

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

AMINOPYRIDINNEL KIVÁLTOTT IN
VIVO GÖRCSTEVEKENYSÉG JELLEMZŐI
PATKÁNY AGYKÉREG ELSŐDLEGES ÉS
MÁSODLAGOS FÓKUSZAIBAN

BODA BERNADETT

JÓZSEF ATTILA TUDOMÁNYEGYETEM
Összehasonlító Élettani Tanszék
Szeged
1994.

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

AMINOPYRIDINNEL KIVÁLTOTT IN
VIVO GÖRCSTEVEKENYSÉG JELLEMZŐI
PATKÁNY AGYKÉREG ELSŐDLEGES ÉS
MÁSODLAGOS FÓKUSZAIBAN

BODA BERNADETT

JÓZSEF ATTILA TUDOMÁNYEGYETEM
Összehasonlító Élettani Tanszék
Szeged
1994.



— "Egyebek között azon tűnődött el, hogy epileptikus állapotában csaknem közvetlenül a roham előtt (ha ébrenlétben jött rá a roham) volt egy olyan fokozat, amikor a lelki sötétség, a nyomasztó szomorúság közepette némely pillanatban mintegy fény gyúlt az agyában, és lökésszerűen, egyszerre szokatlanul megfeszült egész életereje. Életérzése, öntudata szinte megtízszereződött ezekben a villámgyorsan tovatűnő pillanatokban. Elméjét, szívét rendkívüli fény világította be; mintha egy csapásra lecsillapodott volna minden izgalma, kétsége, nyugtalansága, és feloldódott volna valami derűs és harmónikus örömmel, reménnyel, értelemmel és a végső ok ismeretével teli magasztos nyugalommal. Ám ezek a pillanatok, ezek a fénysugarak még csak a végső másodperc (sohasem több, mint egy másodperc) előhírnökei voltak, amely után megkezdődött maga a roham. Ez a másodperc természetesen elviselhetetlen volt. Ha később, immár egészséges állapotában tűnődött ezen a pillanaton, gyakran azt mondta magában: a legmagasabb rendű életérzésnek és öntudatnak, tehát a legmagasabb rendű létnek ezek a felvillanása és fénysugarai nem egyebek, mint betegség, a szabályszerű állapot felborulása, ha pedig ez így van, akkor ez egyáltalán nem valami magasabb rendű lét, hanem éppen ellenkezőleg, a legalacsonyabbhoz kell sorolni. Ám de végül mégis erre a rendkívül ellentmondásos következtetésre jutott: "Mit számít, hogy ez betegség? Hát mi van abban - szűrte le végül -, hogy ez nem normális feszültség, ha maga az eredmény, az érzésnek az a pillanata, melyet immár egészséges állapotban idéz fel és vizsgálgat az ember, a harmónia, a szépség legfelsőbb fokának bizonyul és megadja a teljességnek, az egyensúlynak, a kiengesztelődésnek és az élet legfelsőbb szintézisével való, ujjongó, imádságos egybeolvadásnak minaddig sosem hallott, sosem sejtett érzését?"

Részlet Dosztojevszkij Félkegyelmű
című regényéből

TARTALOMJEGYZÉK

1 .	BEVEZETÉS.....	2
2 .	MÓDSZEREK	
2.A.	AZ EGYOLDALI SUBSTANTIA NIGRA PARS RETICULATA INGERLÉS VIZSGÁLATÁNAK MÓDSZEREI.....	13
2.B.	INTRACELLULÁRIS MIKROELEKTRÓDÁS ELVEZETÉS MÓDSZEREI A TÜKÖR FÓKUSZBÓL.....	15
3 .	EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS	
3.A.	EGYOLDALI SUBSTANTIA NIGRA INGERLÉS HATÁSAI AZ AGYKÉRG GÖRCSTEVEKENYSÉGRE.....	18
3.A.1.	3-aminopyridinnel (3-Ap) keltett agykérgi görcstevékeny- ség jellemzői patkányban.....	18
3.A.1.1.	A görcstevékenység megjelenése.....	18
3.A.1.2.	A másodlagos epileptogenezis szakaszai.....	20
3.A.1.3.	A görcspotenciálok mintázatai.....	20
3.A.2.	A substantia nigra pars reticulata (SNpr) ingerlés hatá- sai a 3-Ap-nel előidézett epileptikus tevékenységre...23	
3.A.2.1.	A 3-Ap felhelyezésével egyidejű SNpr ingerlés hatásai.23	
3.A.2.2.	A paroxizmális tevékenység kialakulása utáni SNpr inger- lés hatásai.....	27
3.A.2.3.	SNpr ingerlés a háttér elektrokortikogramra gyakorolt hatásai kontroll állapotban és interiktális periódus- ban.....	28
3.A.3	SNpr ingerlés hatásai a kiváltott potenciálokra.....	28
3.A.4.	Megbeszélés.....	32
3.B.	INTRACELLULÁRIS SEJTTEVEKENYSÉG A TÜKÖR FÓKUSZBAN.....	35
3.B.1.	A kezeletlen patkány agykéreg neuronjainak általános	

3.B.2.	Epileptiform intracelluláris aktivitás jellemzői.....	39
3.B.2.1.	Pf szakasz.....	39
3.B.2.2.	Pf+Tf szakasz.....	40
3.B.2.3.	Pf/Tf szakasz.....	49
3.B.3.	Megbeszélés.....	51
4 .	ÖSSZEFOGLALÁS.....	58
5 .	IRODALOMJEGYZÉK.....	60
	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	69

1. BEVEZETÉS

Az epilepszia periódikusan visszatérő rohamokkal jelentkező emberi megbetegedés. A görög eredetű elnevezés természetfeletti erők által való megragadottságot jelent. A középkorban isteni megszállottságnak tekintették, ezért szent betegségnek, morbus sacernek, és mivel gyakran jár görcsös megnyilvánulásokkal (konvulziókkal), morbus convulsivusnak is nevezik. Az epileptikus kórkép kialakulása - a motoros és szenzoros valamint vegetatív és pszichés tünetek - a központi idegrendszer károsodására, az agy funkcionális zavarára vezethető vissza. Az epilepsziát kiváltó okok igen sokfélék lehetnek, de a betegség lefolyása és megjelenése is igen sokféle, különböző klinikai és laboratóriumi jellemzőkkel.

Nemzetközi osztályozás szerint (Editorial: Proposal for revised seizure classification, 1981) megkülönböztetnek: (1) parciális (fokális, lokális) epilepsziákat, melyekben (a) egyszerű esetben a tudat nem érintett, (b) komplex formában a tudat érintettségével jelentkezik és (c) léteznek másodlagosan generalizált epilepsziák is; (2) generalizált epilepsziákat, melyek jelentkezhettek (a) absence (rövid ideig tartó tudathiány) rohamokban, vagy (b) atipikus absence-ként, (c) mioklonusos (izomrángás) formában, illetve (d) klónusos, (e) tónusos rohamokban, (f) utóbbiak együtteseként, és végül (g) atóniás rohamokban; (3) nem osztályozható vagy speciális szindrómákat. E csoportosításon kívül más szempontok is szerepelhetnek a rendszerezésben: így például eredete vagy elhelyezkedése szerint

(mely agyi terület vesz részt benne), stb.

A betegek eredményes gyógyítása ma sem megoldott. Különböző antikonvulzív szerekkel csökkenthető a rohamok száma és intenzitása, de ez nem jelent végleges gyógyulást és gyógyszeres kezelés esetén mellékhatásokkal is számolni kell. Az epilepszia sokszor láncreakciót indít meg, ami egyrészt a működési zavar más agyi területekre történő kiterjedését idézi elő, másrészt a bevont sejtek változó mértékű és jelentőségű pusztulását okozhatja. Az epileptikus tevékenység terjedése ugyanazon és/vagy az ellenoldali féltekében csökkenti a sikeres műtét kilátásait, így ez a terápiás megoldás sem terjedhetett el.

Az epilepszia az ingerület és gátlás fiziológiai egyensúlyának megbomlása (Delgado-Escueta és mtsai., 1986), mely kóros elektrofiziológiai megnyilvánulásai az abnormális nagyságú és időbeli lefutású görcspotenciálok. Ezek nevüket onnan kapták, hogy amennyiben a mozgató kérgi mezőben keletkeznek izomgörcsöket váltanak ki. Az epileptikus aktivitás legfőbb jellemzői a szinkronizáció és ritmicitás. A szinkronizáció esetén nagyszámú kérgi neuron együttes kisülése eredményezi az abnormálisan nagy amplitúdójú kérgi elektromos jelenségeket. A ritmicitás önfenntartó ingerületi körök kialakulását és a rohamok többé-kevésbé szabályos ismétlődését jelenti. A jelenség sokféle szinten, sokféle módon létrejöhet, ezért sokféleképpen modellezhető (Löscher és Schmidt, 1988). A különböző modellek más-más oldalról közelítik meg az epilepszia klinikai formáit. Kísérletes vizsgálatokra ma már genetikai, elektrofiziológiai, fizikai és kémiai eszközök állnak rendelkezésünkre, melyek nemcsak az egyes kóros agyi folyamatok mélyebb megismerésére nyújtanak

lehetőséget, hanem az epilepszia oki gyógyításához is elengedhetetlenül szükségesek. Másrészt a normális idegi működés, köztük a tanulás, emlékezés elemi folyamatainak feltárását is segítheti a patológiás működések alaposabb megértése (Cain, 1989; Goddard, 1976;), hiszen az epilepszia a fizioiógias jelenségek karikatúrájaként is felfogható. Az a kezdeti feltevés, hogy a kérgi gátlás megszűnése az epilepszia kialakulásának oka, tévesnek bizonyult. Az epileptikus jelenségek kialakulása során jelen van a gátlás, sőt egyes formái erősödhetnek, mások gyengülhetnek. Epilepsziát és hiperszinkronizációt elősegítő hatás lehet paradox módon a kollaterális gátlás fokozódása. Ilyenkor nagyszámú, a kollaterálisok által gátolt állapotban levő neuront érő megfelelő erősségű és mintázatú ingerület hiperszinkron állapotot hozhat létre (Engel, 1987). A gátlás csökkenő hatékonyságában részt vehet a gátló interneuronok extrém módon fokozott működés következtében történő szelektív pusztulása (Maglóczki és Freund, 1993; Sloviter és Dempster, 1985). Túlzott leegyszerűsítésnek tűnik ma már a pozitív visszacsatolások révén létrejövő extrém mértékű ingerület fokozódás eredményének tekinteni az epilepsziát, hiszen egyéb, nem szinaptikus eredetű mechanizmusok is, mint pl. az afferens rostok antidróóm aktivációja, az extracelluláris tér ion összetételének megváltozása, diffúzan felszabaduló neuromodulátorok, stb. is elősegítik kialakulását (Dichter és Ayala, 1987). A betegség speciális regulációs zavar, különböző arányú külső, szinaptikus és belső, intrinsic tényezők változásai okozhatják.

Az epilepszia keletkezésében, fenntartásában és terjedésében szerepet játszó mechanizmusok feltárása sejt- és neuronhálózati szinten egyaránt megkísérelhető. Kísérletekben a nyugalmi

(fiziológias) válaszok adatait hasonlítják össze a görcskeltő anyag jelenlétében tapasztalt jelenségekével. A "nyugalmi", "spontán" elektromos tevékenységet mutató agykéreg természetesen az ingerek milliárdjait kapja az agytörzsből, a gerincvelőből, az érzékszervek felől. Ezen ingerek hatásainak összegződése az agy belső ritmikus tevékenységével eredményezi az agykérgi alaptevékenységet, mely mezőpotenciálok szintjén elvezethető, mint elektroencefalogram (EEG) vagy elektrokortikogram (ECoG). Az EEG vagy ECoG jól definiált ingerek alkalmazása esetén jellegzetes válaszokat mutat, melyeket eseményfüggő kiváltott potenciáloknak nevezzük. A kiváltott potenciál folyamatainak jobb megértése betekintést adhat az agykérgi információátviteli folyamatok mechanizmusába is. Az agykérgi kiváltott potenciál mint térfeldolgozó létrejöttében központi szerepet játszanak az agykéreg felszínére vertikálisan elhelyezkedő sejtcsoportok. Kialakulásának elmélete szerint egy idegi elem mentén terjedő depolarizációs hullám a keletkezés helyén negatív pólust képez a külső vezető közeg számára, és ott befelé (a sejtbe) irányuló áram folyik (nyelő vagy "sink"). Az idegsejtmembrán azon részeit, ahol ezt a köráramot biztosító ionok kilépnek forrásnak ("source") nevezik és az onnan elvezetett hullám pozitív. A kérgi kiváltott potenciálok főbb elemei különböző intrakortikális eseményekből tevődnek össze. Egyrészt a sejttest körüli gyors változások, nagyjából a vertikális elemeken mint kábeleken terjedő, felszínesen lokalizált lassú dendritpotenciálok és végül a szinkronizált afferens és efferens rostaktivitás vesznek részt a kép kialakításában (Amassian és mtsai., 1964). Az EEG és ECoG valamint a kiváltott potenciálok (melyek általában jól



megkülönböztethetők a háttértevékenységtől) elvezetése rendszerint makroelektrodákkal történik, melyek nagyszámú idegsejt egyidejű tevékenységét, posztszinaptikus potenciáljainak összegét mutatják. A sejtszintű folyamatok elemzése extra- és intracelluláris mikroelektrod technika segítségével lehetséges.

Korábban a kísérletes epilepsziában leggyakrabban használt görcskeltő anyag a penicillin volt, és az általa előidézett ún. interiktális tüske-hullám kisülések voltak a legintenzívebben tanulmányozott görcspotenciálok. Mi a 3-aminopyridint (3-Ap) választottuk a görcstevékenység előidézésére, melyet lokálisan a kéreg felszínére alkalmaztunk. Az aminopyridin görcstevékenység okozó hatását intézetünkben írták le először és elemezték részleteiben (Baranyi és Fehér, 1979; Sente és Pongrácz, 1979). A 3-Ap által kiváltott aktivitásra zömmel a periódikusan ismétlődő fokális tónusos-klónusos rohamok voltak jellemzőek a kezelés helyén (elsőleges vagy primer fókusz, Pf). Ezek ECoG-s mintázata iktális és interiktális szakaszokra tagolódott. Az esetek többségében Pf szinaptikus kapcsolai révén az ellenoldali agyfélteke identikus területén is epileptikus tevékenység (tükröz fókusz, Tf) alakult ki. E jellemzői alapján az aminopyridines görcsmodell jó lehetőséget nyújtott a humán temporális lebeny epilepszia kísérletes modellezéséhez (Mihály és mtsa., 1983; Sente és Pongrácz, 1981), mely a felnőtt epileptikus betegek 50%-át adja. A 3-Ap közvetlen hatással van a membránáramokra, így befolyásolja a neuronok ingerelhetőségét. A 3-Ap viszonylag specifikus K^+ -csatorna gátló, mely sok neuron típuson az A áramot csökkenti. Valószínűleg pozitív ionként a zárt K^+ csatornához kötődik és megváltoztatja az ionpermeabilitást biztosító

töltéseloszlását (Bowman és Savage, 1981). Az A áram a sejtmembrán repolarizációjában fontos szerepet játszó, gyors kimenő áram, amely a sejtek tüzelési frekvenciáját szabályozza. Emellett a 3-Ap közvetve a Ca^{2+} konduktanciákat is befolyásolja és preszinaptikusan fokozza a transzmitter felszabadulást (Thesleff, 1980).

Korábbi munkákban már viszonylag részletesen leírták macska 3-Ap-nel kiváltott paroxizmális tevékenységének jellemzőit (Baranyi és Fehér, 1979; Sente és Pongrácz, 1979). Jelen munka tárgyát adó vizsgálatainkat *patkány szomatoszenzoros kérgén kialakított Tf-okon in vivo kísérletekben végeztük, melyek nagyon jó lehetőséget adtak a kémiai anyag vagy fizikai beavatkozás zavaró hatásaitól mentes epileptikus aktivitás elemzésére*, hiszen feltehetően az agy belső mechanizmusai révén alakultak ki.

A görcstevékenység keletkezésében valamint terjedésében a kéregalatti struktúrák részvételét is bizonyították, és különösen nagy figyelem fordult a bazális ganglionokra. Közülük az egyik, már többek által vizsgált, a középagyi tegmentumban található substantia nigra (SN) volt (Dean és Gale, 1989; Gonzales és Hettinger, 1984; Grant és Gale, 1987; Iadorala és Gale, 1982; Loscher és mtsai., 1987; McNamara és mtsai., 1984; Morimoto és Goddard, 1987). Két, szerkezetileg és funkcionálisan jól elkülöníthető része van: egy tömöttebb, sejtes rész a pars compacta (SNpc) és egy lazább hálózatos állományú, a pars reticulata (SNpr). Mindkét rész sok irányból érkező bemenettel és szerteágazó kimenetekkel rendelkezik. A SNpc kimeneteinek idegvégződéseai zömmel dopaminergek, a SNpr-é pedig zömmel GABAergek (Kilpatrick és mtsai., 1981). E magok epilepsziás

jelenségekben játszott szerepével kapcsolatban ellentmondásos eredményeket találtunk az irodalomban. Kísérletek bizonyítják, hogy a SNpr-ba injektált muscimol (GABA agonista) vagy GABA-transzamináz gátló nagy mértékben befolyásolja a különböző módon indukált rohamokat (Gonzales és Hettinger, 1984; Iadorala és Gale, 1982; Le Gal La Salle és mtsai., 1983, 1984; Turski és mtsai., 1986). Elektrosokkal indukált görcstevékenységen a SNpr gátlása antikonvulzív hatást váltott ki, míg pentiléntetrazol által kiváltottban hatástalannak bizonyult (Mirski és mtsai, 1986; Zang és mtsai., 1989). Ismeretes még, hogy a SNpr elektromos ingerlése a nigroalamikus kimenet aktiválása révén gátolni képes a penicillin-előidézte ECoG-s tüskéket (Sabatino és mtsai., 1988). A különböző eredmények abból adódnak, hogy a méréseket más-más görcsmodellen végezték, melyek feltehetően különböző agyi mechanizmusokat és hálózatokat aktiválnak és a görcstevékenység eltérő paramétereit, a fent említett esetekben főleg viselkedésszintű megnyilvánulásait, vizsgálták.

Egyetlen laboratóriumban sem vizsgálták azonban szisztematikusan a *SNpr szerepét* az interneuronális kapcsolatok révén terjedő *másodlagos görcstevékenység kialakulására, terjedésére és ECoG-s megnyilvánulására*. Ezért munkánk során célul tűztük ki, hogy elemezzük a SNpr egyoldali elektromos ingerlésének hatásait a 3-Ap-nel indukált elsődleges és másodlagos görcsjelenségek keletkezésére és terjedésére, valamint a patkány agykéreg általános görcskésztségének szabályozására.

Laboratóriumunkban korábban szintén vizsgálták a 3-Ap-nel epilepsziássá tett macskákban az intracellulárisan tapasztalható változásokat. Az iktális periódusok alatt óriási E-IPSP-ket,

paroxizmális depolarizációs shifteket (PDS-eket), parciális válaszokat találtak a görcstevékenységben résztvevő sejtekben (Baranyi és Fehér, 1979; Szenté és Baranyi, 1987, 1989).

Az interhemiszférális kapcsolatok révén létrejövő másodlagos epileptikus események sejtszintű vizsgálatáról is születtek már eredmények (Ishijama, 1972; Sybert és mtsai., 1970), de nem voltak adatok a *Tf iktális tevékenységének kialakulása során történő változásokra* a különböző, elektrofiziológiailag azonosított sejttípusokban. Kísérleteink célja volt az intracelluláris mikroelektródás módszer beállítása görcstevékenység elemzésére patkányon, mely a macskánál sokkal hozzáférhetőbb kísérleti állat. A másodlagos epileptogenezis során az elsődleges fókuszból érkező frekvens és tartós aktiváció számos patológiás folyamatot indíthat el a szinaptikusan kapcsolt agykérgi területeken. Munkánk célja volt, hogy a Tf-beli epileptikus neuronpopuláció sejtszintű működésének összefoglalását adja, összehasonlítva azt a fiziológiásan működő sejtekben tapasztaltakkal.

