áll rendelkezésre. Különösen indokolt a másodlagos epileptikus fókuszok vizsgálata, melyekről az irodalomban nem sok szó esik. A kísérletes tüskör fókusz óriási előnye, hogy az elsődleges fókusz kiváltó tényezőktől mentes, tisztán epileptikus neuronpopuláció, mely segítséget ad a humán epilepsziás működészavar jobb megértéséhez és bizonyos jelenségei modellül szolgálhatnak a tanulás és neuronális plaszticitás egyszerűbb folyamataihoz.

Az agykérgi epileptikus neuronkörök keletkezésében és terjedésében kéregalatti struktúráknak is bizonyították a szerepét. Nagy figyelem fordult a gátlási folyamatok vizsgálata szempontjából a bazális ganglionokra (Dean és Gale, 1989; Morimoto és Goddard, 1987). Az ellentmondásos irodalmi adatok és a gátló neuronkörök lehetséges paradox szerepe további vizsgálatokra készítetett bennünket ezen a területen.

Az epileptikus jelenségek szubcelluláris kutatása kiegészült a szignál transzdukció újonnan felfedezett molekuláinak vizsgálatával. Így például az érdeklődés középpontjába került a gyors-korai gének szerepének tanulmányozása a központi idegrendszer működésében (Herdegen és mtsai., 1993). Az általunk tanulmányozott aminopiridin görcsmodell kitűnő lehetőséget biztosított a másodlagos epileptikus fókusz aktivációja és a korai génaktiváció kapcsolatának vizsgálatára.

Egyel korábbi szinten a másodlagos messengerek között a gáz halmazállapotú nitrogén monoxid (NO) újdonságot jelentett a neuronok térbeli kommunikációs lehetőségeiben. A NO a központi idegrendszerben argininből képződik a Ca^{2+} /calmodulin függő nitrogén monoxid szintáz enzim segítségével, melyet főleg a glutamát receptorok aktiválnak. Az enzim arginin analógokkal gátolható. Irodalmi adatok alapján fontos szerepe lehet a neuronális plaszticitás folyamataiban (Garthwaite, 1991) és feltételeztük, hogy az epileptikus tevékenység abnormális szinkronizációjában is. A számos, sokszor

ellentmondásos publikációban nem állt rendelkezésre adat a NO hiányának vizsgálatáról az elsődleges és másodlagos neokortikális epileptikus aktivitás kialakulásában és terjedésében.

Klinikai adatok szerint az epilepsziás tünetek megjelenése gyermekkorban gyakoribb, a betegség kialakulásának körülményei, agyi megnyilvánulási formái és gyógyszeres kezelhetősége is sok tekintetben különbözik a felnőttkorban észleltektől. Az idegrendszer fejlődésének részleteiről egyre több adat áll rendelkezésre, azonban még kevés in vivo kísérleti eredmény ismert a fiatal agykéreg görcskészségét illetően.

Mindezek alapján a tézis témájául szolgáló kísérletekben az alábbi kérdésekre kerestük a válaszokat:

- 1. Mik az elektrofiziológiai jellemzői az aminopiridin (Ap) által kiváltott epileptikus tevékenységnek patkány agykéregben?*
- 2. Milyen sejtszintű események zajlanak le az Ap-nel kiváltott tevékenység idején a tükrő fókusz elektrofiziológiailag azonosított neuronjaiban?*
- 3. Mi a substantia nigra pars reticulata szerepe az epileptikus tevékenység kialakulásában és terjedésében?*
- 4. Uretán altatás hogyan befolyásolja az Ap által kiváltott görcstevékenységet?*
- 5. Történik-e korai génaktiváció és - ha igen - milyen mértékben és mely agyi struktúrákban az Ap-nel kiváltott események idején?*
- 6. A NO szintáz gátlása in vivo kísérletekben hogyan befolyásolja az epileptiform aktivitás kialakulását és terjedését?*
- 7. A fejlődésben levő, fiatal patkányokban hogyan változik az alap elektrokortikográfiás tevékenység és milyen abnormalis tevékenységet alakít ki az agykérgi Ap kezelés?*

ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Aminopiridin epilepszia modell patkányban

Felnőtt Wistar patkányokat (240-280 g) intraperitoneálisan Na-pentobarbitállal altattunk (45 mg/testsúly kg). A tracheába műanyag kanült ültettünk és a spontán légzés mellett a kísérlet során biztosítottuk az állat 37°C-os testhőmérsékletét. Az állat fejét sztereotaxiás készülékben rögzítettük, majd négy ponton fogászati fúróval megnyitottuk a koponyát: két ponton a szomatoszenzoros kéreg fölött a két hemiszféra identikus pontján, a másik két helyen ezektől 5 mm-re posterior irányban. Az elsődleges epileptikus fókusz (primer fókusz: Pf) kialakítására a szomatoszenzoros kéreg felszínére, a dura mater eltávolítása után Ap kristálykát helyeztünk. Elektrokortikogramot (ECoG) négy gömbvégű ezüst elektród segítségével vezettünk el az Ap felhelyezés után legalább egy órán át. Az indifferens elektródot a frontális koponyacsonton helyeztük el. A jeleket nyolc csatornás elektroencefalográffal rögzítettük, 30 Hz-es felülvágó és 0.1 Hz-es alulvágó szűrő alkalmazása mellett.

Egy kísérletsorozatban intraperitoneálisan uretánnal altattuk az állatokat, különböző koncentrációban az uretán dózis-hatás görbe felvételéhez (1.0-1.75 g/kg).

2.2. Intracelluláris feszültség elvezetés; neuronok elektromos jellemzőinek és szinaptikus válaszainak elemzése

Az előzőekben leírt műtéti előkészítés után farokvéna kanülön keresztül történő további altató adagolásával biztosítottuk a folyamatos altatást. A mikroelektródás elvezetést zavaró pulzáció csökkentésére megnyitottuk a ciszterna magnát. A felszíni makroelektródás elvezetések mellett intracelluláris elvezetéshez Narashige hidraulikus mikromanipulátorral a Pf-szal ellenoldali kéregbe szűrt üvegelektrodákat használtunk. Az elektródok boroszilikát omega-dot üvegapillárisokból készültek, 1 M-os K-citrát oldattal töltöttük meg őket. A 25-80 Mohm ellenállású mikroelektródok Ag-AgCl dróton keresztül kapcsolódtak a nagy bemenő ellenállású, egyenáramú erősítőrendszerhez, mely hídáramkört is tartalmazott. Adatainkat további kiértékeléshez 4 csatornás mágnesrögzítőn, majd AD-DA konverteren keresztül laboratóriumi képmagnón rögzítettük. A nyugalmi membránpotenciál értékét a

mikroelektroddal mért extracelluláris és intracelluláris DC szint különbségből állapítottuk meg. A membránellenállás mérését ismert áraminjekciók (0.2-1 nA, 50 ms, 1 Hz. 5-10 pulzus) alkalmazásával a híd kiegyensúlyozás módszere alapján végeztük. Kiváltott válaszokat a bajusz régióba szúrt bipoláris tűelektrodokon keresztül adott négyszög impulzusokkal nyertünk (3-5 V, 0.2 ms, 0.3 Hz).

