

A-téma: Hippokampális gátlósejt típusok szinaptikus kapcsolatainak jellemzése

1) Az agykéregben található gátlósejtek aktivitási szintje jelentősen magasabb mint a principális sejteké és az egyes gátlósejtek aktivitásmintázatában is jelentős különbségek figyelhetők meg. A magas aktivitási szint jelentős energiaigényt támaszt amire utal hogy a gátlósejtekben nagyobb mennyiségben található mitokondriumok mint a serkentősejtekben. Egy mitokondriális marker a cytochrom C (CC) fehérje elleni immunfestéssel megvizsgáltuk, hogy azonosított hippokampális gátlósejtpopulációkban mennyi mitokondrium található. A vizsgált sejtek két csoportjában, a PV tartalmú periszomatikus sejtekben (melyek elektrofiziológiai vizsgálatok alapján magas frekvenciával tüzelőnek bizonyultak) és a B-1 pontban bemutatandó HS sejtekben figyeltünk meg magas CC szintet. A két sejtcsoport közös jellemzője még, hogy mindkettő igen nagy mennyiségű serkentő bemenetet kapnak. Ezek alapján feltételezhető, hogy az eddig elektrofiziológiailag részletesen nem vizsgált HS sejtek is igen aktívak lehetnek. A munka közlemény formájában a European Journal of Neuroscience folyóiratban jelent meg.

2) A szepto-hippokampális interakció során kialakuló theta aktivitással együtt, a theta által modulált gamma aktivitás finomszerkezetét és a kialakításában részt vevő periszomatikus gátlósejtek szerepét vizsgáltuk in vivo carbachol indukált gamma oszcillációban a CA3 területén. Farmakológiai módszerekkel kombinált párhuzamos mezőpotenciál és cell-attached, illetve egész-sejt elvezetéssel vizsgáltuk a PV tartalmú kosár és axo-axonikus, valamint a CCK tartalmú periszomatikus sejtek szerepét. Mivel a PV sejtek axonterminálisain mu-opiát receptorok (MOR) találhatóak feltételeztük, hogy MOR agonistával a sejtek terminálisaiából a GABA felszabadulása csökkenthető és ezáltal megvizsgálhatjuk, hogy a PV sejtek fontosak-e a gamma oszcilláció kialakításában. A MOR agonista DAMGO képes volt reverzibilisen gátolni a carbachol indukált gamma oszcillációt, melyet MOR antagonistával kivédett és MOR-KO állatban sem hatott. Az agonista csökkentette a miniatúr, a spontán és a kiváltott gátló áramok amplitúdóját, a serkentő áramokat nem befolyásolja. A DAMGO az oszcillációt időzítő IPSCk amplitúdójának csökkentésével a piramis sejtek kisülésének szinkronitását csökkenti. A hatás kifejlődésekor, bár a serkentő sejtek tüzelési frekvenciája nem változik, tüzelésük korrelálatlan és így oszcilláció nem figyelhető meg. Transzgénikus egértörzseket használva, melyekben a PV illetve a CCK tartalmú sejtek EGFPvel jelöltek megvizsgáltuk a gátlósejt-piramissejt gátló kapcsolatok sajátosságait alapesetben, az in vivo gamma aktivitás kiváltására használt carbachol és a carbachol mellé adott MOR agonista alkalmazásának esetében. Kimutattuk, hogy bár mindhárom sejtcsoport fáziskapcsoltan (bár különböző mértékben) tüzel a gamma aktivitással, a CCK tartalmú kosársejtek nem vehetnek részt a gamma oszcilláció kialakításában mivel a carbachol (az endokannabinoid rendszer aktiválása útján) gátolja terminálisaiából a GABA felszabadulását. MOR receptor agonista alkalmazásával sikerült azt is kimutatnunk, hogy még gátolja a PV-kosársejtekből a GABA felszabadulását nincs hatással az axo-axonikus sejtekre. Bizonyítottuk tehát, hogy opiát receptor aktiváció gátolja a gamma oszcillációt és annak kialakításában elsősorban a MOR-t kifejező PV-kosársejtek felelősek. A munkából készült 2 közleményt közlésre beadtuk.