2. MÓDSZEREK

2.A. AZ EGYOLDALI SNPR INGERLÉS VIZSGÁLATÁNAK MÓDSZEREI

Kísérleteinkben mindkét nemű felnőtt Wistar patkányokat (240-280 g) használtunk, amelyeket intraperitoniálisan alkalmazott Na-pentobarbitállal altattunk (45 mg/testsúly kg). A tracheába műanyag kanült ültettünk be és a spontán légzés mellett a kísérlet során biztosítottuk az állat állandó 37°C-os testhőmérsékletét. Az állat fejét sztereotaxiás készülékben rögzítettük, majd a koponyatetőről a bőrt és az izmokat lefejtettük. Fogászati fúró segítségével eltávolítottuk a koponya egyik oldalán a parietális csontot. A másik oldalon két lyukat fúrtunk a csonton, egyiket a szomatoszenzoros kéreg felett és ott a dura matert eltávolítottuk, a másikat ettől hátrafelé kb. 3-4 mm-re. A kéreg felszínét langyos fiziológiás sóoldattal és paraffin olajjal védtük a kiszáradás ellen. A műtét okozta lehetséges sokkhatás elmúlásáig legalább egy órát vártunk és csak azután kezdtük meg az elvezetéseket. Ezalatt a feltárt agyi területet üvegcsészával beborítottuk. Az elsődleges epileptikus fókusz kialakítására a szomatoszenzoros kéreg kis területen feltárt és a dura matertől megszabadított felszínére kb. 1mm³-nyi 3-Ap kristálykát helyeztünk. Az ECoG-t az agykéreg felszínére Narishige mikromanipulátorral felhelyezett gömbvégű ezüst elektródok segítségével vezettük el mindkét agyféltekéről (általában két-két elektród). Az indifferens elektródot a frontális koponyacsonton helyeztük el. A jeleket Tektronix tároló oszcilloszkóp képernyőjén figyeltük és párhuzamosan nyolc

csatornás electroencephalograf (EEG 81) kiíráttuk. Utóbbinál 30 Hz-es felülvágó és 0.1 Hz-es alulvágó szűrőt alkalmaztunk. Egy órán át folyamatosan figyeltük a kérgi potenciálok változásait az oszcilloszkóp képernyőjén és közben ECoG mintákat rögzítettünk későbbi minőségi és mennyiségi analízis céljára. A SNpr ingerlése a 3-Ap kristály felrakásával egyidőben vagy más kísérletekben az epileptikus tevékenység kialakulása után indult. A bipoláris fém ingerlő elektródot (SNEX X-200, Rhodes Med. Inc.) sztereotaxiás készülék segítségével szúrtuk be a Pf-al ellenoldali SNpr-ba Paxinos és Watson, 1984, atlasz koordinátái alapján, a bregmához viszonyítva: 5.3 mm posterior, 2.4 mm laterálisan, 8.2 mm mélyen a koponya felszínétől. A SNpr ingerlés választott paraméterei előkísérletek alapján a következők voltak: 5 V erősség, 0.5 ms időtartam, 20 Hz frekvencia. A kísérletek végén az ingerlő elektród helyének ellenőrzése céljából elektromos léziót (0.3-0.7 mA-es katódáram, 15-30 sec) hajtottunk végre. A rögzített agyat metilénkéssel megfestettük és szövettani sorozatmetszeteken azonosítottuk az elektród helyét. Azon eseteket, melyeknél az elektród hegye a SNpr-n kívül volt, az értékelésből kihagytuk.

Egy kísérletsorozatban a szomatomotoros kéregről - a görcsfókuszok szokásos helyéről - kiváltott potenciálokat vezettünk el folyamatos SNpr ingerlés alatt nem-epileptikus, normál állatokból. Kiváltott potenciálokat a jobb vagy bal oldali bajuszrégió elektromos ingerlésével nyertük. Az elvezetés a bajuszingerléssel ellentétes oldalról történt. A szomatoszenzoros ingerlést bipoláris elektróddal végeztük, 3-5 V erősségű, 0.1-0.4 ms tartamú, 0.2-1 Hz frekvenciájú ingerekkel. A SNpr ingerlés paraméterei ugyanolyanok voltak, mint a 3-Ap-nel kezelt

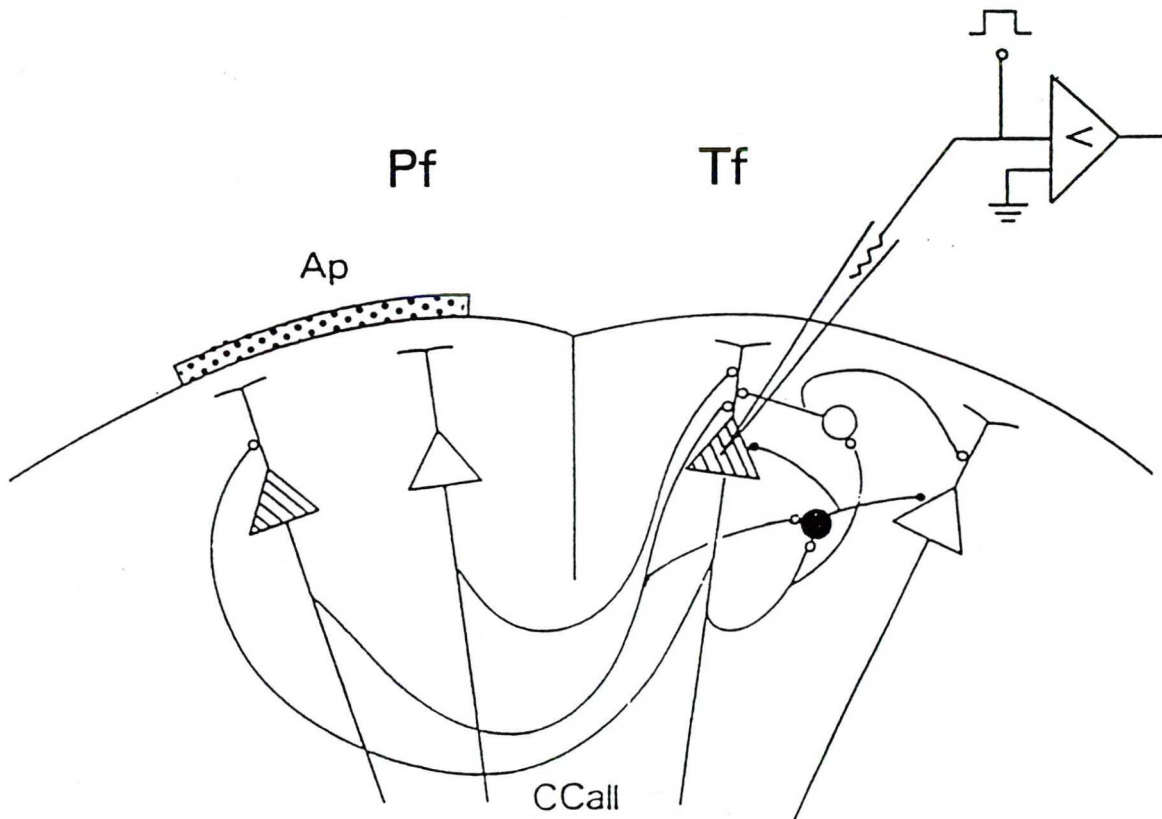
epileptikus állatok esetén. A kiváltott potenciálok elvezetését acél tűelektróddal végeztük (ellenállása 1-5 MOhm, Frederic Hear and Co., USA). Az elekromos jeleket AC erősítőn (0.5 Hz és 5kHz-es szűrőkkel) keresztül oszcilloszkópra vezettük, és ezzel párhuzamosan számítógépre is rávittük (MC 6800 Motorola). Ennek segítségével húsz kiváltott potenciált átlagoltunk és XY-íróval kiíratattuk. A kontroll (3-Ap-nel kezelt és SNpr nem ingerelt) és SNpr ingerelt állatokban regisztrált értékek közötti különbség szignifikancia vizsgálatára Student t-tesztet használtunk.

2.A. INTRACELLULÁRIS MIKROELEKTRÓDÁS ELVEZETÉS MÓDSZERE A TÜKÖR FÓKUSZBÓL

Az előzőekben leírt műtéti előkészítés mellett egy fémkanült helyeztünk az állat farki vénájába, melyen át periódikusan (két óránként) kis mennyiségű (0.02 ml, fiziológiás sóoldattal tízszeresére hígítva) pentobarbitált adtunk az egyenletes anesztézia biztosításához a hosszú kísérleti idő alatt (általában 10-12 óra). A koponyán két, 2-3 mm átmérőjű nyílást fúrtunk a két agyfélteke szomatoszenzoros kérgének homológ területei felett. Itt a dura matert óvatosan eltávolítottuk az intracelluláris elvezető elektród bevezetéséhez, illetve a 3-Ap kéregbe történő diffúziójának megkönnyítésére. A koponya e módon történő megnyitása feltehetően megakadályozta a konvulzív anyag átszivárgását más kérgi területekre. Agykérgi mikroelektródás elvezetések esetén szükséges a légzési és keringési eredetű pulzációk csökkentése, ennek érdekében a koponya kifúrása után a cisterna magnat megnyitottuk és a likvort levezettük.

Felszíni makroelektrodás elvezetéshez Narashige mikromanipulátor segítségével itt is a kéregre helyezett gömbvégű ezüstelektrodákat, indifferens pontként a nyakizomba ágyazott Ag/AgCl elektrodát használtunk. Kiváltott válaszokat a bajusz régióba szűrt bipoláris tűelektrodon keresztül váltottuk ki a fentebb leírt módon.

Kísérleteink mikroelektrodás elvezetésének sematikus elrendezését az 1. képen mutatjuk be.



1. ábra A kísérleti viszonyaink sematikus ábrázolása. A pontozott rész azt a kérgi területet jelöli, ahová a 3-aminopyridint (Ap) felhelyeztük (Pf). Az ellenoldali félteke homológ területét (Tf) intracelluláris mikroelektrodás és felszíni (nem jelölt) elvezetésekkel vizsgáltuk. A háromszög nagy piramissejteket jelöl, a csikozott principális sejtek kölcsönösen kapcsolnak a corpus callosumon keresztül. A fehér serkentő, a fekete kör gátló interneuront jelent. CCall: corpus callosum.

Intracelluláris elvezetésekhez Narashige hidraulikus mikromanipulátorral a kéregbe szúrt, boroszilikát, 1 M-os K-citrát oldattal töltött omega-dot üvegkapillárisokat használtunk. Hegyátmérőjük $0.5\ \mu\text{m}$ alatti volt, és ellenállásuk 25-80 MOhm között változott. A mikroelektród Ag/AgCl elektródon keresztül kapcsolódott a nagy bemenő ellenállású, egyenáramú erősítőrendszerhez, amely hídáramkört is tartalmazott. Adatainkat további kiértékeléshez 4 csatornás FM magnón (DC-10 kHz), később AD-DA konverteren keresztül laboratóriumi képmagnón rögzítettük. Kísérlet közbeni megfigyeléshez Tektronix oszcilloszkópot használtunk. A nyugalmi membránpotenciált a mikroelektróddal mért extracelluláris és intracelluláris DC szint különbsége mutatta. A membránellenállás mérését ismert áraminjekciók (0.2-1 nA, 50 ms, 1 Hz, 5-10 pulzus) alkalmazásával a híd kiegyensúlyozás módszere alapján végeztük.

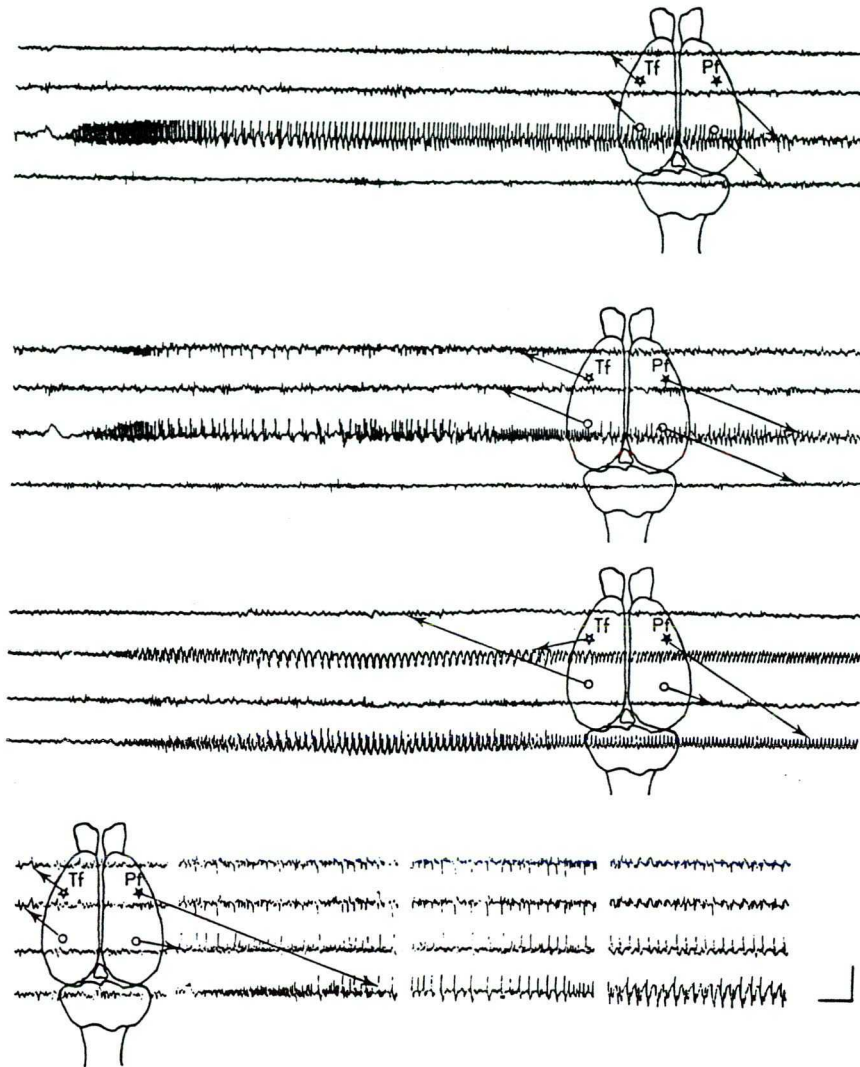
3. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

3.A. EGYOLDALI SUBSTANTIA NIGRA INGERLÉS HATÁSAI AZ AGYKÉRGİ GÖRCSTEVÉKENYSÉGRE

3.A.1. 3-Ap-nel keltett agykérgi görcstevékenység jellemzői patkányban

3.A.1.1. A görcstevékenység megjelenése

ECoG-t négy elektróddal vezettünk el az agykéreg felszínéről (2. ábra). Segítségükkel folyamatosan követtük, hogy a görcsjelenségek fokálisak maradtak-e vagy generalizálódtak és szétterjedtek az egész féltekén vagy az agykéreg egész területén. A következőekben 17 kontroll állat (3-Ap-nel előidézett epileptikus állapot SNpr ingerlés nélkül) vizsgálatának adatait összegeztük. A 3-Ap kristálynak a kéregre való felhelyezése után 4-6 perccel jelentkeztek az első fokális rohamok. Ezután hasonló ECoG-s mintázattal 70-90 másodperc időtartamú iktális részek követték egymást periódikusan, 18-24-szer egy óra alatt (5. ábra). Az interiktális szakaszokban a 3-Ap-nel nem kezelt állatokhoz hasonló volt az ECoG. A periódikus rohamokon kívül néhány állatban ($n = 3$) (18 %) status epilepticus jellegű görcstevékenységet is észleltünk, amely interiktuszok nélküli, vagy néhány szekundumos szünetekkel megszakított folyamatos iktális tevékenység volt (2.C ábra). Az interhemiszférális kapcsolatok révén (corpus callosum, intertalamikus rostok, stb) indukálódó másodlagos fókuszok közül a Pf-szal homológ ellenoldali kérgi területen (Tükör fókusz: Tf) jelent meg először görcstevékenység. A Tf-beli görcstevékenység



2. ábra 3-Ap-el kiváltott epileptikus tevékenység ECoG-s mintázatai altatott patkány agykérgén. Az elvezetések helyeit sematikus ábrán jelöltük. **A:** Az elsődleges fókuszra (Pf-ra) korlátozódó fokális iktális periódus. A kiemelt ECoG-s részletek a három fő jellegzetes tüzelési mintázatot szemléltetik. **B 1,2:** Pf és az ellenkező oldali agykéreg homológ területén kialakuló tükrözött fókusz (Tf) iktális periódusai két különböző állapotban. **C:** Egy status epilepticus jellegű görcstevékenység, amely kiterjedt az egész agykéregre. Kalibráció: 1 sec, 1 mV.

latencia ideje a 3-Ap felhelyezésétől számítva 6-8 perc volt. Az első iktális roham leggyakrabban a 2. vagy 3. Pf-beli roham után jelent meg Tf-ban (2.B ábra). Néhány esetben Tf már az első Pf-beli roham idején aktivizálódott.

3.A.1.2. A másodlagos epileptogenezis szakaszai

A Tf ECoG-s tevékenységében a Pf-hoz viszonyítva három szakaszt különböztettünk meg (3. ábra).

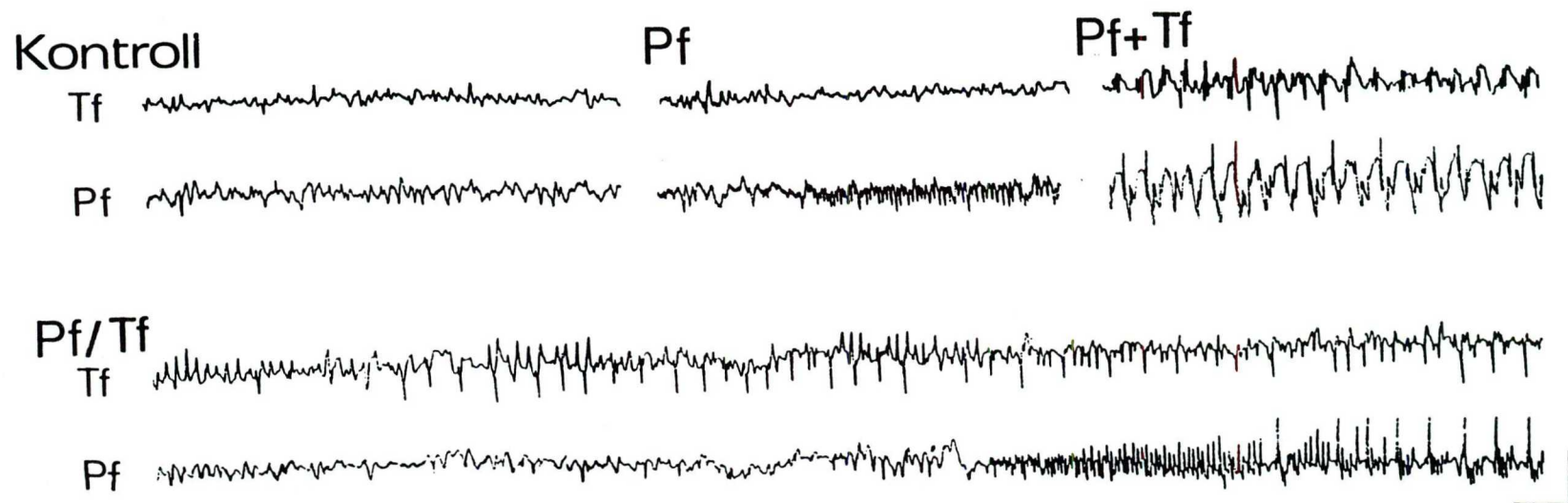
1. Pf szakasz: Csak a 3-Ap felhelyezés helyén alakult ki paroxizmális aktivitás. Így más elvezetési pontokon (beleértve Tf-t is) még a kontrollra jellemző ECoG volt.

2. Pf+Tf szakasz: A Pf-en kívül már az ellenoldali féltekére áttérjedő epileptikus tevékenység is megjelent, ennek intenzitása általában a Pf-é alatt maradt, bár az iktális periódusok ismétlődésével fokozatos növekedést mutatott. A Tf passzívan követte Pf iktális eseményeit, vagyis Tf rohamai egyidőben indultak a Pf-beliekkel és a kialakult görcsjelenség azonos mintázatú volt. Általános megfigyelésünk volt, hogy a Tf interiktális tevékenységében dominálóvá vált egy jellegzetes amplitúdójú és frekvenciájú ECoG mintázat, az ún. orsótevékenység.