2.3. Substantia nigra ingerlés

A substantia nigra pars reticulata (Snpr) ingerlése az Ap kristály felrakásával egyidőben vagy más kísérletekben az epileptikus tevékenység kialakulása után indult. A bipoláris fém ingerlő elektródot sztereotaxiás készülék segítségével szúrtuk be a Pf-al ellenoldali Snpr-ba Paxinos és Watson patkány agy sztereotaxiás atlasz (1984) koordinátái alapján: 5.3 mm-re posterior a bregmához viszonyítva, 2.4 mm laterálisan és 8.2 mm mélyen a koponya felszínétől mérve. A Snpr ingerlés paramétereit előkísérletek alapján a következőképpen választottuk meg: 5 V, 0.5 ms, 20 Hz. A kísérletek végén az ingerlő elektród helyének ellenőrzése céljából elektromos léziót (0.3-0.7 mA, 15-30 sec) hajtottunk végre. Az agyat metilénkékkel festettük meg és az elektród helyét szövettani sorozatmetszeteken azonosítottuk.

2.4. Kiváltott potenciál elvezetés és átlagolás

A fentebb leírt módon megnyitott szomatoszenzoros kéreg felszínéről kiváltott potenciálokat vezettünk el. Kiváltott potenciálokat a bajusz régió bipoláris tűelektroddal történő elektromos ingerlésével nyertünk (3-5 V, 0.1-0.4 ms, 0.2-1 Hz). Az ingerléssel ellentétes oldalról tűelektroddal (ellenállása 1-5 Mohm) vezettük el a kiváltott potenciálokat. Az elektromos jeleket AC erősítőn keresztül oszcilloszkópra és számítógépre vittük. Húsz kiváltott potenciált átlagoltunk és XY-íróval kírattuk. Ap-nel kezelt és Snpr nem ingerelt (kontroll) állatokban regisztrált értékeket hasonlítottuk össze Ap-nel kezelt és Snpr ingerelt állatokban mért értékekkel.

2.5. Immunhisztokémia

A Szent-Györgyi Albert Orvostudományi Egyetem Anatómiai Intézetével együttműködve, immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk a c-fos expressziót az agy parvalbumin vagy calbindin tartalmú sejtjeiben az epileptikus tevékenység kialakítása után.

A szokásos elektrofiziológiai elvezetések befejezése után egy órával 4 % paraformaldehid és 0.1 M foszfát puffer keverékével perfundáltuk az állatokat. E kísérletsorozatban kontrollként altatott, Ap-nel nem kezelt állatokat használtunk. Egy éjszakai utófixálás után 40 µm-es vibratómos metszetek készültek az immunhisztokémiai vizsgálatokhoz. A metszeteket különböző módszerekkel inkubáltuk az elsődleges és másodlagos antitestekkel. A kettős immunhisztokémiai metszetek minőségi elemzését sejtszámlálási és statisztikai módszerek egészítették ki (6).

2.6. Nitrogén monoxid szintáz gátlás

Az állatok egyik csoportja krónikus szisztémás L-nitro-N-arginin (NA) kezelésben részesült. Négy napon keresztül, naponta kétszer 25 mg/kg dózisban intraperitóneálisan (ip.) NA-t injektáltunk. Az állatok másik csoportjában 30 perccel az Ap kéregre történő felhelyezése előtt a Pf oldali laterális agykamrába injektáltunk 5 µl, 2 mM koncentrációjú NA-t mesterséges liquor folyadékban oldva. Az intracerebroventrikuláris (icv.) injektálás sztereotaxiás koordinátái a következők voltak: 0.92 mm posterior a bregmához viszonyítva, 1.6 mm laterálisan, 3.5 mm mélyen a koponya felszínétől (Paxinos és Watson, 1984).

Egy másik kísérletsorozatban N-metil-D-aszpartát (NMDA) glutamát receptor antagonistát, 2-amino-5-foszfo-valeriánsavat (APV) helyeztünk 25 mM-os oldatban szűrőpapíron a Pf területére. Az APV kezelést 10 perccel az Ap felhelyezése előtt indítottuk és az elektrofiziológiai elvezetések folyamán végig jelen volt. Végül a két antagonistát (APV és NA) együttes akut alkalmazásának hatását vizsgáltuk az Ap epileptikus tevékenységen.

2.7. Aminopiridin modell kispatkányokban

Születést követő 9. naptól 21. napig végeztünk elektrokortikográfiás elvezetéseket fiziológiás körülmények között és Ap jelenlétében a fentebb említett módon.

2.8. Statisztikai értékelés

Az elektrofiziológiai jelenségek amplitúdó, frekvencia és időbeli jellemzőit a kísérletek után mértük és elemeztük. Szignifikancia vizsgálatra egypróbás Student t-tesztet használtunk. Az egyes kísérletsorozatok eredményei közti különbséget szignifikánsnak tekintettük, ha $P < 0.05$ volt.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

3.1. Aminopiridin görcsmo­dell jellemzői patkányban

Az első fokális rohamok az Ap kristály felhelyezése után 5 ± 2 perccel jelentkeztek. Ezután hasonló ECoG-s mintázattal 83 ± 8.7 másodperc időtartamú iktális periódusok követték egymást (átlagosan 21 ± 1.9 /óra gyakorisággal). Az interiktális szakaszokban az Ap-nel nem kezelt állatokéhoz hasonló ECoG volt megfigyelhető. Az interhemiszférális kapcsolatok révén az állatok 80 %-ában a Pf-szal ellenoldali homológ kérgi területen másodlagos görcstevékenység (tükör fókus: Tf) alakult ki. A periódikus rohamokon kívül néhány állatban (18 %) status epilepticus jellegű görcstevékenységet észleltünk. Néhány esetben (17 %) az epileptikus aktivitás az egész agykéregre kiterjedt, generalizálódott.

A másodlagos epileptogenezis során „Pf szakasznak” neveztük azt a rövid periódust, amikor még nem alakult ki a Tf. A következő a „Pf+Tf szakasz” volt, ahol a Tf epileptikus tevékenysége mind időben, mind mintázatban közel megegyező volt Pf-szal. Kísérleteink 10%-ában a Tf bizonyos mértékű önállósodását figyeltük meg, ezt a periódust „Pf/Tf szakasznak” neveztük. A Tf függetlenedésére utalt, ha a Pf-szal nem szinkron módon tüzelt és az epileptikus rohamok indulása függetlenné vált Pf-étől, vagy a két fókus felváltva tüzelt.