3) A CA1 terület piramis sejteinek kapcsolatrendszerét vizsgáltuk in vivo és in vitro piramis sejt töltéssel és anterográdfolyóirattal. A temporo-ammonikus pálya a str. oriens és radiatum rétegekben nagyobb arányban idegez be gátlósejteket, mint fő célterületén a str. lacunosum-moleculareban. A pálya azonosított axonjai kizárólag egyszeres kapcsolatokat létesítenek azonosított piramis sejtekkel. A TA pályához hasonlóan a CA1 piramis sejtek rekurrens kollaterálisai a str. oriens

és alveus területén magas százalékban idegeznek be lokális gátlósejteket. Az eredményekből készülő kézirat hamarosan elkészül.

B-téma: A hippokampo-szeptális kapcsolatrendszer finomszerkezetének jellemzése

Az általunk korábban leírt, a mediális szeptumba vetítő sejtekről (HS sejtek) kimutattuk, hogy hasonlóan az eddig vizsgált összes hippokampális gátlósejtcsoporthoz, direkt bemenetet kapnak a MSból, azaz a két terület között a kapcsolat sejtszinten is reciprok. A HS sejtek elhelyezkedésük és morfológiai tulajdonságaik alapján két alcsoportra oszthatók. A két alcsoport a rájuk érkező serkentő és gátló bemenetek eloszlásában és számában is eltér egymástól és az általunk korábban vizsgált sejtcsoportoktól. A sejtek mindhárom hippokampális területen megtalálhatók, dendritfájuk az egyes területeken ott helyezkedik el ahol az adott terület serkentő sejtjeinek helyi axonágai futnak. Az összes eddig vizsgált sejtcsoport közül a legmagasabb sűrűségben kapnak serkentő bemeneteket. Ezzel szemben a HS sejtek viszonylag kevés gátló bemenetet kapnak, mely egyik alcsoportjuk esetében egyedülálló módon alacsony (2%). Ráadásul ezeknek a sejteknek az esetében úgy tűnik, hogy példa nélküli módon hippokampális gátlósejtektől nem kapnak gátlást, hanem kizárólag a mediális szeptumból érkező GABA erg rostoktól. Sikerült lokális axonfájukat is feltérképezni. Axonjaik a sejttesttől nagy távolságra futnak, terminálisaik elsősorban piramis sejteket idegeztek be, de a célelemek között további HS sejtek is megtalálhatók. Speciális kapcsolatrendszerük alapján feltételezhető, hogy a HS sejtek az egyes hippokampális területek aktivitásszintjét monitorozzák (erős serkentés, elhanyagolható gátlás) és ennek függvényében fejtenek ki gátlást a mediális szeptumban valamint a hippokampusz távoli területein. A témát záró publikáció a European Journal of Neuroscience folyóiratban jelent meg.

C téma: A GABAerg septo-hippocampalis pacemaker neuronok karakterizálása.

A korábbi megfigyelésekben kimutatták a medialis septum területén a sejtautonóm ritmikus (~pacemaker) működések létrehozásáért felelős ún. HCN (hiperpolarizáció-aktivált és ciklikus nukleotid-kapuzott nem szelektív kationcsatorna) csatorna legalább két alegységének (HCN1 és 2) jelenlétét. Azt feltételeztük, hogy ezen csatorna markere lehet a hippocampalis theta kialakulásában kulcsszerepű GABAerg hippocampusba vetítő pacemaker neuronoknak. Célunk ezek aktivitásának vizsgálata volt, theta-genezisben betöltött szerepüket feltárandó. Kísérleteinket mikrofarmakológiai módszerekkel kiegészítve a HCN septalis theta létrejöttében betöltött szerepét is vizsgáltuk.