3. Pf/Tf szakasz: Kísérleteink kb. 10%-ában a két fókusz szinkron tevékenység után (15-18 iktális periódus ismétlődése, kb. 40 perc elteltével) a Tf bizonyos mértékű önállósodást mutatott. A Tf függetlenedését mutatta, ha nem szinkron módon tüzelt a Pf-szal, az epileptikus roham indulása függetlenné vált a Pf-étől, ECoG mintázatuk eltért, vagy a két fókusz felváltva tüzelt. Az előző szakaszban megnövekedett gyakoriságú orsótevékenység állandósult.

3.A.1.3. A görcspotenciálok mintázatai

Mindkét fókusz epileptikus ECoG-s tevékenységében három különböző frekvenciájú, amplitúdójú és hullámformájú mintázatot figyeltünk meg, melyeket A, B, illetve C betűkkel jelöltünk (2.A ábra). E három mintázat együttes megjelenése alkotta a periódikus



3. ábra Elektrokortikogramok normál körülmények között és az epileptogenezis során mindkét fókuszbán. A kontrollal jelölt ábrarészen a 3-aminopyridin (3-Ap) felhelyezés előtti ECoG-t mutatjuk. Pf: 3 perccel a 3-Ap felhelyezése után csak Pf-ban láthatunk görcstevékenységet, az iktális periódus kezdetét. Pf+Tf: Pf rohamok ismétlődésével Tf-ban is megjelentek görcspotenciálok, 20 perccel a 3-Ap felhelyezése utáni elvezetés. Pf/Tf: A 40. percben Tf-ban epileptiform potenciálokat látunk Pf működése nélkül és Pf tónusos fázisában is eltérő mintázatot mutat a Tf. Kalibráció: 1 mV, 1 sec.



rohamokat, melyen belül A, B és C szakaszok sorrendje váltakozó volt. A folyamatos, status epilepticus-szerű iktális tevékenységekben is e három mintázat volt felismerhető, ugyancsak váltakozó sorrendben. Gyakran megfigyelhető volt, hogy az A, B és C periódusok átmenet nélkül, nagyon jól felismerhető határral követték egymást. A mérések során néhány, jellegzetes 2-5 s-os részt választottunk ki a három mintázatból és ezekből képeztük A, B, C-re jellemző amplitúdó (csúcstól csúcsig mérve) és frekvencia átlagokat. A Tf görcspotenciál amplitúdója általában kisebb volt, mint a megfelelő Pf-belieké. Az A mintázatot 10-15 Hz frekvenciájú, kétfázisú ritmikus tüskék (spike) jellemezték. Egészen kis amplitúdójú repetitív tüskékkel indult, melyek amplitúdója fokozatosan növekedett és ezzel párhuzamosan frekvenciájuk csökkent. Az A mintázat tüskéinek amplitúdója átlagosan 700 μV (7. ábra), időtartama viszonylag rövid volt: 7-8 sec, ami az összes iktális időtartam 11-15 %-át tette ki mindkét fókuszban (6. ábra). A Pf-ban az A mintázat összes iktális periódus 76 %-ában, Tf-ban pedig 72 %-ában fordult elő (8. ábra). A rohamokat általában az A mintázatú tevékenység vezette be. A B mintázatot 4-9 Hz frekvenciájú, nagyobb amplitúdójú, (900-1000 μV) (7. ábra), többnyire pozitív polaritású, egyfázisú tüskék alkották. A gyors pozitív tüske komponenst időnként lassú negatív hullám követte. A B típus a leghosszabb időtartamú mintázat (40-50 sec) volt, Pf-ban a teljes iktális időtartam 47 %-át és a Tf-ban 70 %-át foglalta le (7. ábra). Az össz iktális periódus 86 %-ában található meg a Pf-ban és a Tf 80 %-ában (8. ábra). Átmenete A-val nem volt olyan éles, mint a következő C mintázattal. A C mintázatot 1-3 Hz-es, tüske-hullám csoportokra tagolódott. Átlagos időtartama

egy iktális perióduson belül 24 sec volt, ami a Pf összes iktális periódusának 42 %-át, míg Tf-ban csak 18 %-át jelentette (6. ábra). A túske komponens 850-950 uV amplitúdójú pozitív fázisú volt, amit kis amplitúdójú negatív hullám követett (7. ábra). Gyakran előfordult, hogy a túske komponens több, kis amplitúdójú, gyors hullámokból álló børszt követte (2-4 spike, 10-12 Hz frekvenciával). Előfordulási gyakoriságot tekintve 89 % a Pf-ban és 30 % a Tf-ban (8. ábra).

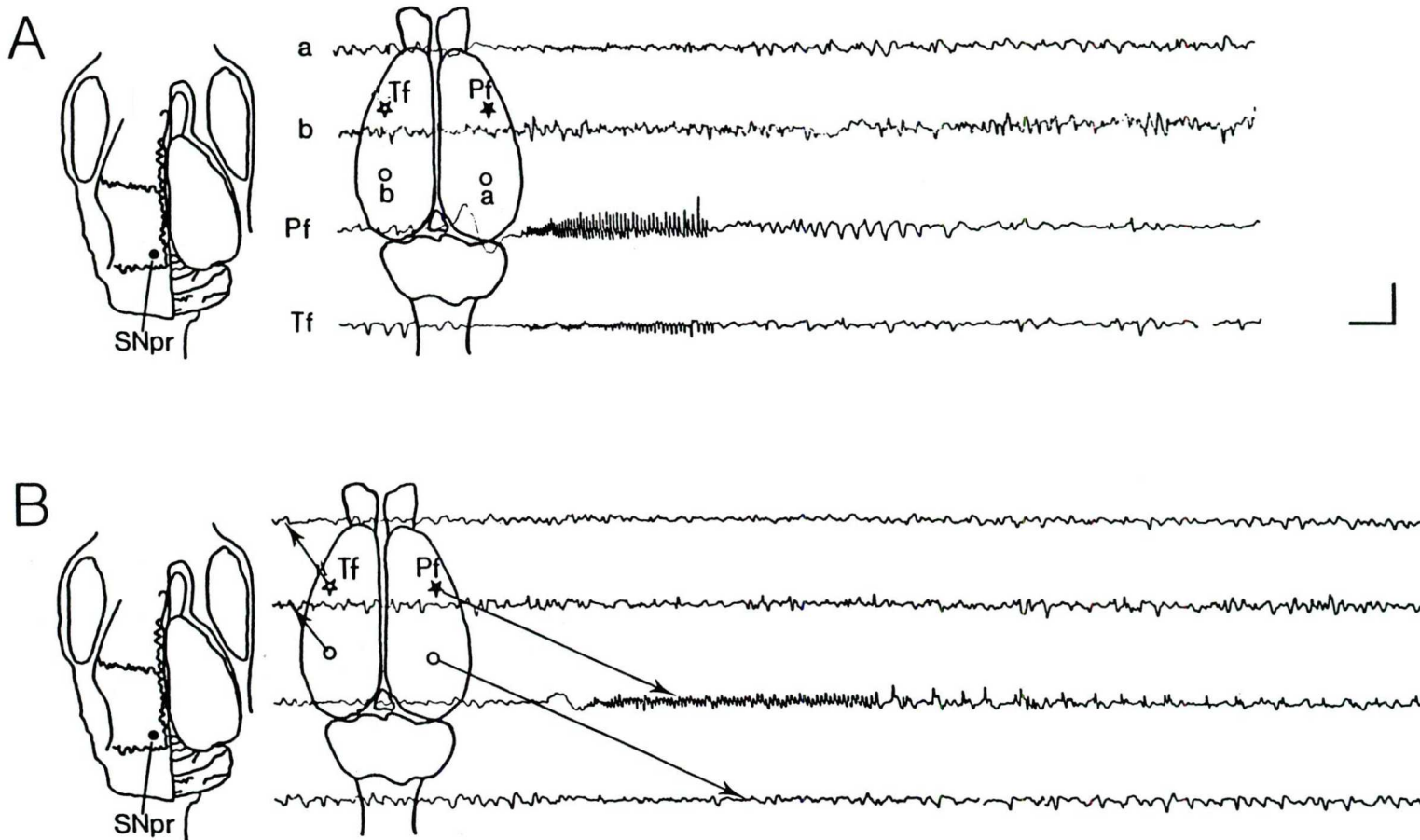
3.A.2. SNpr ingerlés hatásai a 3-Ap-nel előidézett epileptikus tevékenységre.

3.A.2.1. A 3-Ap felhelyezésével egyidejű SNpr ingerlés hatásai

Vizsgálataink során a 17 kontroll (SNpr ingerlés nélküli) állat adatait hasonlítottuk össze 25 SNpr ingerelt állat adataival. Elemeztük a 3-Ap alkalmazásával ellentétes oldali SNpr elektromos ingerlésének hatását a görcsjelenség kialakulására és a terjedésére. Összehasonlítottuk a görcstevékenység megjelenéséig eltelt időt (latenciaidő) a kontroll és SNpr ingerelt állatokban, a rohamok hosszát és megjelenésük számát, valamint az iktális és interiktális idő alakulását egy órás mérési periódus alatt. Elemeztük az A, B és C ECoG-s minták előfordulási gyakoriságát, átlagos hosszukat, valamint a görcspotenciálok amplitúdóját.

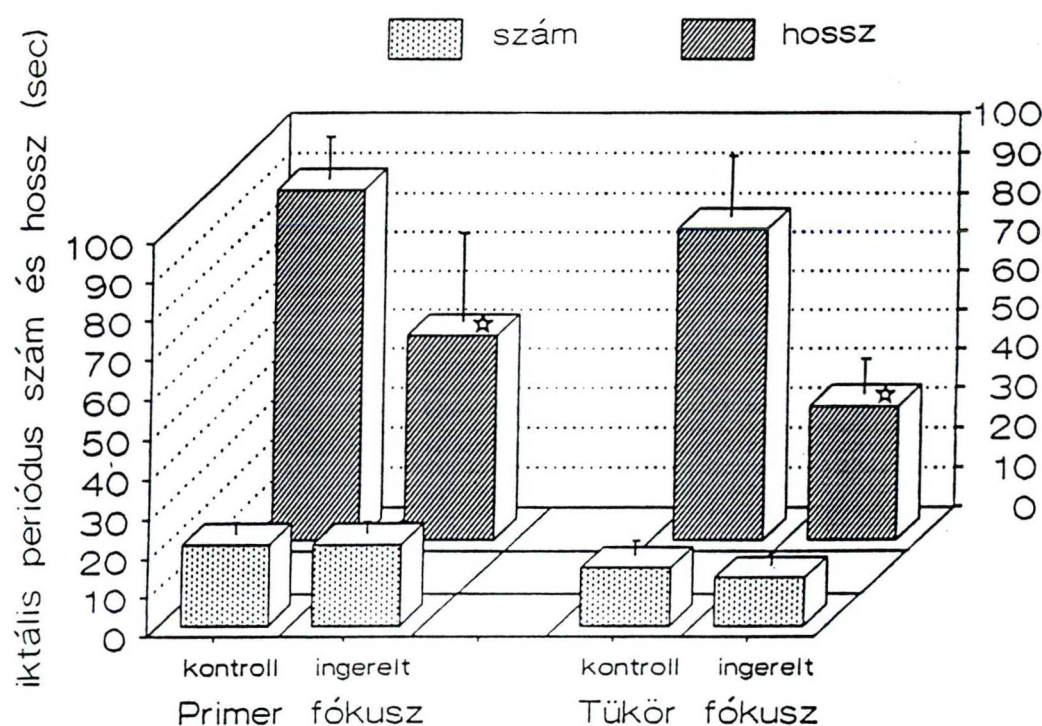
A SNpr ingerlése egy általános antikonvulzív hatást eredményezett, ami érvényesült mind az elsődleges, mind a másodlagos epileptikus fókuszokban. Mindkét oldalon csökkent az agykéreg görcstevékenysége és az epileptikus aktivitás terjedése. Meglepő eredményként a SNpr ingerlés nemcsak az ingerlés oldalán

levő Tf-ra, hanem a Pf-beli eseményekre is hatást gyakorolt (4. ábra).



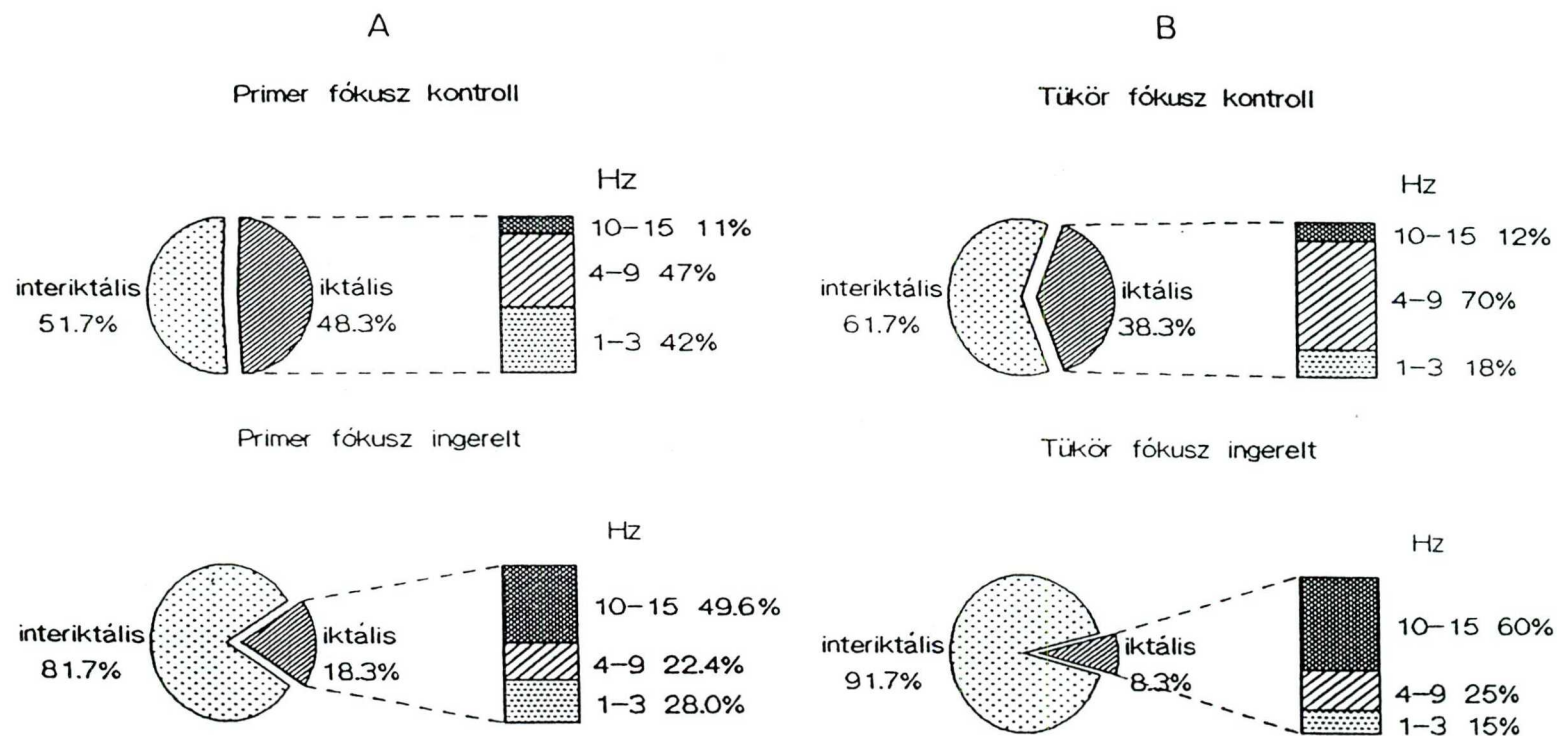
4. ábra SNpr elektromos ingerlésének hatása az agykéreg epileptikus tevékenységére. **A:** Nagy mértékben redukált görcstevékenység a Pf- és a Tf-ban. **B:** Erőteljesen csökkent epileptikus tevékenységű iktális periódus csak a Pf-ban. (SNpr a sematikus ábrán az ingerlés helyét jelöli.) Kalibráció: 1 sec, 1 mV.

A SNpr ingerelt állatokban a Tf kialakulásának gyakorisága 15 %-al alacsonyabb volt, mint a kontroll állatokban. Status epilepticus egyáltalán nem alakult ki, sem a Pf-ban sem a Tf-ban. Pf-ban az első roham megjelenésének latenciaideje kb. kétszeresére nőtt (11-13 perc), a Tf-beli görcstevékenység latenciája ezzel párhuzamosan változott. Mindkét fókuszból lényegesen csökkent az iktális periódus hossza, azonban a Tf-ban a csökkenés nagyobb mértékű volt. Bár az iktális szakaszok hossza megrövidült, ezzel szemben számuk a Pf-ban nem változott, míg a Tf-ban némileg csökkent (5. ábra).



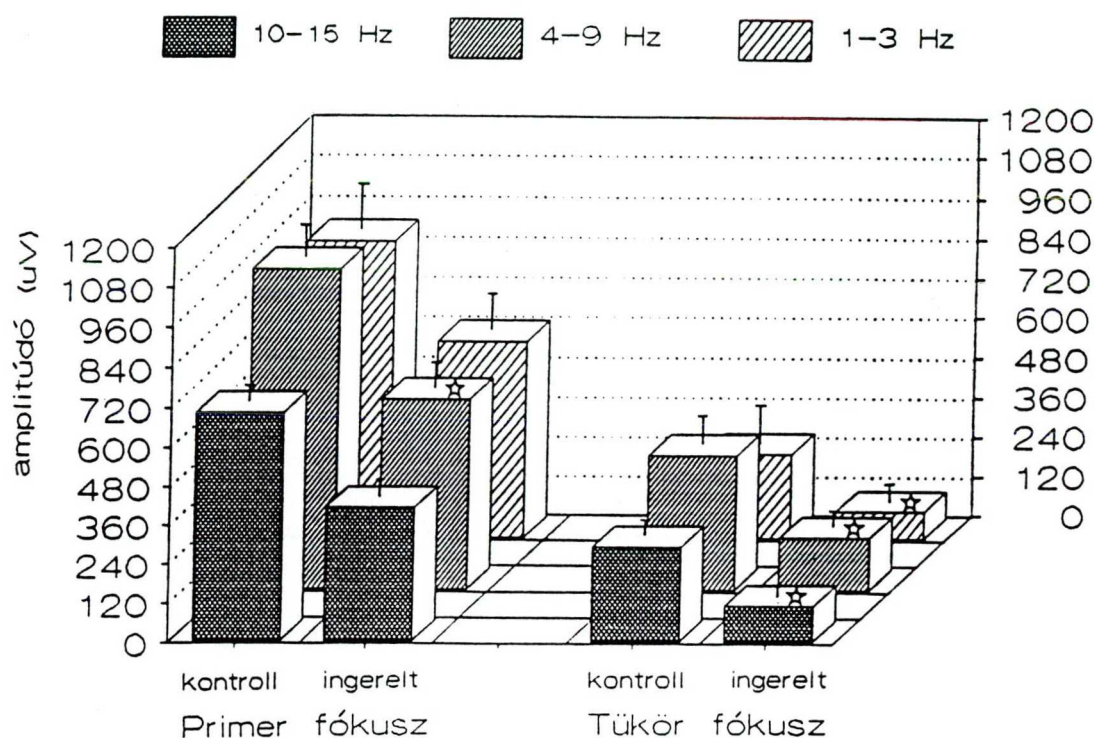
5. ábra Az iktális periódusok számának és átlagos időtartamának alakulása kontroll és ingerelt állatokban egy órás megfigyelési periódus alatt. A csillaggal megjelölt eredmények szignifikánsak (Student t-teszt, $p < 0.02$).

A rohamok szerkezete is megváltozott SNpr ingerlés hatására (6. ábra). Az egyes ECoG frekvencia tartományok (A, B, C) időtartama és a görcspotenciálok amplitúdója (7. ábra) csökkent. Ebben az



6. ábra A görcstevékenység iktális és interiktális tagolódása egy óra alatt, valamint a három fő ECoG mintázat %-os megoszlása az iktális periódusokon belül.
A: Primer fókusz, **B:** Tükör fókusz

esetben is a Tf-beli változások voltak nagyobb mértékűek. Az A, B, C mintázatok előfordulási gyakoriságát az összes roham százalékában összegeztük. A kontrollhoz képest az A mintázat részaránya az egyes rohamokon belül szelektíven megnőtt. A Tf-ban leggyakrabban előforduló B mintázatot felváltotta az A mintázat, Pf-ban is az A vált leggyakoribbá (8. ábra).