Mindkét fókus epileptikus ECoG-s tevékenységében három különböző frekvenciájú, amplitúdójú és hullámformájú mintázatot figyeltünk meg, melyeket A, B, C betűkkel jelöltünk. Az A mintázatot 10-15 Hz-es kétfázisú, növekvő amplitúdójú (200-700 μ V) ritmikus tüskék jellemezték, a B mintázatot 4-9 Hz-es pozitív, egyfázisú tüskék alkották (900-1000 μ V), míg C mintázat 1-3 Hz-es tüske-hullám csoportokra tagolódott (850-950 μ V).

Fenti adataink bizonyítják, hogy az Ap alkalmas agykérgi ritmikus iktális tevékenység kiváltására és kísérletes elemzésére in vivo körülmények között patkányban (1-6). Modellünk ugyanakkor alkalmas másodlagos epileptikus tevékenység kialakulásának vizsgálatára is. A paroxizmális tevékenység ellenoldali homológ területekre történő terjedése kallózális, komisszúrális és egyéb szubkortikális pályákon keresztül történik. Patkány

agykéregben a nagy piramis sejtek axonja kétfelé ágazik, az egyik a corpus callosumhoz csatlakozik, a másik a striátum, a thalamusz vagy egyéb szubkortikális struktúrák felé halad. A Tf kitűnő lehetőséget biztosít minden kémiai anyagtól és fizikai beavatkozástól mentes epileptikus aktivitás elemzésére, mivel az agy belső mechanizmusai révén alakul ki.

3.2. Tükör fókuszkialakulásának sejt szintű jellemzői

A neuronok membránpotenciálját, membránellenállását, spontán tüzelési aktivitását, az akciós potenciálok alakját és amplitúdóját, és a kiváltott posztszinaptikus potenciálok változását követtük figyelemmel intracelluláris elvezetés során a görcspotenciálok kialakulása előtt és különböző fejlődési szakaszaiban. A kóros epileptikus jelenségek jobb megértése érdekében külön tanulmányoztuk az eltérő tüzelési mintázatú sejteket a patkány agykéregben. Tüzelési aktivitásmintázatuk alapján három - az irodalomban találtakkal egyező - sejtípust tudunk elkülöníteni: (a) szabályosan tüzelő, (b) akciós potenciál csoportokkal tüzelő (burst), (c) gyorsan tüzelő. Az utóbbi sejtekből nagyfokú sérülékenységük miatt nem tudunk hosszú idejű stabil intracelluláris elvezetést végezni az epileptikus tevékenység alatt, így ezek nem szerepelnek a leírásokban. Az ellenoldali bajusz régió ingerlésével kiváltott szinaptikus válaszokat egy rövid latenciájú kis amplitúdójú serkentő posztszinaptikus potenciál (EPSP) és ezt követő, leggyakrabban két elkülöníthető komponensből álló gátló posztszinaptikus potenciál (IPSP) jellemezte a szabályosan tüzelő sejtekben. Az akciós potenciál csoportokkal tüzelő neuronokban az EPSP-t rendszerint egykomponensű, kisebb amplitúdójú IPSP követte.

Pf szakaszban a Tf szabályosan és akciós potenciál csoportokkal tüzelő sejtjeiben a tüzelési aktivitás átmenetileg csökkent. A gátló posztszinaptikus válaszok növekedést mutattak mindkét sejt típusban, különösen a késői, lassú komponens nőtt meg.

Pf+Tf szakaszban a legtöbb sejt tüzelési aktivitása szinkronizációt mutatott a felszíni görcspotenciálokkal. A gátlás új formáit figyeltük meg mindkét elektrofiziológiai sejt típusban: (1) tónusos jellegű gátlás, (2) összegződött IPSP-k, (3) hosszan tartó hiperpolarizációs hullámok. Jellegzetes tüzelési aktivitástípus átalakulást figyeltünk meg néhány esetben: a rohamok ismétlődésével az eredetileg szabályosan tüzelő neuron fokozatosan akciós potenciál csoportokkal tüzelővé alakult át. Ezzel párhuzamosan az akciós potenciál csoportokkal tüzelő neuronok aktivitása is fokozódott. Szokatlan

elektrofiziológiai jelenségeket is tapasztaltunk: (a) egyes akciós potenciálok repolarizációs szakasza kiszélesedett a szabályosan tüzelő neuronokban, (b) interiktális periódusban hosszú depolarizációs utópoteenciálok jelentek meg mindkét neurontípusban, melyek megjelenésükben hasonlítottak a PDS-hez, (c) akciós potenciál csoportokkal tüzelő sejtekben Ca^{2+} spike-ra emlékeztető kis amplitúdójú, magas küszöbű, széles akciós potenciálok megjelenését tapasztaltuk, (d) a nyugalmi membránpotenciál szintről szinaptikus eredetre utaló potenciál nélküli - valószínűleg ektópiás eredetű - akciós potenciálokat észleltünk egyes szabályosan tüzelő sejtekben. Iktális periódusban nem tudtunk megkülönböztetni kiváltott posztszinaptikus válaszokat. Interiktális szakaszban a megnövekedett IPSP visszaállt az eredeti értékre és gyakran ún. „rebound burst”-öt indukált. Az EPSP-k küszöb felettivé váltak, akciós potenciált váltottak ki.

Pf/Tf szakaszban a Tf sejszintű és térpotenciálbeli epileptiform tevékenysége függetlenné vált Pf eseményeitől. A kiváltott posztszinaptikus válaszok a kontrollra jellemző értékekre tértek vissza.

Az intracelluláris elvezetés során a gátlás különböző típusait figyeltük meg, melyek az epileptogenezis korai szakaszaiban fokozódtak, később csökkentek. Az IPSP késői lassú komponensének szelektív növekedésére magyarázatot adhat, hogy különböző interneuronok közvetítik a két IPSP komponenst, melyek ingerelhetősége különféleképpen változott meg (Empson és Jefferys, 1993). Másrészt a GABA_A és GABA_B receptor altípusok különböző arányú jelenléte a neuronok felületén és részvétele a tüzelési aktivitás módosításában, magyarázhatja a két IPSP komponens eltérő viselkedését (Oka és mtsai., 1993). Az összegződött IPSP-k valószínűleg a gátló interneuronok megnövekedett aktivitásából erednek. A gátló sejtek közvetlen bemenetet kapnak a talamikus és kallózális axonoktól (feed forward) vagy indirekt módon (feed back) aktiválódnak. Nagyfrekvenciás ingerlés esetén a piramissejtek epileptiform kisüléseivel szinkron az interneuronokban nagyfokú depolarizáció figyelhető meg és feltételezzük, hogy a normálisnál nagyobb mennyiségű gátló transzmittert bocsátanak ki. A fokozott gátlási jelenségek egy védekező mechanizmust képviselhetnek az abnormalis neuronális aktivitás kialakulásával szemben. Összhangban van ezzel az elképzeléssel, hogy a kontralaterális félteke homológ neuronjai a Pf ún. „surrounding inhibition” területébe esnek, de bizonyos idő elteltével összeomlik, felborul ez a gátlás. Ez részben magyarázható a posztszinaptikus GABA receptorok

deszenzitizációjával. A gátló mechanizmusok hatékonyságának csökkenése segítheti az epileptikus aktivitás fenntartását, terjedését.