Kimutattuk, hogy a HCN-ioncsatorna 1-es és 2-es alegysége kizárólag GABAerg neuronokon van jelen és eloszlásuk neuronális szinten leszámítva teljes átfedést mutat a medialis septumban. Parvalbumint, a GABAerg septalis neuronok ismert markerét tartalmazó neuronok 21%-a bizonyult HCN1-immunpozitívnak, míg fordított irányban 55.8% volt a kolokalizáció mértéke. Az ioncsatorna szubcelluláris eloszlásának vizsgálatakor, illetve a juxtacellulárisan elvezetett és töltött neuronok azonosításához a HCN1-jelölést használtuk. HCN1-et kimutattunk a perisomaticus régióban, vastag proximális és vékony distalis dendritek membránjában, illetve kisebb mértékben axon terminálisokban. Egyedi sejtek szintjén a HCN1 mennyisége jelentős variabilitást mutatott, ami magyarázhatja a későbbiekben tapasztalt tüzelési mintázat heterogenitást. Az elektrofiziológiai vizsgálatok eredménye a következő volt: i) a HCN1 jelenléte szignifikáns korrelációt mutatott a theta ritmikus tüzeléssel; ii) a HCN1 neuronok a hippocampalis thetához fáziskapcsolatlan tüzeltek, de csoportszintű fázispreferenciát

csak a PV-tartalmú alpopuláció mutatott (bimodális fázisszögeloszlás, Borhegyi és mtsai 2004-s publikációjának megfelelően); iii) a H-csatornák lokális blokkolása jelentősen csökkentette a tüzelési frekvenciát, de a theta ritmikus tüzeléssel nem interferált. Fontos megjegyezni, hogy a fenti munkához kapcsolódóan kifejlesztettünk egy elektródát, mellyel a juxtacelluláris elvezetést és jelölést mikroiontoforézissel tudtuk kombinálni. Eredményeink a Journal of Physiology című folyóiratban jelentek meg.

A medialis septum (MS) és a hippocampus közötti információátvitel fontos különbségeket mutat a két legjellemzőbb hippocampalis aktivitásmintázat, a 4-10 Hz-es theta ritmus és a nagy amplitúdójú irreguláris aktivitás alatt. Megvizsgáltuk a két terület közötti információátadás állapotfüggő dinamikáját. A septo-hippocampalis kommunikáció szabályozásának elemzéséhez új cirkuláris statisztikai és információelméleti módszereket használtunk. Sikerült kimutatnunk, hogy a parvalbumint (PV) és/vagy a feltételezett ritmusgeneráló HCN csatornát kifejező medialis septalis idegsejtek aktivitásváltozásai átlagosan 32 millisekundummal megelőzik a hippocampalis interneuronok perturbációit. A fenti septalis sejtek aktivitásának modulációja a hippocampalis piramissejtek aktivitását tükröző hippocampalis helyi mezőpotenciál változásait átlagosan 79 millisekundummal előzi meg. Az információelméleti elemzés segítségével theta szakaszok alatt a PV/HCN tartalmú sejtek hippocampalis theta aktivitással való erős szinkronitását mutattuk ki a fenti fehérjéket nem tartalmazó sejtekhez, ill. a nem-theta szakaszokhoz képest. Adataink a medialis septum PV és/vagy HCN fehérjéket kifejező sejtjeinek a hippocampalis theta oszcilláció létrehozásában betöltött ritmusgeneráló szerepére utalnak. Eredményeink a Journal of Neuroscience című folyóiratban jelentek meg.

D téma: A hippocampalis gátló neuronok szerotoninerg modulációjának farmakológiai vizsgálata.