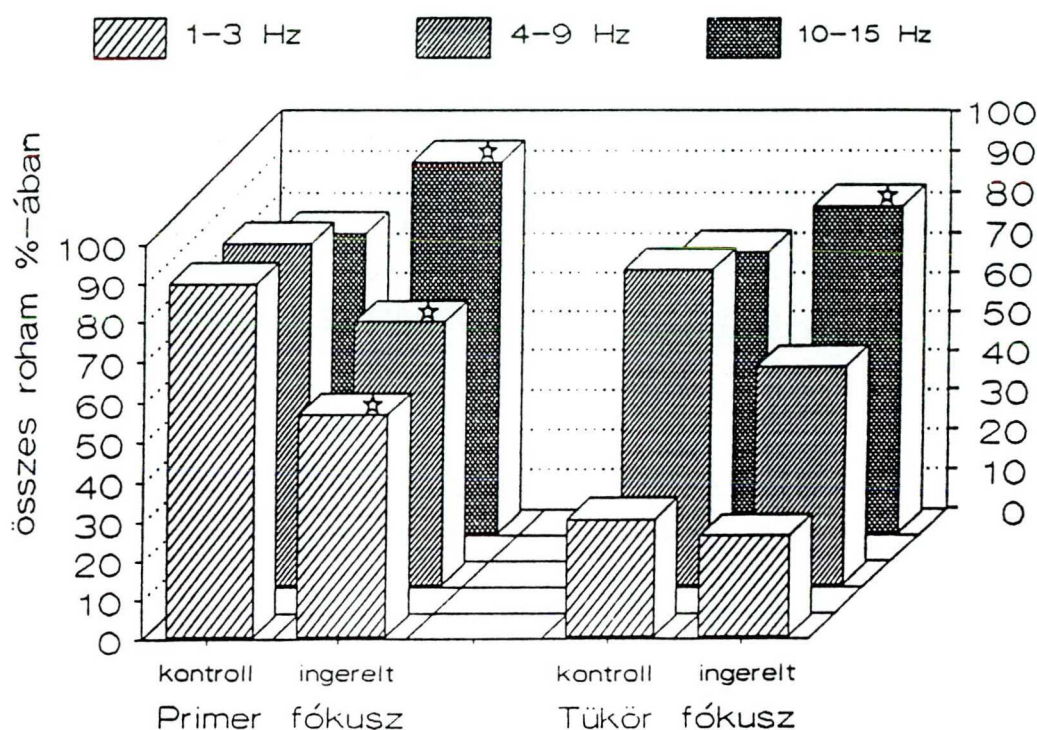
7. ábra A görcspotenciálok amplitúdói kontroll és SNpr ingerelt állatokban. A csillaggal megjelölt eredmények szignifikánsak (Student t-teszt, $p < 0.02$).

3.A.2.2. A paroxizmális tevékenység kialakulása utáni SNpr ingerlés hatásai

Négy kísérletben a SNpr ingerlést akkor indítottuk, amikor az epileptikus tevékenység már mindkét fókuszban kifejlődött. Azt tapasztaltuk, hogy a már aktív epileptikus fókuszok tevékenységét a későn indított SNpr ingerlés nem volt képes befolyásolni.

3.A.2.3. SNpr ingerlés a háttér ECoG-ra gyakorolt hatásai kontroll állapotban és interiktális periódusban

Az agykérgi háttér ECoG-s tevékenységében a 3-Ap felhelyezése előtti kontroll állapotban és az interiktális periódusok idején végzett SNpr ingerlés hatására nem tapasztaltunk szembetűnő változást.



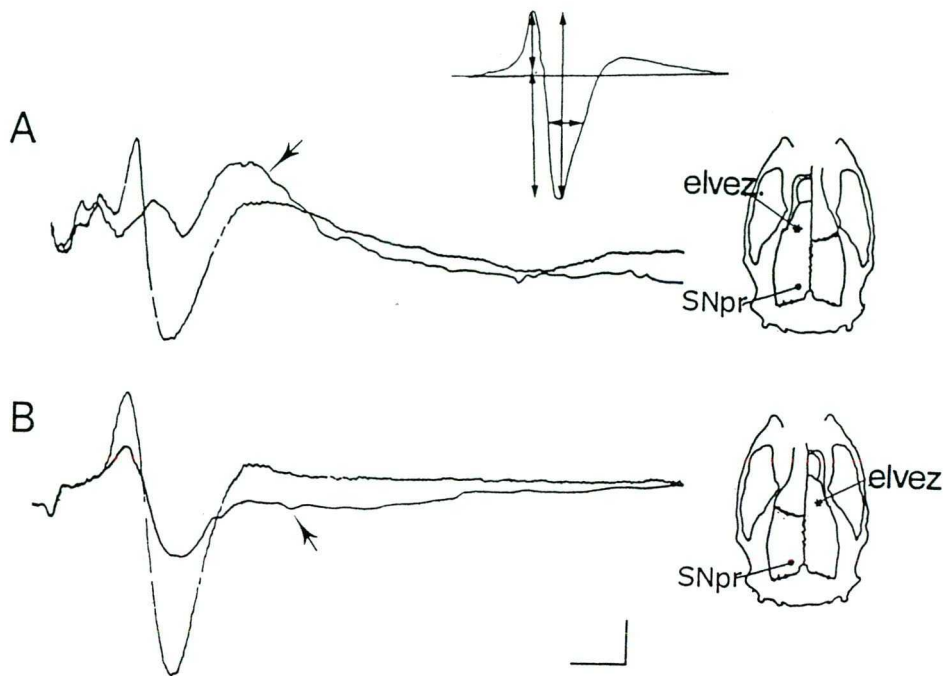
8. ábra A három fő frekvencia tartomány (A mintázat: 10-15 Hz, B mintázat: 4-9 Hz, C mintázat: 1-3 Hz) előfordulási gyakorisága az iktális periódusokban. A csillaggal megjelölt eredmények szignifikánsak (Student t-teszt, $p < 0.02$).

3.A.3. SNpr ingerlés hatásai a kiváltott potenciálokra

A kontroll és az interiktális háttér ECoG tevékenységben nem észleltünk lényeges közvetlen változást SNpr ingerlés idején. Ezért kíváncsiak voltunk, hogyan hat a SNpr ingerlés a 3-Ap-nel nem kezelt (normál) állatok agykérgéről elvezethető, jól mérhető

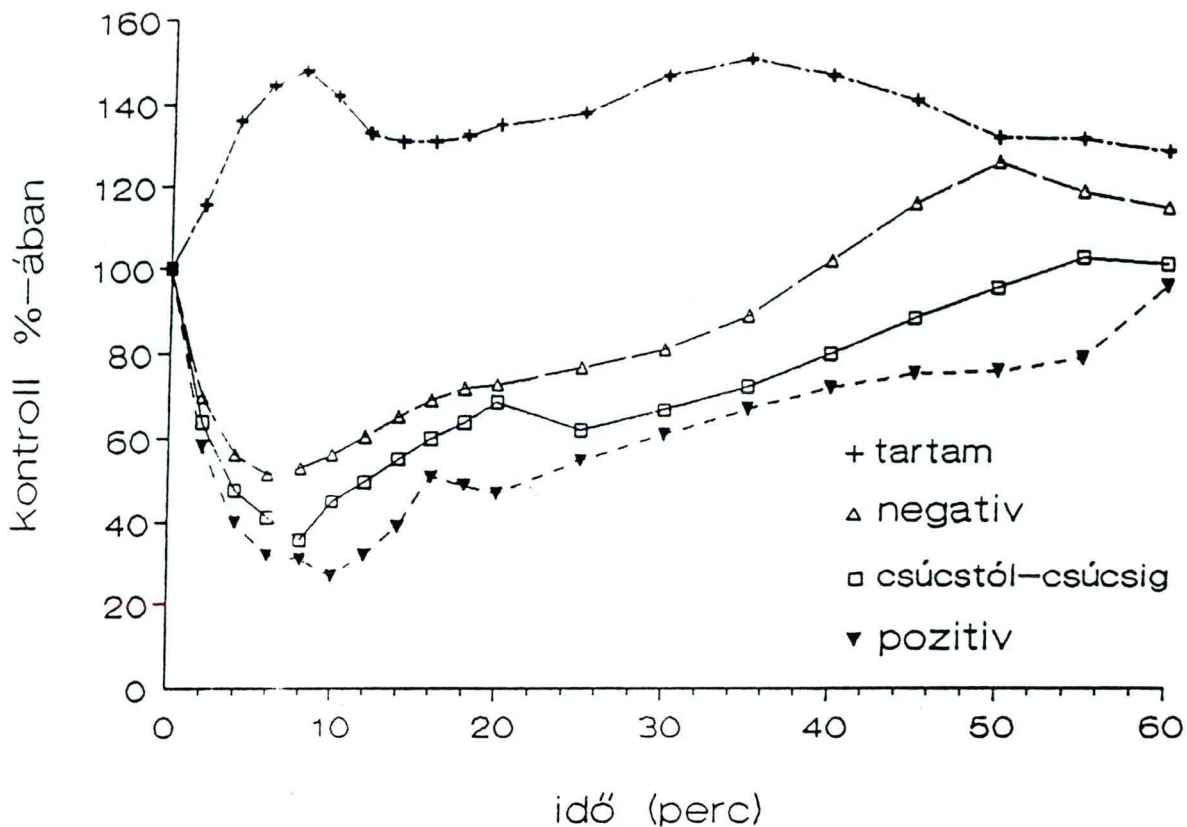
paraméterekkel rendelkező eseményfüggő potenciálokra. A folyamatos SNpr ingerlés idején a patkány bajuszrégió ingerlésével kiváltott potenciált vezettünk el az agykéreg azon régióiról, ahol más kísérletekben az elsődleges vagy másodlagos epileptikus fókuszt szoktuk kialakítani. Emiatt a kiváltott potenciál alakja a klasszikus nagy pozitív-kis negatív komponensekből állótól egy kicsit eltért, egy kis korai negatív hullámot (az afferensek apikális dendritekre befutó ingerületei) is találtunk, ami lokális felszíni negativitást tükröz. Ezt nagy pozitív komponens (a sejttest és a bazális dendritek depolarizációja) követte, majd a kései lassú negatív komponens (piramissejtek axonkollaterálisai által aktivált gátló interneuronok posztszinaptikus potenciáljai, illetve nem specifikus afferenseken érkező depolarizáció a csúcsi dendriteken).

Megmértük az említett két első alkotórész amplitúdóját, a csúcstól-csúcsig amplitúdót, a két komponens fél amplitúdónál mért szélességeit (9. ábra). Eredményeinket a SNpr ingerlés időtartamának függvényében ábrázoltuk a kontroll kiváltott potenciálok jellemző paramétereinek százalékában. SNpr ingerlés alatt a kiváltott potenciáloknak az amplitúdó- és időviszonyai átalakultak. A SNpr ingerlés legerőteljesebb hatást az amplitúdókra és a nagy pozitív komponens fél amplitúdónál mért szélességére (időtartam) gyakorolt (10. ábra). A neuronális pályákat jellemző, szinapszisaik számától függő csúcslatencia vizsgálataink során nem változott. A SNpr ingerléssel azonos oldalról elvezetett kiváltott potenciálok paramétereinek változását az jellemezte, hogy az első tíz percben az amplitúdó nagy mértékben csökkent és a kiváltott potenciál időben megnyúlt.

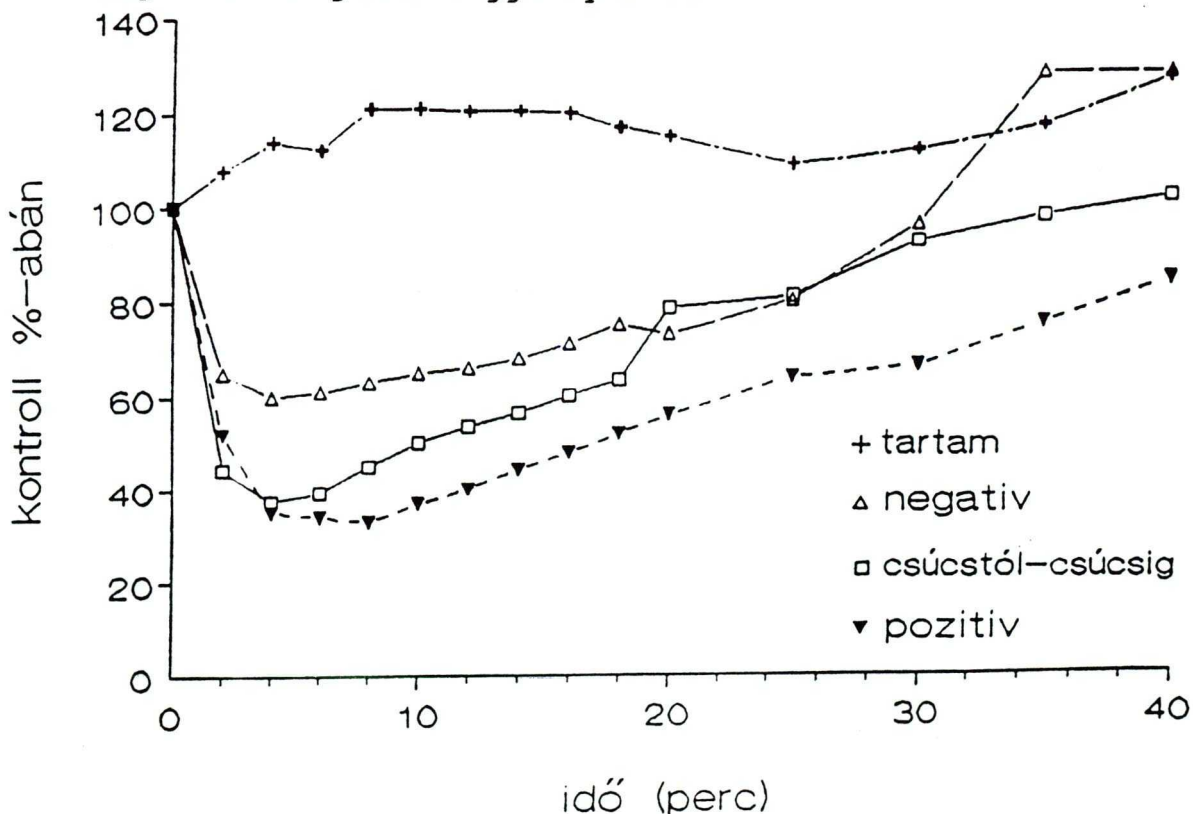


9. ábra Egyoldali folyamatos SNpr ingerlés hatása agykérgi kiváltott potenciálokra. Az elvezetés az ingerlés megkezdése előtt és elindítása után 20 perccel történt (a nyíllal jelzettek). Egy görbe 20 kiváltott potenciál átlagát mutatja. **A:** a SNpr ingerlés és a kiváltott potenciál elvezetés azonos oldalról, **B:** ellentétes oldalról történt. Kalibráció: 100 uV, 15 ms. A kiváltott potenciál sematikus ábráján a vizsgált paramétereket tüntettük fel.

További SNpr ingerlés ellenére a kiváltott potenciál nagysága fokozatosan visszatért az eredeti értékére, sőt 50-60 perc elteltével néha még túllövést is tapasztaltunk (10. ábra). A SNpr ingerléssel ellentétes oldalon a tendencia ugyanez, de a hatás mérsékeltebb volt (11. ábra).



10. ábra Kiváltott potenciál változása SNpr ingerléssel azonos oldalon. Az alsó három görbe a negatív és pozitív komponens amplitúdóját, valamint a csúcstól-csúcsig mért amplitúdót mutatja, a felső görbén pedig a pozitív komponens fél amplitúdónál mért szélességét vagyis időtartamát ábrázoltuk a SNpr ingerlés idejének függvényében.



11. ábra Kiváltott potenciál változása SNpr ingerléssel ellentétes oldalon. Az alsó három görbe a negatív és pozitív komponens amplitúdóját, valamint a csúcstól-csúcsig mért amplitúdót mutatja, a felső görbén pedig a pozitív komponens fél amplitúdónál mért szélességét vagyis időtartamát ábrázoltuk a SNpr ingerlés idejének függvényében.

3.A.4. Megbeszélés

Adataink bizonyítják a SNpr elektromos ingerlésének a 3-Ap-nel előidézett agyi görcstevékenységre irányuló antikonvulzív hatását. Ez a megfigyelésünk összhangban van más kutatók eredményeivel, akik valamely módon szintén fokozták a SNpr kimeneteinek aktivitását (Kilpatrick és mtsai., 1981; Ono és Wada, 1987; Sabatino és mtsai., 1988; Ueki és mtsai., 1977; Zang és mtsai., 1989), ami antiepileptikus hatást eredményezett. Saját kísérleteinkben a primer epileptikus fókusszal ellenkező oldali SNpr elektromos ingerlését alkalmaztuk. Az egyoldalú SNpr ingerlés mindkét hemiszférára antikonvulzív hatással volt. A rohamok terjedésére és intenzitására egyaránt gátló hatású az SNpr ingerlés. A Tf kialakulásának gyakorisága csökken, status epilepticus jellegű görcsaktivitás ingerlés esetén nem alakul ki. A SNpr ingerlés késlelteti a görcstevékenység megjelenését, csökkenti a görcspotenciálok amplitúdóját. Csökken a rohamok időtartama, habár számuk lényegesen nem változik. A rohamok struktúrájában is változás van: az A mintázat gyakorisága és részaránya szelektíven megnő mindkét fókuszban a másik kettő rovására. A már kialakult epileptikus fókusz aktivitására a SNpr ingerlés nincs hatással.

A SNpr valószínűleg a talamikus magvak felé haladó gátló, GABA-erg efferensei révén csökkenti az agykéreg görcskésztségét (Deniau és Chevalier, 1985; Deniau és mtsai., 1978; McLoad és mtsai., 1980; Mirski és mtsai., 1986; Rinvik, 1975; Sabatino és mtsai., 1988). Minden olyan hatás, amely a SNpr talamusz felé vezető GABAerg kimenetét aktiválja, beavatkozik a

thalamo-kortiko-talamikus reverberációs körbe, gátolja azt.

A SNpr-nak kimenete van a tektum, tegmentum és a talamusz felé, ezenkívül a rostralis és ventrolateralis része axon kollaterálisokat ad a striatumba és mindkét oldali colliculus superiorba (dopamin- vagy GABA-erg végződés) (Chambell és Takada, 1989; Gray's Anatomy, 1980). A colliculus superior efferensei közül az agykéreg felé is haladnak rostok. Ezek a kapcsolatok, valamint az intertalamikus, interkortikális kapcsolatok magyarázhatják az egyoldali ingerlés mindkét oldalon megnyilvánuló antikonvulzív hatását.

Elektrofiziológiai bizonyítékok vannak arra, hogy létezik egy striato-nigro-talamikus pálya, amely két egymás után következő gátló (negatív feed-back) részből áll (Ueki és mtsai., 1977; Uno és mtsai., 1978; Yoshida és Prech, 1971). A striatum hatása a thalamokortikális neuronokra is valószínűleg a SNpr talamusz felé vezető (GABA-erg) kimenetének gátlásán alapul (Deniau és Chevalier, 1985; Di Chiara és mtsai., 1979; Le Gal La Salle és mtsai., 1983, 1984; Ono és Wada, 1987). A nagy frekvenciájú mintázat gyakoriságának növekedésére az lehet a magyarázat, hogy ezeket a görccspotenciálokat feltehetően intrakortikális, kevesebb neuronból álló hálózatok hozzák létre. Ezekre a hálózatokra a SNpr ingerlés feltehetően kevésbé hatásos. A kisebb frekvenciájú B és C mintázat kialakításában pedig a multineuronális thalamo-kortiko-talamikus és szubkortikális köröknek lehet szerepük. A SNpr GABAerg efferenseinek gátló hatása valószínűleg elsősorban az utóbbi, több neuron komponensű hálózatokra irányul.

Mivel a SNpr ingerlés nem tudta megszüntetni az epileptikus jelenségeket, csak csökkentette azokat, valószínű hogy a SNpr-nak

nem a rohamok kialakulásában van hatása, inkább az agykéreg általános görcskészségét szabályozza azáltal, hogy ellenőrzi a görcs kialakításában résztvevő neuronhálózatok működését.

A kiváltott potenciál folyamatos SNpr ingerlés alatti változását kezdetben a SNpr-nak a talamikus VL-ra irányuló fokozott gátló hatása, majd a GABAerg transzmitter raktárak kiürülésével a tónusos gátlás csökkenése illetve megszűnése magyarázhatja (Zucker és Nicoll, 1990).