Az epileptikus fókuszokban végződő axonok antidróm transzkallózális aktivációját írták le más kísérletekben (Schwartzkroin és mtsai., 1975). Hasonló megjelenésű, ektópiás eredetű potenciálokat vezetünk el mi is a Tf-ból. Valószínűleg a frekvens tüzelés következtében megváltozott extracelluláris ionkoncentráció módosítja a közelben található dendritek és axonok ingerlékenységét, így akciós potenciált idézhet elő. Az antidróm kallózális aktiváció a nem-szinaptikus mechanizmusok részvételét bizonyítja a másodlagos epileptogenezisben, mellyel szemben az intrakortikális gátló mechanizmusok sokkal kevésbé hatásosak (Krnjevic, 1981). A kezdeti fokozott gátlás felülmúlásában fontos szerepe lehet az aktiváció antidróm irányba történő eltolódása az epileptikus események során.

Az eredetileg szabályosan tüzelő sejtek akciós potenciál csoportokkal tüzelővé alakulását figyeltük meg Tf kifejlődése során. A „burst” jelenségét számos külső vagy belső tényező kiválthatja vagy befolyásolhatja, mely létrehoz egy kritikus ioncsatorna kombinációt a neuron membránján. A „burst” aktivitás kialakításában szerepe lehet a T típusú Ca^{2+} csatornáknak, melyek nyugalmi potenciál szintjén inaktívak, de hiperpolarizáció idején de-inaktiválódnak. Ezt a feltételezést támasztja alá az a megfigyelésünk, hogy IPSP-k illetve hiperpolarizáló áraminjekciók után átmeneti depolarizációt figyeltünk meg az akciós potenciál csoportokkal az aktív Tf-ban, míg normál körülmények között nem találtunk ilyen jelenségeket. A Tf-beli ioncsatornák működésének „burst” irányába történő eltolódását elősegítheti az extracelluláris ionkoncentráció megváltozása is a membrántulajdonságok megváltozása mellett. Megfigyeléseink arra utalnak, hogy az inherens „burst” képességével rendelkező sejteknek és azoknak a szabályosan tüzelő neuronoknak, melyek akciós potenciál csoportokkal tüzelővé válnak, igen fontos szerepük lehet a Tf epileptikus tevékenységének kialakításában. A sejtek tüzelési aktivitás típusai nem merev kategóriák, így ezek az epileptogenezis vagy egyedfejlődés során változhatnak.

A Tf ritmikus tevékenységének és szinkronizációjának kialakításában fontos szerepet tulajdonítunk a gátlás és az ún. „rebound” aktiváció kölcsönhatásának a piramissejtek rekurrens excitációja mellett. Erre utal a késői IPSP komponens növekedése, melyet valószínűleg posztzinaptikus $GABA_B$ receptorok közvetítenek. Kísérleteink során megfigyelt fokozott membránpotenciál oszcillációk a talamo-kortikális és kortiko-talamikus

hurkok epileptikus állapot alatti fokozott szinkronizációjára hívják fel a figyelmet. Feltételezzük, hogy a Pf-ból érkező nagy frekvenciájú periódikus szinaptikus aktiváció tartós változásokat idéz elő a Tf sejteiben, - talán valamennyiben a kindlinghez hasonló mechanizmusokon keresztül - mely később önálló epileptikus kisüléseket produkálhat (2,3).

3.3. Substantia nigra szerepe a görcstevékenység terjedésében

A Tf oldali Snpr ingerlés általános antikonvulzív hatást eredményezett, ami érvényesült mind az elsődleges, mind a másodlagos fókuszokban. A Snpr ingerelt állatokban a Tf kialakulásának gyakorisága 15 %-kal alacsonyabb volt, mint kontroll állatokban. Pf-ban az első roham megjelenésének latencia ideje kétszeresére nőtt. Mindkét fókuszban lényegesen csökkent az iktális periódus hossza és status epilepticus egyáltalán nem alakult ki. Ellenben az iktális periódusok száma nem változott lényegesen. A rohamok szerkezete megváltozott, az A nagyfrekvenciájú mintázat vált dominálóvá a másik két mintázat rovására. A paroxizmális tevékenység kialakulása után alkalmazott Snpr ingerlés azonban nem befolyásolta az epileptikus aktivitást. Snpr ingerlés önmagában nem mutatott változást az ECoG-s tevékenységen.

Folyamatos Snpr ingerlés idején a bajusz régió ingerlésével kiváltott potenciált vezetünk el az agykéreg azon régióiról, ahol más kísérletekben az epileptikus fókuszokat alakítottuk ki. Emiatt a kiváltott potenciál alakja a klasszikus nagy pozitív-kis negatív komponensekből állótól némileg eltért. Új komponensként egy kis korai negatív hullámot figyeltünk meg, ami feltehetően az afferensek apikális dendritekre befutó ingerületeinek eredménye. Mértük az első két hullám amplitúdóját, a csúcstól-csúcsig vett amplitúdót és a két komponens fél amplitúdónál vett szélességét. A Snpr ingerléssel azonos oldalról elvezetett kiváltott potenciálok kiszélesedtek és amplitúdójuk nagy mértékben csökkent az első tíz percben. További ingerlés ellenére a kiváltott potenciál visszanyerte eredeti formáját. Snpr ingerléssel ellentétes oldalon a tendencia ugyanez, de a hatás mérsékeltebb volt.

A Snpr ingerlés antikonvulzív hatása valószínűleg a nigro-talamikus gátló rendszer GABAerg kimeneti aktivációján keresztül érvényesül. Így, közvetett módon gátolhatja az epileptikus tevékenység kialakulásában és terjedésében fontos talamo-kortiko-talamikus reverberációs körök működését. A nagy frekvenciájú mintázat gyakoriságának növekedésére az lehet a magyarázat, hogy ezeket a görcspotenciálokat intrakortikális, kis számú neuronból

álló hálózatok hozzák létre, melyeket a nigro-talamo-kortikális pálya kevésbé képes módosítani. A kisebb frekvenciájú mintázatok kialakításában pedig multilineuronális talamo-kortiko-talamikus és szubkortikális körök vesznek részt és elsősorban ezekre irányul a Snpr GABAerg efferenseinek gátló hatása. A Snpr-nak szerteágazó kimenetei vannak és gyakran mindkét féltekébe irányuló kollaterálisokkal. Ezek a pályák valamint intertalamikus, interkortikális kapcsolatok magyarázhatják az egyoldali ingerlés mindkét oldalon megnyilvánuló antikonvulzív hatását.

A kiváltott potenciál folyamatos Snpr ingerlés alatti változását kezdetben a Snpr-nak a talamikus VL-re irányuló fokozott gátló hatása, majd a GABAerg transzmitter raktárak kiürülésével a tónusos gátlás csökkenése illetve megszűnése magyarázhatja.

Adataink arra utalnak, hogy a Snpr-nak tónusos szabályozó szerepe van az agykéreg működésében, csökkenteni képes az agykéreg görcskésztségét és a görcstevékenység terjedését (1).