3.B. INTRACELLULÁRIS SEJTTEVÉKENYSÉG A TÜKÖR FÓKUSZBAN

3.B.1. A kezeletlen patkány agykéreg neuronjainak általános jellemzői

Intracelluláris elvezetések 30, mindkét nemű, felnőtt patkány 31 sejtjéből végeztük. 15 neuront a 3-Ap felhelyezése előtt is vizsgáltunk és végigkövettük a Tf kialakulásának különböző szakaszai alatt, ami átlagosan 2 perccel az első Pf-beli görcspotenciál megjelenése után kezdődött. A többi 16 sejtet a már meglevő Tf valamely szakaszában találtuk és elemeztük. Leírásunk elsősorban az előbbi 15 neuront fogja össze. A többi sejt intracelluláris megnyilvánulásai alapján is (a párhuzamosan elvezetett ECoG mellett) besorolhatók voltak a megfelelő Tf szakaszokba.

Tüzelési aktivitás és membránparaméterek

Ugyanazon neuronok membránpotenciáljait (V_m), membránellenállásait (R_m), a spontán tüzelési aktivitásukat, az akciós potenciálok alakjait és amplitúdóit, a kiváltott posztszinaptikus potenciálok alakulását, változásait követtük figyelemmel a görcspotenciálok kialakulása előtt és különböző fejlődési szakaszaiban (1. táblázat). Nehéz kísérleti körülményeink között kevés ilyen sejtet találtunk ahhoz, hogy statisztikai analízist készíthessünk. Kísérleteinkben azokat a sejteket vettük figyelembe, melyek V_m -ja negatívabb volt, mint -55 mV és az akciós potenciál amplitúdója nagyobb volt, mint 60 mV. Vizsgált sejtjeink a kéreg felszínétől 200-1400 μm mélységben voltak. Patkány agykérgében, a kóros jelenségek jobb megértése érdekében, külön tanulmányoztuk az

eltérő tüzelési mintázatú sejteket. Tüzelési aktivitás-mintázatuk alapján 3 sejttípust tudtunk elkülöníteni: (a) szabályosan tüzelő (regular spiking: rsp), (b) börsztőlő, (c) gyorsan tüzelő. Az alapvető elektromos tulajdonságaik megegyeztek a mások által in vivo patkány neokortexben találtakkal (Domann és mtsai., 1991; Kobayashi és mtsai., 1993; Oka és mtsai., 1993; Pockberger, 1991).

(a) A *szabályosan tüzelő sejt* tüzelési aktivitását egyes akciós potenciálok jellemzik. Depolarizáló áraminjekcióra (0.2-1 nA, 100 ms) a tüzelési aktivitás erőteljes frekvencia adaptációt mutatott. Az akciós potenciálokat általában egy korai, gyors, majd egy késői, lassú utóhiperpolarizáció követte (fAHP, sAHP). Néhány sejtben kis amplitúdójú utodepolarizációt figyelhettünk meg. A kéregben 300-1400 μm mélységig, tehát szinte minden rétegben találtunk rsp sejteket.

(b) A *börsztőlő sejt* akciós potenciál csoportokat képzett és ugyanígy válaszolt depolarizáló áramimpulzusokra is. Azokat a sejteket, melyekben a 3-5 egymást követő akciós potenciál amplitúdója fokozatosan csökkent, szélessége nőtt és gyakran parciális válaszokká alakultak, inaktiválódó börsztőlő (ib) neuronoknak nevezzük. Más sejtekben a 2-5 akciós potenciál amplitúdója változatlan volt, ezek a nem-inaktiválódó börsztőlő neuronok (nib) (nagyfokú hasonlóság éber macskában leírt sejtekkel, Baranyi és mtsai., 1993,a,b). Bennük - a börsztőkön kívül előforduló egyes akciós potenciálok után - megfigyelhettük a gyors utóhiperpolarizációt, míg az inaktiválódó típusú sejtekből hiányzott. Börsztőlő sejtek a kéreg 800-1300 μm -e között fordultak elő. Kevés számuk miatt a két börsztőlő típust (4 nem-inaktiválódót és 2 inaktiválódót találtunk) az elemzésben együtt

tárgyaljuk.

(c) A gyorsan tüzelő sejtek jellegzetesen gyors és rövid időtartamú akciós potenciálokat mutattak és nem adaptálódó magas frekvenciájú tüzelési mintázattal rendelkeztek. Az akciós potenciálokat csak gyors utóhiperpolarizáció követte, lassú nélkül. Mivel nem tudtuk hosszú idejű, stabil elvezetésüket megoldani epileptikus tevékenység alatt, ezek nem szerepelnek a további leírásokban.

Elemzéseink középpontjában álló 15 sejtből 9 rsp, 6 börsztölő volt. Az a 16 sejt, amit már az epileptikus tevékenység megjelenése után regisztráltunk 8 rsp és 8 börsztölő (5 nib, 3 ib) sejtre oszlott. Érdekes megfigyelésünk volt ez utóbbi csoportban, hogy börsztölő sejteket a felsőbb kérgi rétegekben is találtunk.

Szinaptikus válaszok

Az ellenoldali bajusz régió közepes erősségű ingerlése rövid latenciájú, kis EPSP-t váltott ki, amelyet IPSP követett. 3 rsp sejtben egy hosszabb latenciájú EPSP az IPSP-re tevődött rá. 6 rsp sejtben az IPSP két elkülöníthető részből állt. A rövid, korai komponenst (30-40 ms csúcslatencia) egy lassúbb (60-80 ms csúcslatencia), hosszabb időtartamú (150-200 ms) összetevő követett. Börsztölő sejtekben az EPSP-t rendszerint egykomponensű, kisebb amplitúdójú IPSP követte.

1. Táblázat

	V_m (mV)	R_m (M Ω m)	akc. pot. nagyság(mV)	akc. pot. időtartam(ms)	Spontán tüzelés(Hz)
<i>Kontroll szakasz</i>					
rsp sejtek	63.3 $\pm$ 3.5 (n=9)	22.8 $\pm$ 6.9 (n=7)	65.1 $\pm$ 3 (n=9)	0.45 $\pm$ 0.04 (n=9)	13.1 $\pm$ 1.6 (n=9)
börsztölő sejtek	64.8 $\pm$ 3.6 (n=6)	23.6 $\pm$ 8.4 (n=5)	65 $\pm$ 4.7 (n=6)	0.62 $\pm$ 0.03 (n=6)	-
<i>Pf szakasz</i>					
rsp sejtek	63.1 $\pm$ 3.6 (n=9)	23.4 $\pm$ 6.5 (n=7)	65.7 $\pm$ 2.3 (n=9)	0.46 $\pm$ 0.04 (n=9)	9.8 $\pm$ 1.7 (n=9)
börsztölő sejtek	65.1 $\pm$ 4.2 (n=6)	24.6 $\pm$ 8 (n=5)	65.3 $\pm$ 4.3 (n=6)	0.64 $\pm$ 0.03 (n=6)	-
<i>Pf+Tf szakasz</i>					
rsp sejtek	63 $\pm$ 2.5 (n=6*)	24.2 $\pm$ 7.9 (n=5*)	65.6 $\pm$ 1.8 (n=6*)	0.57 $\pm$ 0.14 (n=6*)	20.5 $\pm$ 1.9 (n=4)
börsztölő sejtek	64 $\pm$ 3.2 (n=4)	23 $\pm$ 8.2 (n=4)	66.5 $\pm$ 3.4 (n=4)	0.65 $\pm$ 0.03 (n=4)	-
<i>Pf/Tf szakasz</i>					
rsp sejt (n=1)	63	24	66	0.6	20

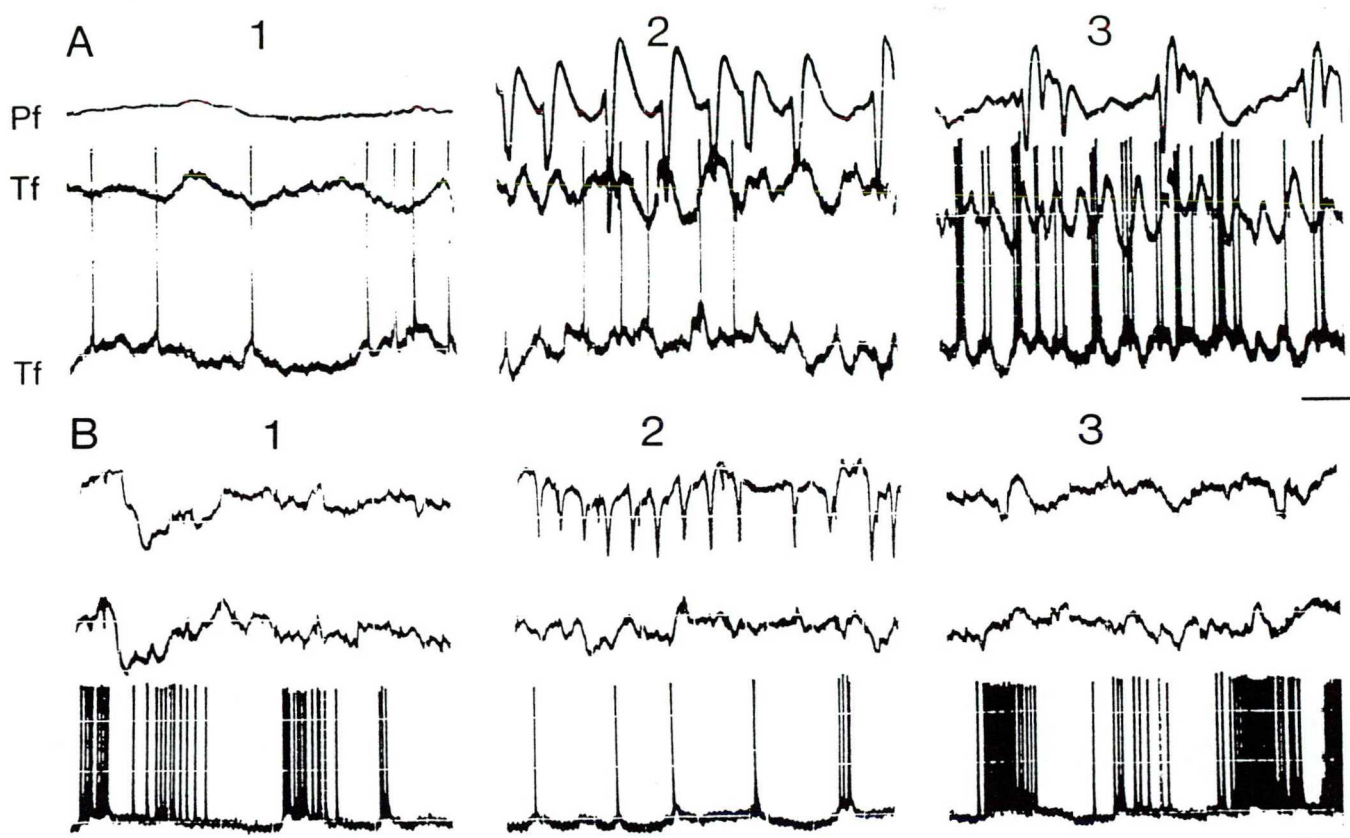
A táblázat csak azokat a sejteket tartalmazza, melyeket a 3-Ap felhelyezése előtt is regisztráltunk. * - közülük 2 sejt börsztölővé vált. Mérési értékeink átlagát a szórással adtuk meg. A zárójelben levő számok a sejtek számát jelölik.

3.B.2. Epileptiform intracelluláris aktivitás jellemzői

3.B.2.1. Pf szakasz

Tüzelési aktivitás és membránparaméterek

A Pf első öt iktális periódusa alatt egyértelműen aneuronális tüzelési aktivitás csökkenését figyeltük meg 5 rsp és 4 börsztölő sejtben (12. B2 ábra, 1. táblázat).



12. ábra Tüzelési mintázat változása két Tf neuronban. A felső és középső regisztrátumok ECoG-okat mutatnak Pf- és Tf-ból, az alsók a Tf sejtek intracelluláris elvezetését. **A:** szabályosan tüzelő (rsp) sejt 1: kontroll válaszai, 2: akciós potenciájaik kialakulása gátolt a felszíni görcspotenciál csúcsok idején Pf szakaszban, 3: Pf+Tf és Pf/Tf szakasz határán börsztölővé alakul és inkább Tf ECoG-jával mutat korrelációt. **B:** Nem-inaktiválódó börsztölő sejt 1: kontroll körülmények között, 2: Pf szakasz alatti csökkent a börsztölő aktivitása, mérhető hiperpolarizáció nélkül, 3: a megnövekedett börszt aktivitása Pf+Tf szakasz interiktális periódusában. Kalibráció: 1 mV az ECoG-ra, 20 mV az intracelluláris elvezetésre és 200 ms az idő.

Az epileptogenezis korai szakaszában általában nem találtunk szinkronizációt az egysejt-tevékenység és az ECoG között, de 3 rsp és 1 börsztölő sejtben gyenge korreláció mutatkozott a felszíni paroxizmális tevékenység és az egysejt tüzelési aktivitás között. Az akciós potenciálok nagysága, szélessége, a V_m és R_m nem változott számottevően.

Szinaptikus válaszok

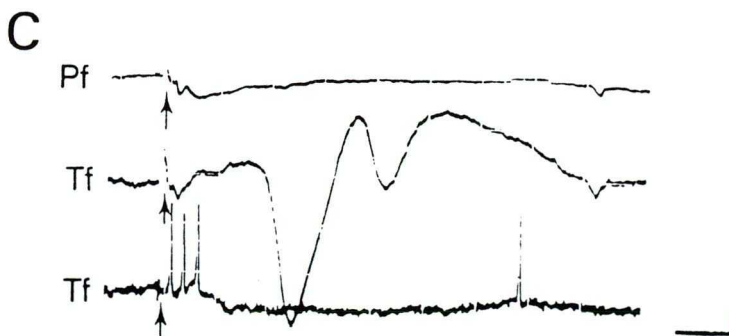
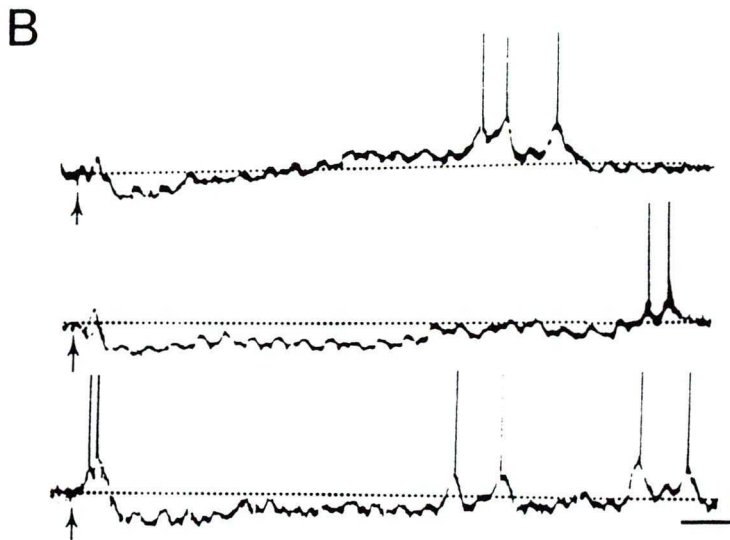
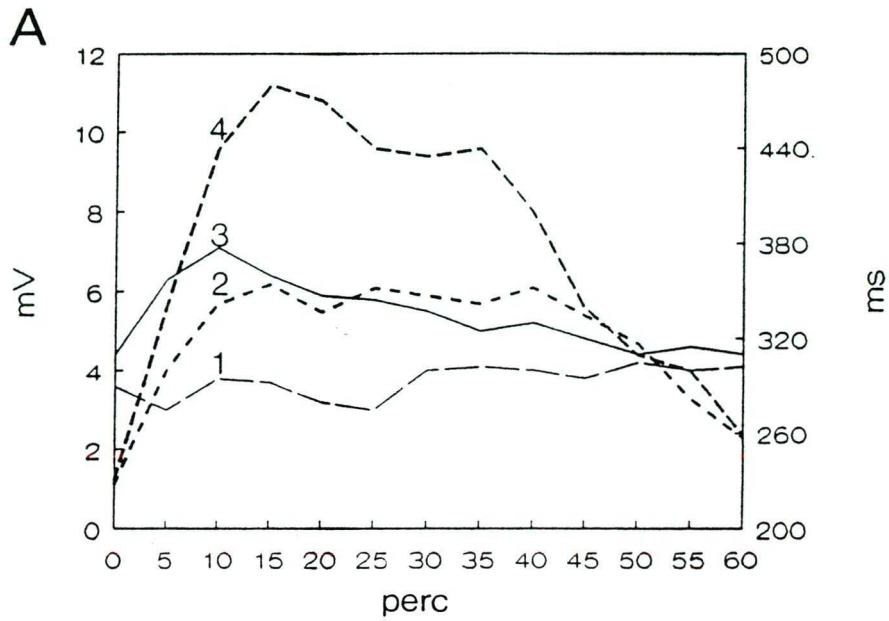
A gátló szinaptikus válaszok fokozódtak mind az rsp, mind a börsztölő sejtekben. Különösen a lassú IPSP amplitúdója nőtt meg az össz IPSP időtartamának meghosszabbodásával (13. A és B ábra 15 percnél). A lassú és gyors IPSP komponensek amplitúdóját az alapvonaltól mértük 40, illetve 100-150 ms-nál. Az EPSP amplitúdója nem változott, bár hamarabb lecsengett, valószínűleg a megnövekedett IPSP következtében.

3.B.2.2. Pf+Tf szakasz

Tüzelési aktivitás és membránparaméterek

Legtöbb sejtben a tüzelési aktivitás szinkronizációt mutatott az ECoG-mal. A gátlás új formáit is megfigyeltük: (a) tónusos jellegű gátlás, (b) összegződött IPSP-k, (c) hosszan tartó hiperpolarizációs hullámok.

(a) 2 rsp és 2 börsztölő sejtben láttuk a tüzelési aktivitás gátlódását jelentősebb hiperpolarizáció nélkül (12. A2 ábra). A többi rsp sejtben először aktiváció, majd itt is gátlás jelentkezett (18. A-D ábra), amikor is csak a ritmikusan ismétlődő EPSP-k feleltek meg mind a Tf és mind a Pf felszíni görccspotenciál mintázatának (ld még Szenté és Baranyi, 1987, 1989). Ez a tónusos



13. ábra Kiváltott szinaptikus potenciálok változásai az epileptogenezis alatt. **A:** Egy Tf sejt szomatoszenzoros kiváltott potenciáljainak különböző paramétereit láthatjuk (a sejt eredeti elvezetései a B ábrarészen vannak). 1: Az EPSP amplitúdóját, 2: az ingerbetöréstől számított 100 ms-nál mért IPSP

komponens, 3: 40 ms-os latenciájú IPSP komponens amplitúdóját és 4: IPSP össz időtartamát ábrázoltuk az idő függvényében. A mérések a 3-Ap felhelyezése utáni különböző időpontokban történtek. B: Részletek intracelluláris elvezetésekéből kontroll körülmények, illetve 15, 40 perccel a 3-Ap alkalmazása után. Az ellenoldali bajuszingerlés időpontját a nyilak jelölik. A pontozott vonal a membránpotenciált mutatja. Az akciós potenciálok vágva vannak. Kalibráció: 10 mV, 50 ms. C: Felszíni komplex kiváltott válasz a perifériás érzőingerlésre. A két felső regisztrátum a Pf és Tf ECoG-ját, az alsó a Tf sejt intracelluláris elvezetését mutatja. Az ingerlés pillanatát a nyilak jelentik. Kalibráció: 20 mV a membránpotenciálra, 200 mV a felszíni potenciálokra, 20 ms az idő.