3.4. Uretán altatás hatása az epileptikus tevékenységre

Uretán kezelés hatására a rohamok száma lecsökkent mindkét fókuszbán vagy egyáltalán nem jelent meg roham. Az egyszeri epileptikus epizódok latenciája dózisfüggő módon nőtt mindkét fókuszbán, habár a nembutál anesztéziában tapasztaltaknál rövidebb volt. A rohamok időtartama is rövidebb volt a nembutállal altatott állatokéhoz viszonyítva és dózisfüggő módon csökkent. Az iktális tevékenységet zömmel az alacsony frekvenciájú C mintázat alkotta. Felszínes nembutál altatásban kialakított epileptikus tevékenységet kis mennyiségű intravénásan adott uretán teljes mértékben gátolta.

Az uretán altatás és epileptikus aktivitást gátló hatásának mechanizmusai kevésbé ismertek. Feltételezik, hogy az uretán csökkenti a kortikális érző bemenetek szinaptikus transzmisszióját, a talamo-kortikális pálya végződéseinek eloszlását és a kortikális sejtek ingerelhetőségét (Angel és Gratton, 1982). Ap modellünkben az uretán azonnal csökkentette az intrakortikális neuronkörök működését, ezáltal a nagy frekvenciájú görcspotenciálok teljes eltűnését okozta. A továbbiakban spontán előforduló iktális események kialakulásához, úgy tűnik, elengedhetetlen a korai nagy frekvenciás, kis amplitúdójú potenciálkomponens megléte (4).

GABAerg gátlás

Uretán ?

uretán enlőg
csökkent felh. - 1

Az uretán valószínűleg csökkenti a preszinaptikus glutamát kibocsátást és a kortikális neuronok excitabilitását, így akadályozza meg iktális epileptikus tevékenység kialakulását (Maggi és Meli, 1986). Az uretán lassan etanollá és karbamiddá bomlik, ami meghosszabbíthatja az antikonvulzív hatást az etanol transzmitter kibocsátást gátló hatásán keresztül (Martin és Swarttwelder, 1982).

3.5. C-fos aktiváció az epileptikus tevékenység során

Az első epileptiform roham megjelenése után két órával kivett agyban a Pf minden kérgi rétegében, kivéve az elsőt, erős c-fos jelölődést találtunk. A II., III. és IV. rétegben szinte minden neuron c-fos aktivációt mutatott. Nagyon érdekes volt megfigyelni, hogy a talamusz retikuláris magja és a habenuláris mag is c-fos immunpozitivitást mutatott. A Tf-ban kevesebb neuronban találtunk festődést, de hasonló rétegbeli specifitással: a legintenzívebben jelölődő réteg a II. és III., a IV-ben és VI-ban kevesebb a festődés, míg az V. szinte üres. Az álműtött állatokban nem találtunk specifikus aktivitást.

Parvalbumin tartalmú c-fos pozitív neuronokat figyeltünk meg a Pf II., III., IV. és VI. rétegében. Ezek a sejtek általában közepes méretű, nem-piramis sejtek 3-5 dendritikus nyúlvánnyal. A Tf minden rétegében elszórt kettős pozitivitást találtunk kis vagy közepes méretű multipoláris neuronokban.

Calbindin tartalmú c-fos pozitív neuronokat főleg a II. és III. rétegben találtunk mindkét fókuszban, melyek kis vagy közepes méretű nem-piramis sejtek voltak.

Összegezve a Tf-ban megfigyelt immunhisztokémiai jelölődéseket: 12% volt kettős jelölődésű parvalbumin és c-fos esetén, 8% csak parvalbuminnal és 80% csak c-fos-sal; calbindin és c-fos esetén 22% volt kettős pozitivitású, 9% csak calbindin és 69% csak c-fos pozitív.

Irodalmi adatok alapján szoros korrelációt feltételezhetünk az epileptikus tevékenységben résztvevő neuronok és a c-fos aktiváció között (Herdegen és mtsai., 1993). A c-fos pozitív mintázat kialakításában vagyis az epileptikus aktivitás terjedésében két alapvető mechanizmus vesz részt. Így az epileptikus tevékenység laterális terjedése, amit a III. rétegbeli piramis neuronok kollaterálisai közvetítenek. A c-fos immunhisztokémiával kapott eredményeink összhangban vannak ezzel, ahol az Ap felhelyezésének környékén a legintenzívebb jelölődés a III. és IV. rétegben található, mely elektrofiziológiai adatok

alapján is a legérzékenyebb az epileptogenezisre. A másik terjedési irány a kallózális vagy komisszúrális terjedés. A Tf-ban talált gyengébb aktivációban az intrakortikális gátlás különböző folyamatai játszhatnak szerepet.

Számos irodalmi adat alapján valószínű, hogy mind a parvalbumin, mind a calbindin tartalmú sejtek gátlóak és GABA transzmitterrel működnek (Kubota és Jones, 1993). Feltételezzük, hogy a parvalbumin és calbindin tartalmú sejtek két különböző gátló interneuron populációt képviselnek, mégha van is némi átfedés köztük. Egyéb vizsgálatok szükségesek ezen két különböző sejtcsoport receptor tulajdonságainak felderítésére, nevezetesen a GABA_A és GABA_B receptorok különböző szerepének vizsgálatára az epileptogenezisben. A calbindin és parvalbumin kolokalizációs eredményeink újból aláhúzzák a gátló sejtek fontos szerepét az epileptikus aktivációban (6).

3.6. Nitrogén monoxid szintézis gátlás hatása agykérgi görcstevékenységre

Kontroll kísérletek eredményei alapján megállapítottuk, hogy az arginin analóg NA, valamint az APV és maga az injektálás semmilyen változást nem eredményezett az állatok alap ECoG-s tevékenységében.

A NA ip. kezelt állatok 80 %-ában az epileptikus tevékenység generalizálódott, nagy mértékű növekedést mutatva a nem-kezelt állatokhoz viszonyítva (17 %). A rohamok száma ugyan nem változott, de az egy órás megfigyelési idő alatt csak 40 perces időablakban jelentkeztek a rohamok a kontroll csoport 53 perces eloszlásával szemben. Eközben rövid abortív rohamokat figyeltünk meg.

NA icv. injekció erőteljesen növelte az epileptikus aktivitás kialakulását és terjedését. A generalizáció az ip. kezeléshez hasonló mértékű növekedést mutatott. Az első iktális epizód megjelenésének latenciája felére csökkent. A rohamok száma 100 %-kal megnőtt, míg az egyes rohamok időtartama lényegesen csökkent (60 %-ra) a kontrollhoz viszonyítva. Szokatlan abortív események szintén előfordultak. A status epilepticus esetek száma kis mértékben nőtt.

APV lokális alkalmazása csökkentette a rohamok időtartamát (60 %-ra), de számukat nem változtatta. A generalizációt nem befolyásolta.