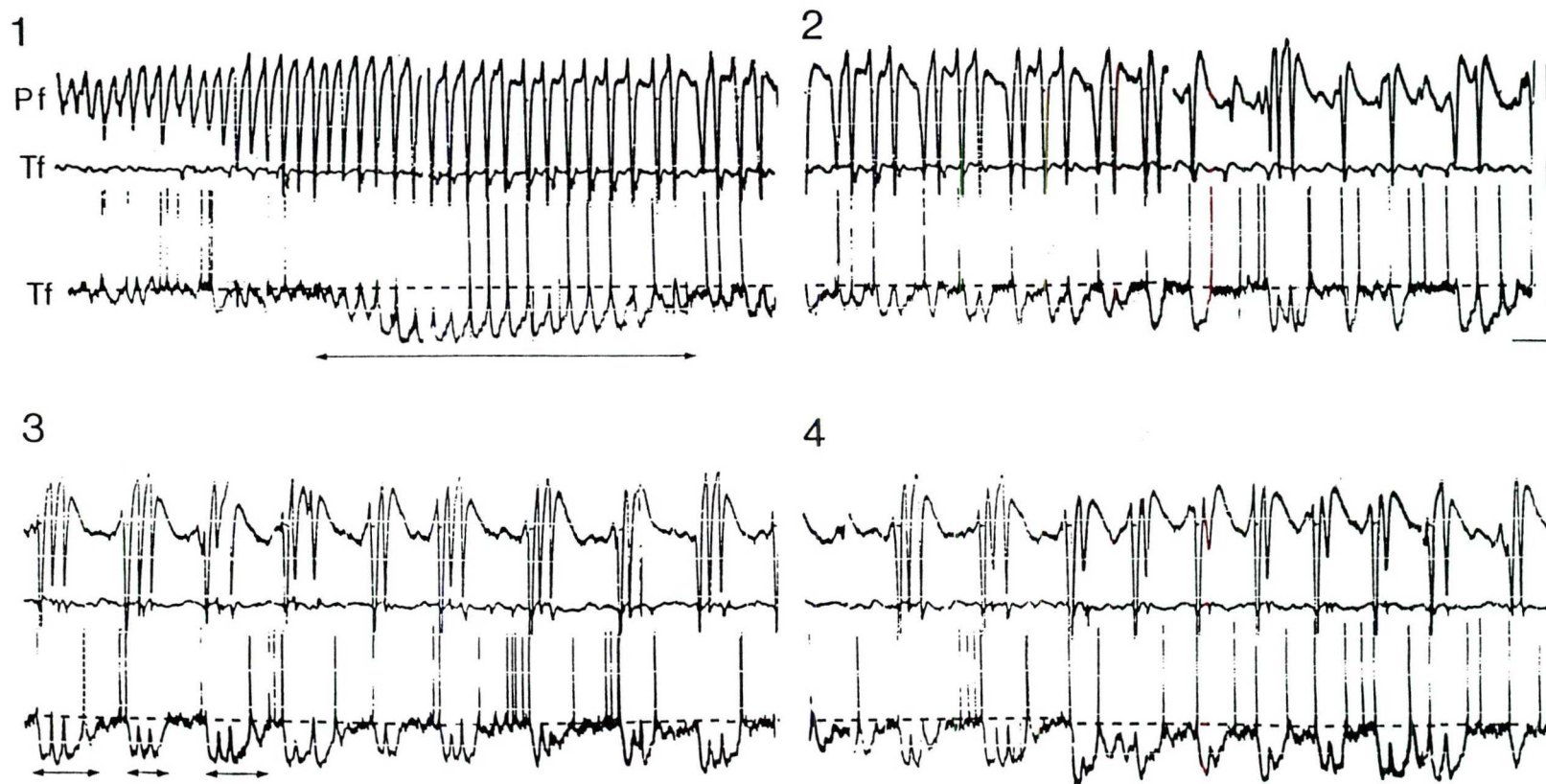
inhibíció hatásosan megakadályozta börsztök kialakulását az iktális periódus idején.

(b) Szummált IPSP-k idején a ritmikus EPSP-k küszöb alattivá váltak és nem tudtak akciós potenciált kiváltani (14. ábra). Az ilyen típusú hiperpolarizációk a szokásos IPSP-k amplitúdóját és időtartamát jelentősen meghaladták. Feltételezzük, hogy egyedi IPSP-k összegződéséből alakultak ki. Ezek az IPSP-k együtt, szinkronizációban jelentkeztek a felszín-negatív epileptiform potenciálokkal. Ezt a gátlási formát csak szabályosan tüzelő sejtekben találtunk, börsztölőkben nem.

(c) 2 rsp és egy börsztölő sejtben hosszan tartó (800-2000 ms) hiperpolarizációs jelenségeket észleltünk. A felszíni görccspotenciáloknak megfelelő membránpotenciál oszcillációk kiszélesedtek és többször küszöb alattivá váltak a hiperpolarizáló völgyben (14. 1 ábra).

Tüzelési aktivitástípus átalakulása a Tf-ban

A rohamok ismétlődésével 4, eredetileg rsp neuron fokozatosan börsztölővé vált (12. A3, 16. ábra). Először 2, majd 3 akciós potenciál jelentkezett együtt a háttér tevékenységben, melyek



14. ábra Gátló jelenségek Tf szabályosan tüzelő sejtjében. A felső és középső regisztrátum a Pf és Tf felszíni paroxizmális tevékenységét mutatja, az alsó Tf neuron intracelluláris elvezetését. 1: Pf roham tónusos fázisa látható, Tf paroxizmális aktivitása némi késéssel kezdődik, míg intracellulárisan fokozott tüzelés mutatkozik az ECoG tüskékkel egy időben. A hosszú időtartamú hiperpolarizációt nyíllal jelöltük. 2: A késői tónusos fázis után 3 és 4: klónusossá válik a roham, ahol a felszín pozitív görccspotenciálokkal szinkron intracellulárisan EPSP-k láthatók. Az epileptikus kisülések negatív hullámjaival együtt jelentkezik az összegződött IPSP-k (rövid nyilakkal jelöltük). Ez alatt az EPSP-k nem tudtak akciós potenciált létrehozni. A szaggatott vonal a nyugalmi membránpotenciált jelöli. Kalibráció 1 mV a felső ECoG-ra, 2 mV a középsőre, 20 mV az intracelluláris elvezetésre és 200 ms az idő.

később igazi börsztté alakultak, 3-5 akciós potenciállal egy depolarizációs dombon ülve. A börsztök az interiktális és klónusos periódusban fordultak elő. Ezzel egy időben az eredetileg börsztölő neuronokban fokozódott a börsztölő aktivitás (12. B3 ábra), ami azt jelentette, hogy nőtt a börsztben az akciós potenciálok száma és növekedett a börsztök megjelenési gyakorisága. E neuronok a későbbiekben első számú kezdeményezői lehetnek a Tf önállósulásának. A többi sejtben mérsékelt háttér tüzelési aktivitás fokozódást láttunk (1. táblázat).

Abnormális sejtaktivitás jellemzői

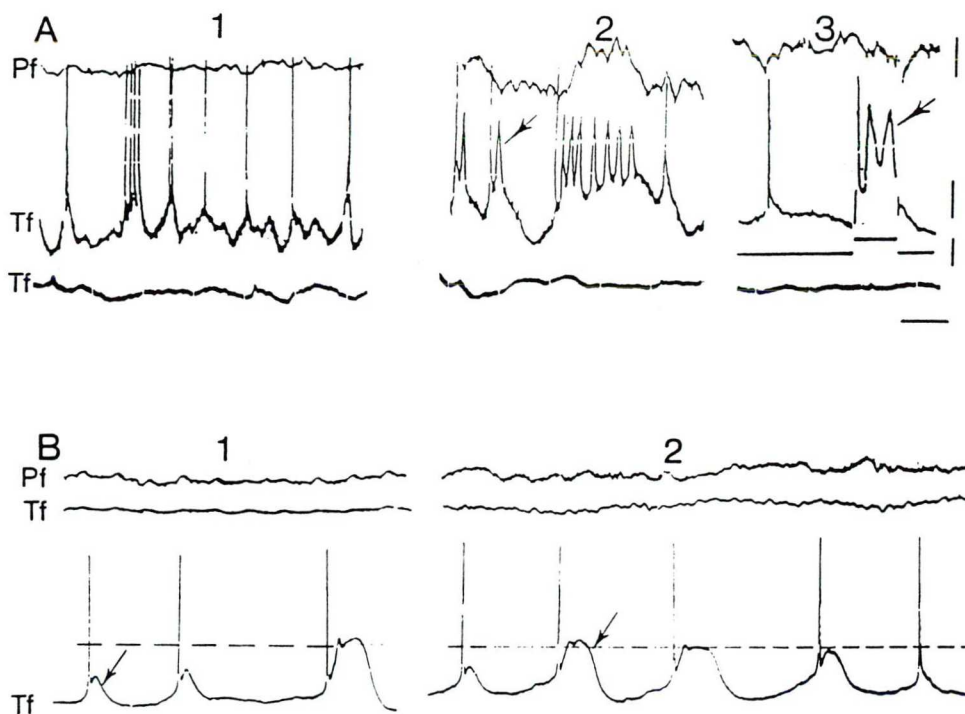
Szokatlan elektrofiziológiai jelenségeket találtunk a Tf szinkron paroxizmális tevékenységének szakaszában. Ezek a következők voltak:

(a) Az akciós potenciálok alakja megváltozott 2 rsp neuronban, ahol időtartamuk megnőtt a repolarizációs szakasz kiszélesedése miatt (nem mutatjuk). A jelenség okaiként K^+ áramok csökkenése vagy fokozott Ca^{2+} beáramlás jöhet szóba.

(b) Az erőteljes depolarizáló utópotenciálok további növekedését figyeltük meg 2 rsp és 2 börsztölő neuronban, melyek hosszú depolarizációs plátót eredményeztek és akciós potenciál inaktivációt. Megjelenésükben hasonlítottak a PDS-hez (15. B ábra). A depolarizációs plátókat interiktális periódusban láttuk, vagyis nem a felszíni paroxizmális eseményekkel szinkron, azok sejtszintű megfelelőjeként. Ez arra enged következtetni, hogy keletkezésükben elsősorban intrinsic membránfolyamatok játszanak szerepet.

(c) Börsztölő sejtekben új típusú akciós potenciálok

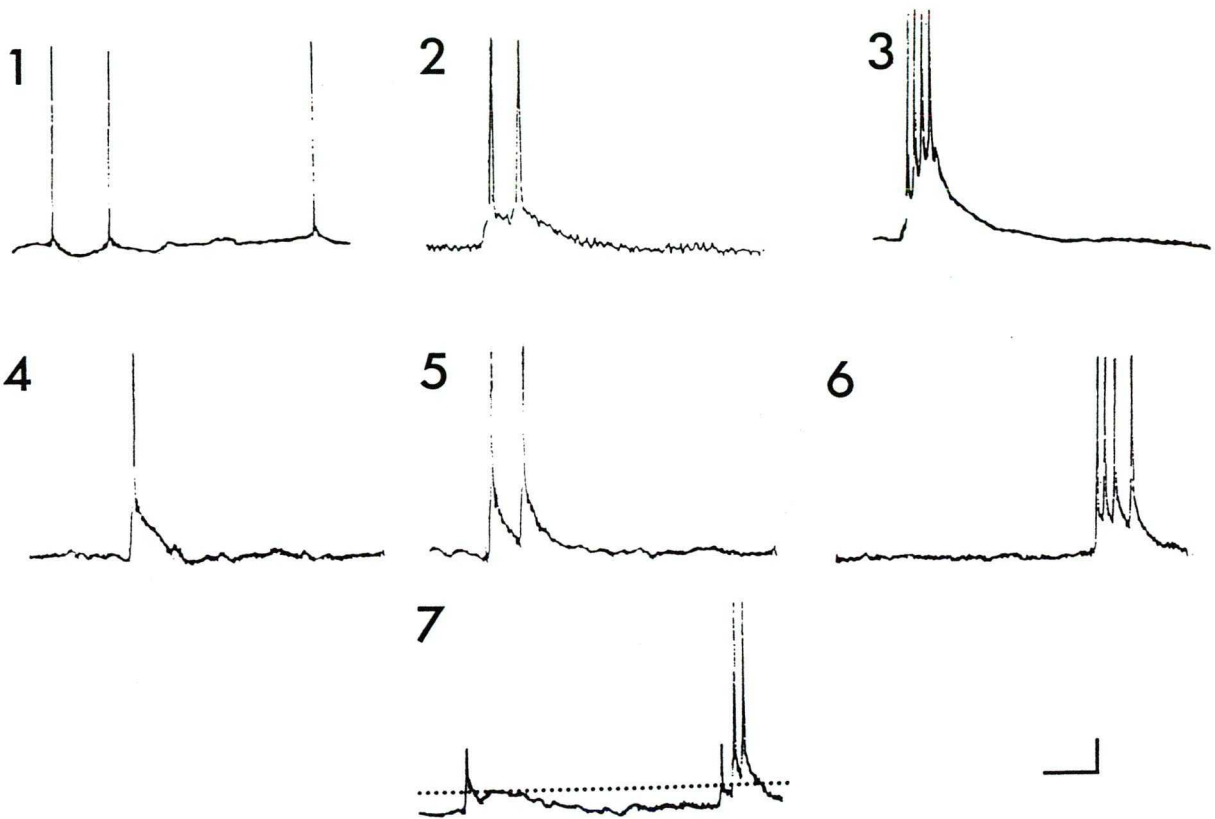
megjelenését tapasztaltuk a börsztben (2 neuron). Kisebb amplitúdójúak és hosszabb időtartamúak voltak, mint a többi akciós potenciál ugyanabban a börsztben, és egy bizonyos depolarizációs szinten jelentkeztek minden vagy semmi módon (15. A ábra). Tulajdonságaik alapján Ca^{2+} -spike-ra emlékeztettek (Dichter és mtsai., 1983; Wong és Prince, 1978). Depolarizáló áraminjekcióra is megjelentek (15. A3 ábra), bár ugyanez az áram normál körülmények között csak Na^+ akciós potenciált keltett.



15. ábra Új, abnormális események Tf neuronokban. **A:** Alacsony ingerküszöbű, kis amplitúdójú, Ca^{2+} spike-szerű akciós potenciál. A felső regisztrátum a Pf ECoG-ja, a középső Tf sejt intracelluláris jeleit mutatja, az alsó Tf ECoG-ja. 1: Nem-inaktiválódó börsztelő neuron intracelluláris kontroll körülmények között, 2: 25 perccel a 3-Ap felhelyezése után megjelennek a szokatlan formájú akciós potenciálok (nyíl mutatja), melyeket 3: depolarizáló áraminjekcióval is ki tudunk váltani. **B:** Depolarizáló utópotenciálok megnövekedése, mely paroxizmális depolarizációs shift-szerű jelenséget eredményez. Kalibráció: 2 mV az ECoG-ra, 20 mV az intracelluláris elvezetésre, 1 nA az injektált áram, az

50, 20 ms

(d) A nyugalmi membránpotenciál szintről hirtelen, szinaptikus depolarizáció (EPSP) nélkül kiemelkedő, ektópiás potenciálokhoz hasonló akciós potenciálokat észleltünk 2 rsp sejtben (16. 4,5 ábra). Ilyen típusú börsztöket is találtunk e két neuronban a tüzelési sejttípus változás jeleként kialakult szinaptikus bemenettel rendelkező börsztök mellett (16. 3,6 ábra).



16. ábra Elektrofiziológiai sejttípus változás és ektópiás eredetű akciós potenciálok egy szabályosan tüzelő sejtben. 1: Kontroll felvételt és 2-7: több Tf roham után regisztrált akciós potenciált mutatunk be. 2: Öt iktális periódus után az akciós potenciálok párosával jelentkeztek, majd 3: börsztök alakultak ki. Később megjelenő 4: akciós potenciált, 5: kettőt, majd 6: börsztöt láthatunk szinaptikus depolarizációs komponens nélkül, hirtelen kiemelkedve a nyugalmi membránpotenciál szintről, jellemző utódepolarizációt is mutatva. 7: Amikor a membránt tónusos 0.5 nA erősségű árammal hiperpolarizáltuk, egy kis amplitúdójú, iniciális szegment potenciálhoz hasonló túske maradt csak. Kalibráció: 20 mV, 20 ms, kivéve 2. ábrarész: 10 ms.

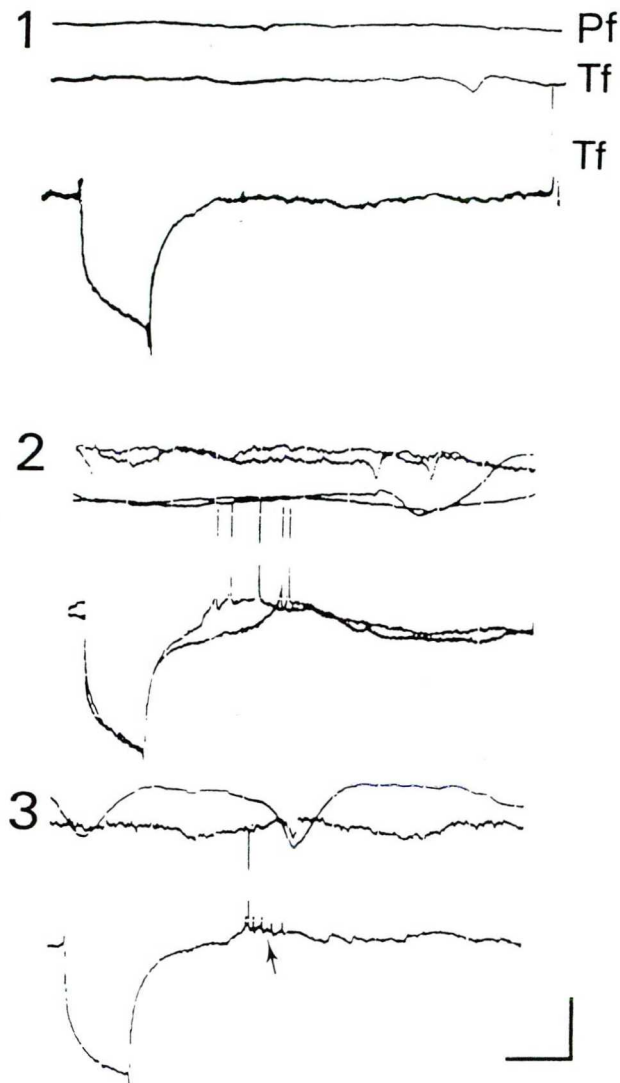
Amikor a membránt hiperpolarizáltuk az ektópiásnak tűnő potenciálokból csak egy küszöb alatti parciális túske maradt, megerősítve a regisztrálás helyétől távolabbi eredetet (16. 7 ábra). A hiperpolarizáció alatt talált részleges válasz, feltehetően az ún. iniciális szegment spike-t jelenti, mely a Pf-ban végződő axonon antidróm módon terjedő akciós potenciál maradványa, mivel a sejttest hiperpolarizációja következtében nem tud tovaterjedő regeneratív csúcspotenciál mechanizmust beindítani.

(e) Hiperpolarizáló áraminjekciót vagy az IPSP-t követően átmeneti depolarizációs domb alakult ki (posztanódális excitáció) 3-4 a szokásos akciós potenciállal vagy esetenként parciális válaszokkal (17. ábra). Ez a jelenség sem volt tapasztalható kontroll körülmények között hasonló membránpotenciál szinten és ugyanazon áraminjekció esetén.

A nyugalmi membránpotenciál és membránellenállás nem változott az interiktális periódus alatt (1. táblázat).

Szinaptikus válaszok

Erőteljesen változtak az ingerlés időpontjától függően a válaszok. Interiktális periódusban adott ingerre, felszíni elvezetésben, komplex kiváltott potenciált találtunk 1-4 fázisú, nagy amplitúdójú epileptikus utókisüléssel (13. C ábra). A kiváltott EPSP, mely a kontroll periódusban küszöb alatti volt, most gyakran elérte a küszöbpotenciált és akciós potenciálokat váltott ki. A Pf szakasz alatt megnövekedett amplitúdójú és időtartamú IPSP csökkenni kezdett (13. A,B ábra, 40 percnél), és gyakran börsztöt indukált (rebound burst). A multiszinaptikus



17. ábra Szabályosan tüzelő sejtben hiperpolarizáló áraminjekció után jelentkező börsztök. A két felső regisztrátum a két epileptikus fókusz ECoG-ját, az alsó az intracelluláris elvezetést jelöli. 1: Regisztrátum a kontroll szakaszból és 2-3: több Tf iktális periódus ismétlődése után. 2: Két választ (egy kontroll és egy Pf+Mf szakaszból) egymásra fényképezve hasonlítottunk össze. 3: Szokatlan kis amplitúdójú akciós potenciál tüskéket mutat a nyíl a depolarizációs hullámon. Kalibráció 2 mV az ECoG-ra, 40 mV az intracelluláris elvezetésre, 50 ms az idő.

EPSP-k, a késői IPSP-kre rátevődve, elég erősek voltak e szakaszban, hogy néha akciós potenciált alakítsanak ki. Iktális periódusban az epileptikus aktivitás teljesen eltörölte a kiváltott potenciálokat.

3.B.2.3. Pf/Tf szakasz

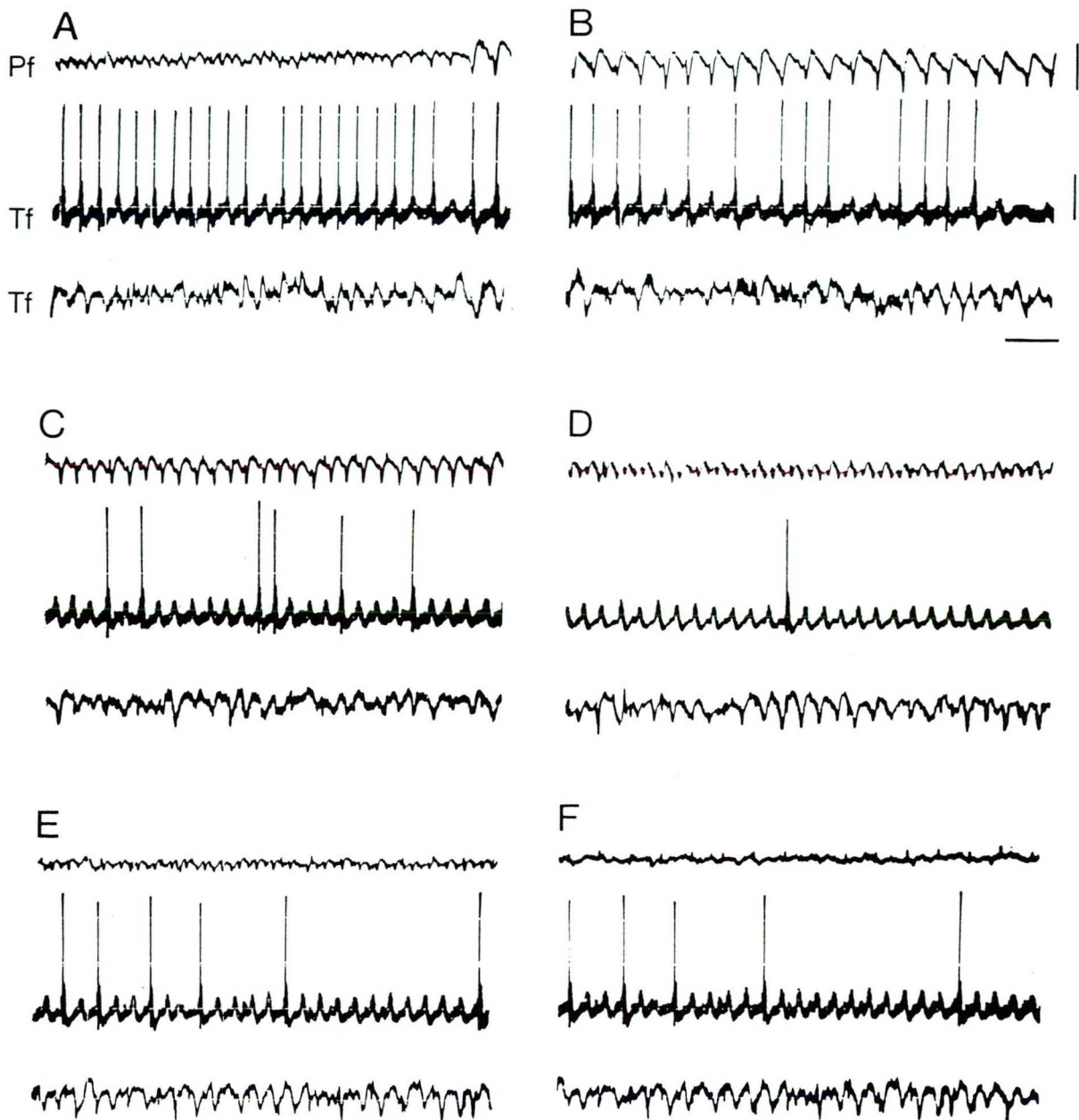
Tüzelési aktivitás és membránparaméterek

Kísérleteink 10 %-ában az epileptiform tevékenység elkülönülését láttuk a Pf és Tf működésében mind az ECoG és sejtszinten. Az 18. ábrán bemutatott sejtünk Pf+Tf szakaszban szinkron módon tüzelt Pf- és Tf-szal (18. C és D ábra). A Pf/Tf szakaszban a Tf felszíni aktivitása függetlennek tűnt a Pf ECoG-jától, a sejt pedig a Tf paroxizmális eseményeivel mutatott nagyfokú korrelációt (18. E és F ábra). A nyugalmi membránpotenciál és R_m nem változott.

Szinaptikus válaszok

Átmeneti változásnak tűnt - az interiktális periódusokban - a késői IPSP amplitúdó, illetve az össz időtartam növekedése, ugyanis ebben a szakaszban már a kontrollra jellemző értékeket találtunk.





18. ábra Pf/Tf szakasszal rendelkező másodlagos fókusz sejtjének intracelluláris elvezetései. A,B: Pf+Tf szakasz tónusos fázisában ritmikus EPSP-eket képez, melyekből gyakran akciós potenciálok is keletkeznek, melyek Pf felszíni tevékenységével mutatnak szinkronitást. C,D: Itt a két oldali felszíni klónusos görcspotenciálok együtt, azonos mintázattal jelentkeznek, az akciós potenciálok generálása viszont csökken, szinte megszűnik. E: Ezt az ábrarészt Pf/Tf szakaszban rögzítettük. Pf felszíni görcspotenciálok gyengülése, eltűnése idején Tf sejt EPSP-eket - akciós potenciállal vagy sem - képez Tf ECoG-jával szinkron módon. F: Pf interiktális periódusában a sejt Tf epileptiform ECoG-jával korrelációban levő ritmikus aktivitást mutat. Kalibráció: 2 mV az ECoG-ra, 40 mV az intracelluláris elvezetésre, 200 ms az idő. A-D: 1s-os időközökkel rögzítettük mintáinkat, E-F: 20 perccel később, 1 s-os intervallummal.

3.B.3. Megbeszélés

Altatott patkányok szomatoszenzoros kérgén végzett intracelluláris elvezetések eredményeit foglalja össze jelen értekezés. Kísérleteinkben az epileptikus aktivitás létrejöttében felelős mechanizmusokat próbáltuk feltárni a tükrő fókusz keletkezése során a 3-Ap-nel előidézett elsődleges fókusszal identikus ellenoldali kortikális régióban.

Szabályosan tüzelő és börsztölő sejteket elemeztünk a Tf kialakulásának különböző szakaszaiban. A Tf kialakulásával kapcsolatban nem tudjuk teljesen kizárni azt a lehetőséget, hogy Tf sejtjeinek kallózális axonvégződése Pf-ban felveszik a 3-Ap-t az extracelluláris térből és azután retrográd transzporttal eljut a szómába. Legvalószínűbb magyarázat a másodlagos fókuszok, köztük a Tf létezésére, hogy a Pf-ból érkező állandó, erőteljes aktiváció helyi neuronhálózatok változásait idézi elő, mely változások állandósulhatnak. A paroxizmális tevékenység ellenoldali homotóp kérgi területekre történő terjedése, kallózális, komisszúrális és egyéb szubkortikális pályákon, jól ismert jelenség (Fukuda és mtsai., 1988; Morrell, 1959, 1985; Schwartzkroin és mtsai., 1975; Westmoreland és mtsai., 1972; Wada és mtsai., 1978). Patkányban a nagy piramissejtek axonja kétfelé ágazik, az egyik a corpus callosumhoz csatlakozik, a másik a striátum vagy a talamusz vagy egyéb szubkortikális struktúrák felé halad (Jacobsen, 1965; Voght és Gorman, 1982). Megfigyeléseink arra utalnak, hogy több párhuzamos esemény vezet a Tf és Pf megjelenésükben hasonló epileptiform aktivitásához. Azonban a Pf és Tf mechanizmusai eredetükben különbözőek. Leglényegesebb, hogy a Tf-ban nincs jelen

a görcskeltő kémiai anyag, hanem az abnormális kéreg, a Pf felől érkező szinkron és intenzív tüzelési aktivitás eredményezi.

Változások a gátlásban

Az intracelluláris elvezetés alatt a gátlás különböző típusait figyeltük meg, melyek az epileptogenezis korai szakaszaiban fokozódtak, később csökkentek.

Késői lassú IPSP amplitúdó és időtartam növekedése sokkal erőteljesebb volt, mint a korai komponensé (Chagnac-Amitai és Connors, 1989; Empson és Jefferys, 1993; Szenté és mtsai., 1988). Erre a jelenségre magyarázatot adhat, hogy különböző interneuronok közvetítik a két IPSP típust, melyek ingerelhetősége különféleképpen változott meg (Empson és Jefferys, 1993; Howe és mtsai., 1987; Muller és Misgeld, 1990; Segal, 1990; Szenté és mtsai., 1988). Másrészt a GABA_A és GABA_B receptor altípusok különböző arányú elhelyezkedése a neuron felületén és részvétele a tüzelési aktivitás módosításában, magyarázhatja a két IPSP eltérő viselkedését (Oka és mtsai., 1993).

Az összegződött gátló posztszinaptikus potenciálok valószínűleg a gátló interneuronok epileptikus események alatt megnövekedett aktivitásából erednek. Ezek közvetlen "epileptikus" bemenetet kaphatnak a kallózális axonoktól vagy indirekt módon aktiválódhatnak (Voght és Gorman, 1982). Ismeretes, hogy nagyfrekvenciás ingerlés esetén a piramissejtekben megjelenő epileptikus kisülésekkel szinkron az interneuronokban átmeneti nagyfokú depolarizáció figyelhető meg (Domman és mtsai., 1991). Ilyen körülmények között feltételezhetjük, hogy az interneuronok a normálisnál nagyobb mennyiségű gátló transzmittert (GABA-t)

szabadítanak fel (Alger és Nicoll, 1980; Curtis és mtsai., 1970; McCormick és mtsai., 1985).

A T_f sejtekben megfigyelt fokozott gátlási jelenségek, a gátló interneuronokat érő fokozott aktiváció eredményeként, egy védekező mechanizmust képviselnek az abnormális neuronális aktivitás kialakulásával szemben. Összhangban van ezzel az elképzeléssel az a feltevés, hogy a másodlagos epileptogenezis korai szakaszában a kontralaterális félteke homológ neuronjai a P_f ún. "surrounding inhibition" területébe esnek (Crowell, 1970), de bizonyos idő elteltével összeomlik, felborul ez a gátlás. Ez részben magyarázható a posztszinaptikus GABA receptorok deszenzitizációjával (Krnjevic, 1981; Prince és Connors, 1986) a gátló neuronhálózatok állandóan ismétlődő aktivációjakor. Ismeretes, hogy a gátló mechanizmusok hatékonyságának csökkenése elősegíti lokális abnormális neuronális aktivitás, epilepszia-szerű jelenségek kialakulását (Bekenstein és Lothman, 1993; Gloor és Fariello, 1988; Prince, 1969; Schwartzkroin és Wyler, 1980).

A tüzelési aktivitás és elektrofiziológiai tulajdonságok változásai - abnormális tevékenység mintázatai

Axonok antidróm transzkallózáls aktivációja figyelhető meg epileptikus fókuszokban interiktális epileptiform potenciálok idején (Schwartzkroin és mtsai., 1975), és a talamokortikális rendszerben mind iktális, mind interiktális periódusokban (Gabor és Scobey, 1975; Gutnick és Prince, 1972, 1975). A kísérleteink során elvezetett ektópiásnak látszó, akciós potenciálok megjelenése arra utal, hogy nem-szinaptikus interhemiszférális mechanizmusok is résztvesznek a másodlagos epileptogenezisben.

Epilepsziás fókuszokban a nagy frekvenciás tüzelés következtében megváltozik az extracelluláris ionkoncentráció, mely megváltoztatja a közelben található dendritek és axonok ingerlékenységét, akciós potenciált generálhat (Gutnick és Prince, 1972; Schwartzkroin és mtsai., 1975; Wilder, 1982), eltolja a pH-t, anoxia keletkezik, emelkedik a hőmérséklet, fokozódik a vérátáramlás, stb. Független tükröz fókusz kialakulásakor nagymértékben fokozott Na^+/K^+ ATP-áz aktivitást is találtak (Lewin és McCrimmon, 1976, 1968). Adatok utalnak arra, hogy az antidróm kallózális aktivációval szemben (szinaptikussal összehasonlítva) sokkal kevésbé hatásosak az intrakortikális gátló mechanizmusok (Krnjevic, 1981). Fontos résztvevő lehet még a másodlagos epileptogenezisben, a kezdetben fokozódott gátlás felülmúlásában, a transzkallózális aktiváció orto-antidróm eltolódása az antidróm irányba (Sherwin, 1982, 1984).

Megnövekedett börsztölő aktivitás

Normál rágcsáló neokortexben intrinsic börsztölő neuronok a kéreg mélyebb rétegeiben fordulnak elő (Agmon és Connors, 1989; Kobayashi és mtsai., 1993; Silva és mtsai., 1991). A börsztölő sejtek aránya epileptikus fókuszban jóval magasabb a normálisnál (Chagnac-Amitai és Connors, 1989; Hwa és Avoli, 1992; Lee és Hablitz, 1991; Llinas, 1988; Schwartzkroin és Wyler, 1980; Steriade és Llinas, 1988). Saját vizsgálatainkban nemcsak a mélyebb, hanem a felszínebb kortikális régiókban is találtunk börsztölő sejteket a Tf-ban. Megfigyeltük az eredetileg szabályosan tüzelő sejt börsztölővé alakulását Tf kifejlődése során. A börszt jelenségét kiválthatja vagy elősegítheti számos

külső vagy belső tényező, mely létrehozza azt a kritikus ioncsatorna kombinációt a neuron sejtmembránján, mely szükséges a börszthöz. A börsztölő aktivitás kapcsolatban lehet a T típusú Ca^{2+} csatornákkal, melyek nyugalmi potenciál szinten inaktiváltak, de hiperpolarizáció idején de-inaktiválódnak (Nowycky és mtsai., 1985). Itt jegyezzük meg, hogy IPSP-k vagy hiperpolarizáló áraminjekciók után átmeneti depolarizációt és börsztöket figyeltünk meg aktív Tf-ban, míg normál körülmények között nem találtunk ilyen jelenségeket. A Pf korai fázisában hasonló megfigyeléseket írtak le korábban, mely során feszültségzár kísérletekben kimutatták, hogy a 3-Ap gátolja azt a K^+ áramot (A áram), mely ellensúlyozza a T típusú Ca^{2+} áramot, mely a börszt depolarizációs hullámaért felelős (Szente és Baranyi, 1987).

Kísérleteink alapján feltételezzük, hogy a Pf-ból érkező epileptikus aktiváció Tf-ban megváltoztatja a helyi extracelluláris ionkoncentrációt is és a sejtek membrántulajdonságait, ami az ioncsatornák működésének börszt generálás irányába történő eltolódását okozza. Kísérleteink arra utalnak, hogy az inherens börsztölő képességgel rendelkező sejteknek és azoknak az rsp sejteknek, melyek bizonyos körülmények között börsztölővé válhatnak, igen fontos szerepük van a Tf epileptikus tevékenységének kialakításában. Hasonló jelenséget írt le Miles és Wong (1983) a hippokampusz CA3 régióban, ahol egyetlen sejt börsztölése az egész sejtpopuláció működését átrendezte. Jelentős ezzel kapcsolatban az a jelenség, hogy a sejtek tüzelési aktivitás típusai nem merev kategóriák, hanem a sejtek olyan tulajdonságai, melyek pl. az epileptogenezis vagy egyedfejlődés során változhatnak (Kobayashi és mtsai., 1993; Oka és mtsai.,

1993).

Megnövekedett ritmikus aktivitás és szinkronizáció

Gátló sejtek, az ún. rebound aktiváció jelenségével, kölcsönösen összekapcsolva fontos szerepet játszhatnak a ritmikus jelenségek generálásában (Wang és Rinzel, 1993). Ugyancsak bizonyított, hogy a serkentő szinapszisokkal összekapcsolt (serkentés a rekurrens pályákban) principális sejtek kitűnő szubsztrátot jelentenek a szinkronizációhoz (Prince és Connors, 1986). Megfigyeléseinkből a megnövekedett időtartamú hiperpolarizációt (késői IPSP komponens) említhetjük egyik részvevőként a Tf sejtjeinek szinkronizációjában, amit valószínűleg posztzinaptikus GABA_B receptorok közvetítettek (Connors és mtsai., 1988; Kamatchi és Ticku, 1990). Más elképzelés a ritmikus paroxizmális kisülések eredetére a talamo-kortikális és a kortiko-talamikus hurkok epileptikus állapot alatti fokozott szinkronizációja (Steriade és Llinas, 1988; Wang és Rinzel, 1993). A membránpotenciál oszcillációk növekedése magyarázható a talamo-kortikális bemenetek fokozott aktivációjával mind a serkentő, mind a gátló neuronokban. Ezt látszik igazolni a perifériás ingerre adott óriási kiváltott potenciál és az orsótevékenység fokozódása, mely az epileptiform aktivitástól független jelenlétét, valamint az időtartam és a frekvencia növekedését jelenti.

Több tanulmányban számoltak be arról, hogy Pf-ban és Tf-ban különböző lokális biokémiai, morfológiai és elektrofiziológiai változások történtek. Más modellekben nem találtak független Tf-t (Crowell, 1970), mely megjelenését valószínűleg befolyásolja a konvulzív anyag és az altató minősége is. Sherwin (1984)



neokortikális extracelluláris munkáiban különböző jellemzőket figyelt meg Pf-ban és az azt passzívan követő Tf-ban. Az utóbbi években független Tf kialakulásáról számoltak be hippocampusban tetanusz toxin kontralaterális injektálása után (Jefferys és Empson, 1990). Ők szintén kimutatták, hogy eltérőek a két fókusz elektrofiziológiai mechanizmusai. Más munkákban különböző típusú fokális epilepsziák jelenlétét bizonyították ugyanabban a kísérleti állatban (Fukuda és mtsai., 1987, 1988). Különböző kortikális Tf tanulmányokban jellemző neurofiziológiai, morfológiai és biokémiai változásokat írtak le (Westmoreland és mtsai., 1972; Le Sundstrom és mtsai., 1993). A hippocampusba történő egyoldali kainsav injekció után a morfológiai változások a két hippocampusban eltértek (Empson és Jefferys, 1993).

Az irodalmi utalásokkal megegyezően feltételezzük, hogy a Pf-ból érkező nagy frekvenciájú periódikus szinaptikus aktiváció tartós változásokat idéz elő a Tf sejtjeiben - talán valamennyiben a kindlinghez hasonló mechanizmusokon keresztül (McNamara, 1986) - , mely később önálló epileptikus kisüléseket produkálhat. A megfigyelt gátló jelenségek, szokatlan elektrofiziológiai események (Ca^{2+} -spike, rebound börszt, antidróm akciós potenciál, kiszélesedett utódepolarizáció, membránpotenciál oszcillációk), melyek többek között a serkentés-gátlás egyensúly megváltozásának következményei, a különböző módon előidézett Pf-ban is ismertek (Empson és Jefferys, 1993; Gabor és Scobey, 1975; Gloor és Fariello, 1988; Gutnick és Prince, 1975; Prince és Connors, 1986; Szenté és Baranyi, 1987). A kóros, paroxizmális, hasonló megjelenésű elektrofiziológiai események így eredetük szempontjából különbözőek lehetnek.

4. ÖSSZEFOGLALÁS

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

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 csökkentette a rohamok terjedését és a görcskészséget. Az általunk alkalmazott módszerek mellett nincs tartós utóhatása a SNpr ingerlésnek. Azonban periódikus, megfelelően megválasztott értékekkel végzett elektromos ingerlés tartós antikonvulzív hatást érhetne el.

In vivo intracelluláris elvezetésben patkányban is megfigyeltük a különböző elektrofiziológiai sejttípusokat. Tanulmányoztuk az iktális jelenség sejtszintű mechanizmusait börsztölő és szabályosan tüzelő sejtekben a másodlagos epileptogenezis során. Megállapítottuk, hogy a Tf kialakulásában és függetlenné válásában fontos szerepe lehet a Pf-ból 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. E folyamatban egyensúly eltolódást eredményezhet a GABAerg rendszer kevésbé hatékony részvétele az antidróm aktivációban. A görcsfolyamatok elindításában fontos szerepet kapnak az aktív vagy rejtett börsztölő sejtek, melyek vezérlő ritmuskeltőként

működhetnek az agykéreg reverberációs neuronhálózatainak aktiválásában.