NA icv. injektálás és APV kezelés együttes hatása a minden esetben generalizált rohamok időtartamának nagy mértékű csökkentése volt mind a kontrollhoz (15 %-ra), mind

a NA egyedüli hatásához képest. NA kezeléshez viszonyítva a rohamok száma nem változott, bár gyakran fordultak elő abnormális rövid események, melyek nem szerepeltek a statisztikában.

Adataink bizonyítják, hogy mind a szisztémás, mind az agykamrába injektált NA nagy mértékben serkenti az epileptiform tevékenység terjedését. Az agykéregbeli NO szintáz tartalmú sejtek bipoláris interneuronok, melyek bemeneteket kapnak a piramissejtek kollaterálisaitól (Valtschanoff és mtsai., 1993). Irodalmi adatok alapján feltételezik, hogy a mélyebb rétegbeli neuronok a serkentő feedback hálózatokban vesznek részt, míg a felsőbb rétegek elsősorban az intrakortikális gátlási folyamatokban vesznek részt (Barkai és mtsai., 1995). Így az NA által előidézett nagyfokú generalizáció elsősorban a felszíni rétegek gátló kimenetének gátlásán keresztül érvényesülhet. Az epileptikus tevékenység terjedésének fokozódásában nem zárhatjuk ki a bazális ganglionok szerepét sem, mert szintén tartalmaznak NO szintázt.

Saját, illetve in vitro kísérletek alapján megállapíthatjuk, hogy az NMDA receptorok szerepet játszanak, de nem elégséges a részvételük az Ap által előidézett iktális epileptikus aktivitás kialakításában, mivel a rohamok számát nem befolyásolja a gátlásuk. Kettős antagonistá adagolás esetén az APV nem módosítja NA hatásait a rohamok számát illetően, ezért feltételezzük, hogy a NA által előidézett epileptikus aktivitás növekedés nem NMDA receptorok közreműködésén keresztül jön létre.

A rohamok időtartamát mind a NA, mind az APV kezelés csökkentette és együttes adagolás esetén szinte összeadódtak a külön-külön elért hatások. Ezen eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy a rohamok fenntartását a NO nem az NMDA receptor glutamát kötőhely módosításával befolyásolja, bár nem zárható ki, hogy az NMDA receptor más kötőhelyével van interakcióban.

Eredményeink alapján úgy tűnik, hogy a NO antikonvulzív szerepet tölt be az epileptikus tevékenység kialakításában és terjedésében, míg a fenntartásában serkentő módon vesz részt (5). Jelen kísérletsorozatunkban, az Ap által kiváltott agykérgi, fokális görcstevékenység NA-nel történő gátlása esetén, valószínűleg különböző szöveti eredetű (neuronális és endoteliális) NO szintáz aktiváció hiány eredőjének hatásait vizsgáltuk. További kísérletek, szelektív agyi antagonisták szükségesek a neuronális NO szerepének pontosabb felderítéséhez az epileptogenezisben.

glut. r. antagon. helye?

híber egyben gabal?

3.7. Fiatal patkányok elektrokortikográfiás jellemzői fiziológiai körülmények között és aminopiridin jelenlétében

Mind a háttér, mind az Ap-nel kiváltott abnormális aktivitás jelentősen eltért a felnőtt állatoknál tapasztaltaktól. A fiatal patkányok kezdetleges háttér ECoG tevékenységét szabályos szinuszoid oszcilláció jellemezte (3-5 Hz, 0.1 mV), mely a kor előrehaladtával fokozatosan feldarabolódott és elérte a felnőttre jellemző szabálytalan és változatos frekvenciájú, amplitúdójú mintázatot. Az Ap indukálta abnormális aktivitás is sajátos érési folyamaton ment át az életkor növekedésével párhuzamosan. Az Ap által kiváltott tevékenység jellemzői alapján három korcsoportot tudunk elkülöníteni: (a) P9-13, (b) P14-16, (c) P17-21.

Az (a) csoportban az Ap fenntartott generalizált abnormális aktivitást idézett elő melyeket fokozatosan alacsony frekvenciájú és amplitúdójú kisülések (0.8-1.2 Hz, 0.15-0.5 mV) vagy interiktális tüskéhez hasonló potenciálok (3-5 Hz, 0.25-1 mV) szakítottak meg. A (b) csoportot fokozott excitabilitás jellemezte hosszú idejű (2-4 perc) szinkronizált oszcillációkkal, fokozatosan növekvő frekvenciával és amplitúdóval. E csoport átmeneti jellegét bizonyította az időnként jelentkező interiktális potenciálok mellett megjelenő iktális epileptiform tevékenység. A felnőtt iktális tevékenységhez hasonlóak voltak ezek a potenciálok, de még időtartamuk rövidebb (11-13 sec) volt és hiányzott a nagy frekvenciájú (9-15 Hz) mintázat. A differenciálódás irányába mutattak a féltekék között tapasztalt különbségek: az egyidőben jelentkező eltérő struktúrájú potenciálváltozások. A (c) csoportban az Ap periódikusan jelentkező nagy frekvenciájú iktális tevékenységet eredményezett a felnőtt állatokhoz hasonlót, néha még megjelenő interiktális tüskékkel. Kialakult a Pf-szal szinkron működő Tf is.

A 14-16 napos patkányoknál tapasztalt görcskészség növekedéssel együtt a rohamok morfológiája is átalakult. Kialakult a szinkronizált oszcillációként leírt jelenség, illetve itt jelent meg először a felnőtt állatoknál tapasztalt C mintázatra emlékeztető fokális rohamtevékenység. E jelenségek egybeesnek az intrinsic „burst” képességével rendelkező sejtek megjelenésének - irodalomból ismert (Franceschetti és mtsai., 1993) - idejével. A fiatal patkányok görcskészségében tehát a születést követő második héten zajlanak le a jelentős változások.

Eredményeink elősegítik a felnőtt állatokban tapasztalt plasztikus változások mechanizmusainak megértését, mivel nagy részük megtalálható az embrionális és korai posztnatális élet során.

ÖSSZEFOGLALÁS - EREDMÉNYEK JELENTŐSÉGE

1. Részletesen jellemeztük és leírtuk a 3-aminopiridin-kiváltotta epileptikus tevékenység felszíni elektromos jelenségeit altatott patkány szomatoszenzoros kérgén.

Megfigyeléseink arra utalnak, hogy több párhuzamos esemény vezet a Tf és Pf megjelenésükben hasonló epileptiform aktivitásához. Azonban Tf és Pf mechanizmusai eredetükben különbözőek lehetnek. A Tf kialakulásában és függetlenné válásában fontos szerepe lehet a Pf-ből és szubkortikális struktúrákból egy időben érkező frekvens ingerek okozta heteroszínaptikus facilitációnak és tartós potenciációnak.