Jelentős megfigyelésünk, hogy egyes esetekben a Tf képessé vált önálló, független görcstevékenységre. A Pf/Tf fejlődési szakaszt elért fókuszok kis számát modellünk akut jellege magyarázhatja. Vizsgálataink továbbfejlesztése érdekében krónikus kísérleteket tervezünk, melyekben nagyobb lehetőségünk nyílik modern molekuláris biológiai jellegű vizsgálatokra is.

5. IRODALOMJEGYZÉK

- Agmon, A. and Connors, B.W., Repetitive burst-firing neurons in deep layers of mouse somatosensory cortex, Neurosci. Lett., 99 (1989) 137-141.
- Ajmone Marsan, C., Unitary analysis of "projected" epileptiform discharges, Electroenceph. Clin. Neurophysiol., 15 (1963) 197-208.
- Alger, B.E. and Nicoll, R.A., Spontaneous inhibitory post-synaptic potentials in hippocampus: mechanism for tonic inhibition, Brain Res., 200 (1980) 195-200.
- Amassian, V.E., Valler, H.J. and Macy, J., Neural mechanism of the primer SEP, Ann. N. Y. Acad. Sci., 112 (1964) 5-32.
- Baranyi, A. and Feher, O., Convulsive effect of 3-aminopyridine on cortical neurones, Electroencephalogr. Clin. Neurol., 47 (1979) 745-751.
- Baranyi, A., Szente, B.M. and Woody, C.D., Electrophysiological characterization of different types of neurons recorded in vivo in the motor cortex of the cat. I. Patterns of firing activity and synaptic responses, J. Neurophysiol., 69 (1993)a 1850-1864.
- Baranyi, A., Szente, B.M. and Woody, C.D., Electrophysiological characterization of different types of neurons recorded in vivo in the motor cortex of the cat. II. Membrane parameters, action potentials, current-induced voltage responses and electronic structures, J. Neurophysiol., 69 (1993)b 1865-1879.
- Bekenstein, J.W. and Lothman, E.W., Dormancy of inhibitory in a model of temporal lobe epilepsy, Science, 259 (1993) 97-100.
- Bowman, W.C. and Savage, A.O., Pharmacological actions of aminopyridines and related compounds, Rev. in Pure and Applied Pharmacol. Sci., 2 (1981) 317-371.
- Cain, D.P., Long-term potentiation and kindling: How similar are the mechanisms, Trends in Neurosci., 12 (1989) 6-10.
- Chagnac-Amitai, Y. and Connors, W.B., Synchronized excitation and inhibition driven by intrinsically bursting neurons in neocortex, J. Neurophysiol., 62 (1989) 1149-1162.
- Champbell, K.J. and Takada, M., Bilateral tectal projection of single nigrostriatal dopamine cells in the rat, Neurosci., 33 (1989) 311-321.

- Connors,B.W., Malenka,R.C. and Silva,L.R., Two inhibitory postsynaptic potentials, and GABAA and GABAB receptor-mediated responses in neocortex of rat and cat, J. Physiol., 406 (1988) 443-468.
- Crowell,R.M., Distant effects of a focal epileptogenic process, Brain Res., 18 (1970) 137-154.
- Curtis,D.R., Duggan,A.W., Felix,D. and Johnston,G.A.R., GABA, bicuculline and central nervous inhibition. Nature, 226 (1970) 1222-1224.
- 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.
- Deniau, J.M. and Chevalier,G., Disinhibition as a basic process in the expression of striatal functions: II. The striato-nigral influence on thalamocortical cells of the ventromedial thalamic nucleus, Brain Res., 334 (1985) 227-233.
- Deniau,J.M., Lackner,D. and Feger,J., Effect of substantia nigra stimulation on identified neurons in the VL-VA thalamic complex: Comparison between intact and chronically decorticated cats, Brain Res., 145 (1978) 27-35.
- Di Chiara,G., Porceddu,M.D., Morelli,M., Mulas,M.L. and Gessa,G.L. Evidence for a GABAergic projection from the substantia nigra to the ventromedial thalamus and to the superior colliculus of the rat. Brain Res., 176 (1979) 273-284.
- Dichter,G. and Ayala,G.F., Cellular mechanisms of epilepsy: a status report, Science, 237 (1987) 157-164.
- Dichter,M., Lisak,J. and Biales,B., Action potential mechanism of mammalian cortical neurons in cell culture, Brain Res., 289 (1983) 99-107.
- Domann,S.R., Uhling,T. and Witte,O.W., Participation of interneurons in penicillin-induced epileptic discharges, Exp. Brain Res., 83 (1991) 683-686.
- Editorial: Proposal for revised seizure classification, Epilepsie, 22 (1981) 493-495.
- 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. Physiol., 465 (1993) 595-614.

- Engel, J. Jr. ed., Surgical treatment of the epilepsies, New York: Raven Press, 1987.
- Fukuda, H., Brailowsky, C., Menini, C., Silva-Barrat, C., Riche, D. and Naquet, R., Anticonvulsant effect of intracortical chronic infusion of GABA in kindled rats: Focal seizures upon withdrawal, Exp. Neurol., 98 (1987) 120-129.
- Fukuda, H., Valin, A., Bryere, P., Riche, D., Wada, J. A. and Naquet, R., Role of the forebrain commissure and hemispheric independence in photosensitive response of epileptic baboon, Papio, Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 69 (1988) 363-370.
- Gabor, A. J. and Scobey, R. P., Spatial limits of epileptogenic cortex: Its relationship to ectopic spike generation, J. Neurophysiol., 38 (1975) 395-404.
- Gloor, P. and Fariello, R. G., Generalized epilepsy: some of its cellular mechanisms differ from those of focal epilepsy, Trends in Neurosci., 11 (1988) 63-68.
- Goddard, G. V., Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity, Nature, 214 (1976) 1020-1021.
- Gonzales, L. P. and Hettinger, M. K., Intranigral muscimol suppresses ethanol withdrawal seizures, Brain Res., 298 (1984) 163-166.
- Grant, D. S. and Gale, K., Substantia nigra mediated anticonvulsant actions: role of nigral output pathways, Exp. Neurol., 97 (1987) 143-159.
- Gray's Anatomy, P. L. Williams and R. Warwick (Eds.), Churchill Livingstone, Edinburgh London Melbourne and New York, 1980, pp. 941-942.
- Gutnick, M. J. and Prince, D. A., Effects of projected epileptiform discharges on neuronal activities in ventrobasal thalamus of the cat. Ictal discharges, Exp. Neurol., 46 (1975) 418-431.
- Gutnick, M. J. and Prince, D. A., Thalamocortical relay neurons: antidromic invasion of spikes from a cortical epileptogenic focus, Science, 176 (1972) 424-426.
- Howe, J. R., Sutor, B. and Zieglgansberger, W., Characteristics of long-duration inhibitory postsynaptic potentials in rat neocortical neurons in vitro, Cell. and Mol. Neurobiol., 7 (1987) 1-18.
- Hwa, G. G. C. and Avoli, M., Excitatory postsynaptic potentials recorded from regular-spiking cells in layers II/III of rat sensorimotor cortex, J. Neurophysiol., 67 (1992) 728-737.
- Iadorala, M. J. and Gale, K., Substantia nigra: site of anticonvulsant activity mediated by gamma-aminobutyric acid,

Science, 218 (1982) 1237-1240.

- Ishijima, B., Unitary analysis of epileptic activity in acute and chronic foci and related cortex of, cat and monkey, Epilepsia, 13 (1972) 561-581.
- Jacobsen, S., Intralaminar, interlaminar, callosal and thalamocortical connections in frontal and parietal areas of the albino rat cerebral cortex, J. Comp. Neurol., 124 (1965) 131-145.
- Jefferys, J.G.R. and Empson, R.M., Development of chronic secondary epileptic foci following intrahippocampal injection of tetanus toxin, Experimental Physiol., 75 (1990) 733-736.
- Kamatchi, G.L. and Ticku, M.K., GABA_B receptor activation inhibits Ca²⁺-activated ⁸⁶Rb-efflux in cultured spinal cord neurons via G-protein mechanism, Brain Res., 506 (1990) 181-186.
- Kilpatrick, I.C., Starr, M.S., James, T.A. and MacLeod, N.K., Evidence for the involvement of nigrothalamic GABA neurons in circling behaviour in the rat. In: G.D. Chiara and G.L. Gessa (Eds.), GABA and the Basal Ganglia, Raven Press, New York. 1981, pp. 205-224.
- Kobayashi, T., Nagao, T., Fukuda, H., Hicks, T.P. and Oka, J.I., NMDA receptors mediate neuronal burst firing in rat somatosensory cortex in vivo, Neuroreport, 4 (1993) 735-738.
- Krnjevic, K., Desensitization of GABA receptors, Adv. Biochem. Psychopharmacol., 26 (1981) 111-120.
- Lee, W. and Hablitz, J., Excitatory synaptic involvement in epileptiform bursting in the immature rat neocortex, J. Neurophysiol., 66 (1991) 1898-1901.
- Le Gal La Salle, G., Kajima, M. and Feldblum, S., Abortive amygdaloid kindling seizures following microinjections of gamma-vinyl-GABA in the vicinity of substantia nigra in rats, Neurosci. Lett., 36 (1983) 69-74.
- Le Gal La Salle, G., Shen, K.F. and Feldblum, S., Role of the hippocampus amygdala and the substantia nigra in the evolution of status epilepticus induced by systemic injection of kainic acid in rats, Rev. EEG Neurophysiol. Clin., 14 (1984) 235-240.
- Le Sundstrom, J., Mitchell, J. and Wheal, H.V., Bilateral reorganization of mossy fibers in the rat hippocampus after a unilateral intracerebroventricular kainic acid injection, Brain Res., 609 (1993) 321-326.
- Lewin, E. and McCrimmon, A., ATPase activity in discharging cortical lesions induced by freezing, Arch. Neurol., 61 (1967) 321-325.

- Lewin, E. and McCrimmon, A., The intralaminar distribution of sodium-potassium activated ATPase activity in discharging cortical lesions by freezing, Brain Res., 8 (1968) 291-297.
- Llinas, R. The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function, Science, 242 (1988) 1654-1664.
- Loscher, W., Czuczwar, S.J., Jackel, R. and Schwarz, M., Effect of microinjection of gamma-vinyl-GABA or isoniazid into substantia nigra on the development of amygdala kindling in rats, Exp. Neurol., 95(1987) 622-613.
- 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.
- MacLeod, N.K., James, T.A., Kilpatrick, I.C. and Starr, M.S., Evidence for a GABAergic nigrothalamic pathway in the rat. II. Electrophysiological studies, Exp. Brain Res., 40 (1980) 55-61.
- Maglóczy, Zs. and Freund, T., Selective neuronal death in the contralateral hippocampus following unilateral kainate injections into the CA3 subfield, Neurosci., 56 (1993) 317-336.
- McCormick, D.A., Connors, B.W., Lighthall, J.W. and Prince, D.A., Comparative electrophysiology of pyramidal and sparsely spiny stellate neurons of the neocortex, J. Neurophysiol., 54 (1985) 782-806.
- McNamara, J.O., Kindling model of epilepsy, In: Advances in neurology, Vol. 44, edited by A.V. Delgado-Escueta, A.A. Ward, Jr., D.M. Woodbury, and R.J. Porter. Raven Press, New York, 1986, 303-318.
- McNamara, J.O., Galloway, M.T., Rigsbee, L.C. and Shin, C., Evidence implicating substantia nigra in regulation of kindled seizure threshold, J. Neurosci., 4 (1984) 2410-2417.
- Mihály A., Joo F. és Szenté M., Neuropathological alterations in the neocortex of rats subjected to focal aminopyridin seizures. Act. Neuropathol. (Berl), 61 (1983) 85-94.
- Miles, R. and Wong, R.K.S., Single neurones can initiate synchronized population discharge in the hippocampus, Nature, 306 (1983) 371-373.
- Mirski, K.A., McKeon, A.C. and Ferrendelli, J.I., Anterior thalamus and substantia nigra: two distinct structures mediating experimental generalised seizures, Brain Res., 397 (1986) 377-380.

- Morrell, F., Callosal mechanisms in epileptogenesis. Identification of two distinct kinds of spread of epileptic activity, Epilepsy and the Corpus Callosum, edited by A.G. Reeven, Plenum Press, New York and London. 1985, pp. 99-130 .
- Morell, F., Secondary epileptogenic lesions, Epilepsia, 1 (1959) 538-560.
- 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.
- Muller, W. and Misgeld, U., Inhibitory role of dentate hilus neurons in guinea pig hippocampal slice, J. Neurophysiol., 64 (1990) 46-56.
- Nowycky, M.C., Fox, A.P. and Tsien, R.W., Three types of neuronal calcium channel with different calcium agonist sensitivity, Nature, 316 (1985) 440-443.
- 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.
- Ono, K. and Wada, J.A., Facilitation of premotor cortical seizure development by intranigral muscimol, Brain Res., 405 (1987) 183-187.
- Paxinos, G. and Watson, C. (Eds.), The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, Second Edition, Academic Press, San Diego New York Berkeley Boston London Sydney Tokyo Toronto, 1984.
- Pockberger, H., Electrophysiological and morphological properties of rat motor cortex neurons in vivo, Brain Res., 539 (1991) 181-190.
- Prince, D.A., Microelectrode studies of penicillin foci. In H.H. Jasper, A.A. Ward and A. Pope (Eds.), Basic Mechanisms of the Epilepsies, Little, Brown and Co., Boston, Mass., 1969, pp. 320-328.
- Prince, D.A. and Connors, B.W., Mechanisms of interictal epileptogenesis. In: Advances in Neurobiology Vol. 44. edited by A.V. Delgado-Escueta, A.A. Ward Jr., D.M. Woodbury and R.J. Porter. Raven Press, New York 1986.
- Rinvik, E., Demonstration of nigrothalamic connections in the cat by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase, Brain Res., 90 (1975) 313-318.
- Sabatino, M., Gravante, G., Ferraro, G., Savatteri, V. and LaGrutta, V., Inhibitory control by substantia nigra of generalized epilepsy in the cat, Epilepsy Res., 2 (1988) 380-386.

- 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.
- Schwartzkroin, P.A., Mutani, R. and Prince, D.A., Orthodromic and antidromic effects of a cortical epileptiform focus on ventrolateral nucleus of the cat, J. Neurophysiol., 38 (1975) 795-811.
- Schwartzkroin, P.A. and Wyler, A.R., Mechanisms underlying epileptiform burst discharge, Ann. Neurol., 7 (1980) 95-107.
- Segal, M., A subset of local interneurons generate slow inhibitory postsynaptic potentials in hippocampal neurons, Brain Res., 511 (1990) 163-164.
- Sherwin, I., Ictal-interictal firing pattern differences in penicillin-induced primary and secondary epileptogenic foci, Exp. Neurol., 84 (1984) 463-477.
- Sherwin, I., Fine-structure differences of unit firing patterns in penicillin-induced primary and secondary epileptogenic foci, Exp. Neurol., 76 (1982) 263-275.
- Silva, L.R., Gutnick, J.M. and Connors, B.W., Laminar distribution of neocortical membrane properties in neocortex of normal and reeler mouse, J. Neurophysiol., 66 (1991) 2034-2040.
- Sloviter, R.S. and Dempster, D.W., "Epileptic" brain damage is replicated qualitatively in the rat hippocampus by central injection of glutamate but not by GABA or acetylcholine, Brain Res. Bull., 15 (1985) 39-60.
- Steriade, M. and Llinas, R.R., The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay, Physiol. Rev., 68 (1988) 649-742.
- Sypert, G.W., Oakley, J. and Ward, A.A., Jr., Single-unit analysis of propagated seizures in neocortex, Exp. Neurol., 28 (1970) 308-325.
- Szente, B.M. and Baranyi, A., Mechanism of aminopyridine-induced ictal seizure activity in the cat neocortex, Brain Res., 413 (1987) 386-373.
- Szente, B.M. and Baranyi, A., Properties of depolarizing plateau potentials in aminopyridine-induced ictal seizure foci of cat motor cortex, Brain Res., 495 (1989) 261-270.
- Szente, M., Baranyi, A. and Woody, C.D., Intracellular injection of apamin reduces a slow potassium current mediating afterhyperpolarizations and IPSPs in neocortical neurons of cats, Brain Res., 461 (1988) 64-74.
- Szente, M. and Pongrácz, F., Aminopyridine-induced seizure activity,

- Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 46 (1979) 605-608.
- Szente, M. and Pongrácz, F., Comparative study of aminopyridine induced seizure activities in primary and mirror foci of cat's cortex, Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol., 52 (1981) 353-367.
- Thesleff, S., Aminopyridines and synaptic transmission, Neurosci., 5 (1980) 1423-1419.
- Turski, L., Cavalheiro, E.A., Turski, W.A. and Meldrum, B.S., Excitatory neurotransmission within substantia nigra pars reticulata regulates threshold for seizures produced by pilocarpine in the rats: effects of intranigral 2-amino-7-phosphonoheptanoate and N-methyl-D-aspartate, Neurosci., 18 (1986) 61-77.
- Ueki, A., Uno, M., Anderson, M. and Yoshida, M., Monosynaptic inhibition of thalamic neurons produced by stimulation of the substantia nigra, Experientia, 33 (1977) 1480-1482.
- Uno, M., Ozawa, N. and Yoshida, M., The mode of pallidothalamic transmission investigated with intracellular recording from cat thalamus, Exp. Brain Res., 33 (1978) 493-507.
- Voght, A.B. and Gorman, L.F., Responses of cortical neurons to stimulation of corpus callosum in vitro, J. Neurophysiol., 48 (1982) 1257-1273.
- Wada, J.A., Mizoguchi, T. and Osawa, T., Secondarily generalized convulsive seizures induced by daily amygdaloid stimulation in rhesus monkeys, Neurol., 28 (1978) 1026-1036.
- Wang, J.X. and Rinzel, J., Spindle rhythmicity in the reticular thalamic nucleus: synchronization among mutually inhibitory neurons, Neurosci., 53 (1993) 899-904.
- Westmoreland, B.F., Hanna, G.R. and Bass, N.H., Cortical alterations in zones of secondary epileptogenesis: a neurophysiologic, morphologic and microchemical correlation study in the albino rat, Brain Res., 43 (1972) 485-499.
- Wilder, B.J., Experimental studies, models, and phylogenetic aspects of secondary epileptogenesis, In: Secondary Epileptogenesis, edited by A. Mayersdorf and R.P. Schmidt. Raven Press, New York 1982, pp. 27-43.
- Wong, R. and Prince, D., Participation of calcium spikes during intrinsic burst firing in hippocampal neurons, Brain Res., 159 (1978) 385-390.
- Yarom, Y., Sugimori, M. and Llinas, R., Ionic currents and firing patterns of mammalian vagal motoneurons in vitro, Neurosci., 4 (1985) 719-737.

- Yoshida,M. and Prech,W., Monosynaptic inhibition of neurons of substantia nigra by caudate-nigral fibers, Brain Res., 32 (1971) 225-228.
- Zang,H., Rosenberg,C.H. and Tietz,I.E., Injection of benzodiazepines but not GABA or muscimol into pars reticulata of substantia nigra suppresses pentylentetrazol seizures, Brain Res., 488 (1989) 73-79.
- Zucker,R.A. and Nicoll,R.A., Comparison of two forms of long-term potentiation in single hippocampal neurons, Science, 248 (1990) 1619-1624.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönetemet fejezem ki mindenekelőtt Dr. Szenté Magdolnának aki a kísérletek megtervezésében, értékelésében értékes tanácsaival, tapasztalataival és lelkesedésével segítette munkámat.

Köszönetet mondok Dr. Baranyi Attilának sokoldalú elméleti és gyakorlati tanácsaiért, a kézirat javítása során tett kritikai észrevételeiért.

Köszönettel tartozom Dr. Fehér Ottónak a kézirat segítőkész bírálatáért.

Külön köszönetet szeretnék mondani a JATE Összehasonlító Élettani Tanszék vezetőjének, Dr. Erdélyi Lajosnak és a tanszék összes dolgozójának, köztük Gyulai Ferenc tanszéki mérnöknek, akik munkám elvégzéséhez a feltételeket biztosították.