2. In vivo intracelluláris elvezetésben megfigyeltük a különböző elektrofiziológiai sejt típusokat patkány agykéregben.

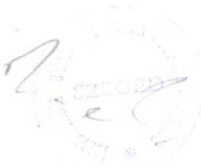
Tanulmányoztuk az iktális jelenség sejtszintű mechanizmusait szabályosan és akciós potenciál csoportokkal tüzelő sejtekben a másodlagos epileptogenezis során. Megállapítottuk, hogy a Tf kialakulásában és függetlenné válásában fontos szerepe van a Pf-ből közvetlenül, valamint szubkortikális struktúrák által közvetített ismétlődő frekvens ingerek időbeli találkozásának. Utóbbi akár heteroszínaptikus facilitációt és tartós potenciációt is eredményezhet, melyet a kindling során is feltételeznek. A serkentés-gátlás egyensúly eltolódását fokozza a GABAerg rendszer kevésbé hatékony részvétele az antidróm aktivációban. A görcsfolyamatok elindításában fontos szerepet kapnak az aktív vagy rejtett „burst” képességével rendelkező sejtek, melyek vezérlő ritmuskeltőként működnek az agykéreg reverberációs neuronhálózatainak aktiválásában.

Jelentős megfigyelésünk, hogy egyes esetekben a Tf képessé vált önálló, független görcstevékenységre.

3. Kimutattuk az egyoldali substantia nigra pars reticulata ingerlés antikonvulzív hatását mindkét féltekében. A Snpr-nak tónusos szabályozó hatása van az agykéreg működésére, ami nagy mértékben csökkenti a rohamok terjedését és a görcskészséget.
4. Leírtuk, hogy az uretán dózisfüggő módon nagy mértékben gátolja az Ap-nel kiváltott epileptikus tevékenység kialakulását és terjedését.
5. Immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk a c-fos korai gén termékének expresszióját az epileptikus aktivitás során. Megállapítottuk, hogy a parvalbumin és calbindin tartalmú gátló interneuronok egy része c-fos jelölődést mutat, mely jelzi aktív részvételüket a görcstevékenységben.
6. Kimutattuk, hogy a NO antikonvulzív szerepet tölt be az epileptikus tevékenység kialakításában és terjedésében, míg a fenntartásában serkentő módon vesz részt.
7. Jellemeztük fiatal patkányok felszíni agykérgi elektromos jelenségeit. A görcskészség jelentős változását figyeltük meg a születést követő második héten.

Kísérleteinkben az igen ritkán vizsgált iktális agykérgi epileptikus tevékenység alapkutató szintű leírására törekszünk minden vizsgálati szinten. A továbbiakban igyekszünk görcsmodellünk gyakorlati téren történő felhasználására a klinikai tapasztalatokkal egybevetve. Új kísérletsorozatunkban a humán epilepszia gyógyításában ma is a leggyakoribb valproát és karbamazepin tartós kezelésének hatását vizsgáljuk az utódok görcskészségében, epileptiform megnyilvánulásaiban.

Emellett molekuláris biológiai vizsgálati módszerek bevezetését tervezzük az epilepszia kísérletes kutatásba. Genetikailag módosított K⁺ csatornák hatását tanulmányozzuk az agykéreg excitabilitásában egy új lehetséges epileptikus modellt keresve.

K-40
 grt
 V. Mih. L
 K. Mih. L


IRODALOMJEGYZÉK

5.1. Az értekezés tárgyköréből megjelent és közlésre benyújtott saját közlemények

Nemzetközi és magyar folyóiratokban megjelent és közlésre benyújtott közlemények

1. **B. Boda** and M. Szente: Stimulation of substantia nigra pars reticulata suppresses neocortical seizure. Brain Research, 574:1-2 (1992) 237-243.
2. **B. Boda**, M. Szente and A. Baranyi: On cellular mechanism of epileptogenesis in the mirror focus. Acta Biochim. Biophys. Hung. 26 (1-4) (1991/92) p. 151.
3. M.B. Szente and **B. Boda**: Cellular mechanisms of neocortical secondary epileptogenesis. Brain Research, 648 (1994) 203-212.
4. G. Heltovics, **B. Boda** and M. Szente: Anticonvulsive effect of urethane on aminopyridine induced epileptiform activity. NeuroReport, 6 (1995) 577-580.
5. **B. Boda** and M. Szente: Nitric oxide synthase inhibitor facilitates focal seizures induced by aminopyridine in rat neocortex. Neurosci Lett., 209 (1996) 37-40.
6. A. Mihály, M. Szente, Zs. Dubravcsik, **B. Boda**, E. Király, T. Nagy and Á. Domonkos: Parvalbumin and calbindin containing neurons express c-fos protein in primary and secondary (mirror) epileptic foci of the rat neocortex. Brain Research (1997) (accepted).

Nemzetközi előadások és kivonatok

1. Szente M., Baranyi A., **Boda B.**: Mechanisms of aminopyridine-induced epileptiform activity in the primary and mirror foci of mammalian neocortex. 1992. Conference of International League Against Epilepsy, Budapest.
2. **B. Boda** and M. Szente: Nitric oxide synthase inhibitor facilitates aminopyridine induced neocortical seizure in vivo. European J. of Neuroscience, Suppl. 8 (1995) p. 24.
3. M. Szente, Zs. Dubravcsik, **B. Boda**, E. Király and A. Mihály: C-fos expression in neocortical epileptic foci of the rat: Characterization of the activated neurons with double labelling. European J. of Neuroscience, Suppl. 8 (1995) p. 175.

Magyar előadások és kivonatok

1. **Boda B.**, Molnár É., Szente M.: Substantia nigra ingerlésének hatása a tükrőfókusztévékenységére patkányban. 1990. MÉT LV. Vándorgyűlés.
2. **Boda B.**: Substantia nigra egyoldali ingerlésének hatása agykérgi görcstevékenységre patkányban. 1991. Országos Tudományos Diákköri Konferencia: II. helyezés.

3. **Boda B.**, Szente M.: Substantia nigra egyoldali ingerlésének hatása agykérgi görcstevékenységre patkányban. 1991. MÉT Idegtudományi Szakosztály Konferencia.
4. **Boda B.**, Szente M.: Substantia nigra pars reticulata ingerlés hatása agykérgi görcspotenciálokra és kiváltott válaszokra. 1991. Magyar EEG és Klinikai Neurofiziológiai Társaság 34. Kongresszusa.
5. **Boda B.**, Szente M., Baranyi A.: Intracelluláris sejttevékenység patkány agykérgi tükörfókuszban. 1992. MÉT Idegtudományi Szakosztály Konferencia.
6. M.B. Szente and **B. Boda**: Cellular mechanisms of neocortical secondary epileptogenesis. Neurobiology, 2,1 (1994) p. 108.
7. Szente M., **Boda B.**, Dubravcsik Zs., Király E., Mihály A.: Induction of c-fos protein immunoreactivity in acute neocortical epileptic foci of the rat. Characterization of the activated neuronal population with double labelling. Neurobiology, 3,1 (1995) p. 127.
8. Heltovics G., **Boda B.**, Szente M.: Anticonvulsive effect of urethane on aminopyridine induced epileptiform activity. Neurobiology, 3,1 (1995) p. 65.
9. **Boda B.**, Szente M.: Nitric oxide synthase inhibitor facilitates aminopyridine induced neocortical seizure. Neurobiology, 4 (1996) p. 103-104.
10. Heltovics G., **Boda B.**, Szente M.: Aminopyridine-induced epileptiform activity in developing rat neocortex. IV. Sejt- és Fejlődésbiológiai Napok (1996) p. 14.
11. Szok D., Szupera Z., **Boda B.**, Vécsei L., Szente M.: Valproáttal előkezelt fiatal patkányok agykérgi tevékenységének vizsgálata akut aminopiridines görcsmóddel in vivo. 1996. Fiatal Neurológusok XI. Országos Fóruma.
12. Szok D., Szupera Z., **Boda B.**, Szász A., Vécsei L., Szente M.: Electrical activity of young rats borned to mothers with chronic epileptic activity and valproate treatment. Neurobiology, (1997).

5.2. Egyéb közlemények

1. Baranyi A., **Boda B.**, Szente M.: Sorozatingerléseket követő plasztikus változások macska motoros kéreg kallózális rendszerének szinaptikus válaszaiban. 1992. MÉT Vándorgyűlés.
2. Baranyi A., **Boda B.** and Szente M.: Long-term potentiation and depression of monosynaptic EPSPs recorded in vivo in different electrophysiological cell types of the cat motor cortex. 1993. International Congress of Physiological Sciences, Glasgow.
3. Tajti J., Somogyi I., **Boda B.**, Bereczki Cs., Túri S., Gecse Á., Mezei Zs., Vécsei L.: Migraine and platelet aggregability. Cephalalgia Suppl. 16 (1995) p. 4.

4. **Boda B.**, Tajti J., Túri S., Bereczki Cs., Somogyi I., Vécsei L.: Thrombocytá abnormalitások migrénes betegeknel. Clin. Neurosci/Ideggy. Szle, 48 (3-4) (1995) 138.
5. **Boda B.**, Kis B., Mezei Zs., Gecse Á., Tajti J., Vécsei L. and Telegdy Gy.: A migrén és a thrombocytá arachidonsav kaszkád kapcsolata. 1995. MÉT LX. Vándorgyűlés.
6. Husson I., Mas C., **Boda B.**, Bourgeois M., Marret S., Fontan D., Evrard P., Simonneau M.: La schizencéphalie: une approche moléculaire. 1997. 7eme Réunion de la Société Française de Neurologie Pédiatrique.
7. Mas C., **Boda B.**, Husson I., Evrard P., Simmoneau M.: Identification of genes involved in the cerebral cortex formation using differential display RT-PCR. 1997. European Society of Human Genetics, Genova.

5.3 Általános irodalomjegyzék

Angel, A. and Gratton, D.A.: The effect of anaesthetic agents on cerebral cortical responses in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 76 (1982) 541-549.

Barkai, E., Friedman, A., Grossmann, Y. and Gutnick, M.J.: Laminar pattern of synaptic inhibition during convulsive activity induced by 4-aminopyridine in neocortical slices. *J. Neurophysiol.*, 73 (1995) 1462-1467.

Cain, D.P.: Long-term potentiation and kindling: How similar are the mechanisms. *Trends in Neurosci.*, 12 (1989) 6-10.

Dean, P. and Gale, K.: Anticonvulsant action of GABA receptor blockade in the nigrotectal target region. *Brain Res.*, 477 (1989) 391-395.

Delgado-Escueta, A.V., Ward, A.A., Woodbury, D.M., Poerter, R.J., eds.: Basic mechanisms of the epilepsies. New York: Raven Press, 1986.

Dichter, G. and Ayala, G.F.: Cellular mechanisms of epilepsy: a status report. *Science*, 237 (1987) 157-164.

Empson, R.M. and Jefferys, J.G.R.: Synaptic inhibition in primary and secondary chronic epileptic foci induced by intrahippocampal tetanus toxin in the rat. *J. of Physiol.*, 465 (1993) 595-614.

Engel, J.Jr. ed.: Surgical treatment of the epilepsies. New York: Raven Press, 1987.

Franceschetti, S., Buzio, S., Sancini, G., Panzica, F. and Avanzini, G.: Expression of intrinsic bursting properties in neurons of maturing sensorimotor cortex. *Neurosci. Lett.*, 162 (1993) 25-28.

Garthwaite, J.: Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends in Neurosci.*, 14 (1991) 60-68.

Goddard, G.V.: Development of epileptic seizure through brain stimulation at low intensity. *Nature*, 214 (1976) 1020-1021.

Herdegen, T., Sandkuhler, J., Gass, P., Kiessling, M., Bravo, R. and Zimmermann, M.: JUN, FOS, KROX, and CREB transcription factor proteins in the rat cortex: basal expression and induction by spreading depression and epileptic seizure. *J. of Comp. Neurol.*, 333 (1993) 271-288.

Krnjevic, K.: Desensitization of GABA receptors. *Adv. Biochem. Psychopharmacol.*, 26 (1981) 111-120.

Kubota, Y. and Jones, E.G.: Colocalization of two calcium binding proteins in GABA cells of rat piriform cortex. *Brain Res.*, 600 (1993) 339-344.

Löscher, W. and Schmidt, D.: Which animal models should be used in the search for new antiepileptic drugs? A proposal based on experimental and clinical considerations. *Epilepsy Res.*, 2 (1988) 145-181.

Maggi, C.A. and Meli, A.: Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems. *Experientia*, 42 (1986) 109-114.

Maglóczy, Zs. and Freund, T.: Selective neuronal death in the contralateral hippocampus following unilateral kainate injection into the CA3 subfield. *Neurosci.*, 56 (1993) 317-336.

Martin, D. and Swarttwelder, S.H.: Ethanol inhibits release of excitatory amino acids from slices of hippocampal area CA1. *Eur. J. of Pharmacol.*, 219 (1992) 469-472.

Morimoto, K; and Goddard, G.: The substantia nigra is an important site for the containment of seizure generalization in the kindling model of epilepsy. *Epilepsia*, 28 (1987) 1-10.

Oka, J.I., Kobayashi, T., Nago, T., Hicks, T.P. and Fukuda, H.: GABA_A receptor-induced inhibition of neuronal burst firing is weak in rat somatosensory cortex. *NeuroReport*, 4 (1993) 731-734.

Schwartzkroin, P.A., Futamachi, K.J., Noebels, J.L. and Prince, D.A.: Transcallosal effects of cortical epileptiform focus. *Brain Res.*, 99 (1975) 59-68.

Valtschanoff, J.G., Weinberg, R.J., Kharazia, V.N., Schmidt, H.H.W., Nakane, M. and Rustioni, A.: Neurons in rat cerebral cortex that synthesize nitric oxide: NADPH diaphorase histochemistry, NOS immunocytochemistry, and colocalization with GABA. *Neurosci. Lett.*, 157 (1993) 157-161.