E munkában fő célunk a hippocampalis gátlósejtekre érkező gyors szerotoninerg moduláció vizsgálata volt. Meglepetésünkre felfedeztünk egy minden korábbi szerotonin-mediált hatásnál gyorsabb és hatékonyabb, a hippocampalis gátlósejtek egyes alcsoportjaira specifikus serkentést. A nucleus raphe medianus elektromos ingerlésével rövid, <15 ms látenciájú aktivációt tudtunk kiváltani 16 hippocampalis gátlósejt esetében (össz sejttség = 60). A válasz sikerrátája (válasz akciós potenciálok az ingerimpulzusszám %-ban) átlag 60% fölött volt. Négy aktivált neuront azonosítani tudtunk, e csoportban 2 cholecystokinin, 1 calbaindin és 1 somatostatin / substance-P tartalmú sejt volt. Megfigyeltük, hogy mindegyik aktiválódó neuron megváltoztatta a tüzelési viselkedését a hippocampalis állapotátmenetekhez kapcsolódóan. Szisztémás 5-HT₃-antagonista és lokális AMPA-típusú glutamát-receptor blokkoló adásával bizonyítottuk, hogy az MR-ingerléssel kiváltott gyors serkentést főleg ionotróp glutamát, kisebb mértékben 3-as típusú szerotonin receptorok (5-HT₃) közvetítik. A serkentést 10 esetben 5-HT₃-receptor antagonista adásával csökkenthető gátlás követte. Ennek hátterében az elvezetett neuron MR-ingerléssel aktivált diszinaptikus gátlása állhat. Piramissejtek intracelluláris mérésével (n = 2) bizonyítottuk, hogy a gyors aktiváció képes beindítani a hippocampus fő kimenetét adó neuronjainak gátlását is. Eredményinket Losonczy Attila in vitro szeletekben szelektív, optikai raphe-hippocampalis (RH) rost-stimulációval kapott adatival együtt közöltük. Kísérleteiben virális vektorral bevitt fényaktivált kationcsatornát tartalmazó RH rostokat

ingerelt, és kimutatta az in vivo mért aktiváció hátterében álló, 5-HT₃ és főképp ionotróp glutamát receptor-függő serkentő posztszinaptikus potenciálokat. Anatómiai módszerekkel bizonyítottuk, hogy mind szerotoninerg mind szerotonint nem tartalmazó glutamáterg RH rostok létesítenek szinapszist aktivált interneuronokkal, illetve anterográdjelölt RH rostok szinapsziszai és valószínűleg MR eredetű, VGluT3 (3-as típusú vezikuláris glutamát transzporter)-tartalmú szinapsziszok tartalmazzák a GluR1 AMPA-típusú glutamát-receptor alegységet. Összefoglalva, felfedeztünk egy új típusú, gyors, glutamáterg / szerotoninerg modulációt a felszálló szerotoninerg rendszerben. Eredményeinket a Science című folyóiratban közzétettük.

E téma: A hippocampális theta oszcilláció hálózati modellje

1) Mivel a kísérleti adatok arra utalnak, hogy esetleg többféle mechanizmus is hozzájárulhat a hippocampális theta oszcilláció kialakulásához, részletes hálózati modellben vizsgáltuk az oszcilláció létrejöttét intrahippocampális kölcsönhatások, illetve külső ritmikus és moduláló bemenetek hatására. A modell CA1 piramisneuronokat, kosársejteket, és O-LM interneuronokat tartalmazott, és figyelembe vettük a Schaffer kollaterális, a perforáns pálya, illetve a szeptális kolinerg és GABAerg bemenetek hatását is. Modellünkben explicit módon foglalkoztunk két olyan tényezővel, melyek jórészt kimaradtak az agykérgi oszcillációk korábbi modelljeiből. Egyrészt mára világossá vált, hogy az idegsejtek, és ezen belül is az agykérgi piramisneuronok dendritjei olyan feszültségfüggő ioncsatornákat tartalmaznak, melyek komplex, nemlineáris dendritikus folyamatokat tesznek lehetővé, és alapvetően befolyásolják a neuronok kimenetét. Ezért szimulációinkban a CA1-es régió piramisneuronjait nem egyrekeszes (pontoszerű) modellel írtuk le, hanem az általunk korábban kifejlesztett, morfológiailag és biofizikailag részletes piramisneuron-modellt (Káli és Freund, 2005) egyszerűsítettük egy új, szisztematikus eljárás segítségével ötrekeszes, a főbb dendritikus régiókat is magában foglaló, minden részében aktív modellre. Másrészt az agykéregbe érkező szubkortikális moduláló bemenetek, melyek aktivitása az állat viselkedésétől függő módon változik, megváltoztatják az idegsejtek feszültségfüggő konduktanciáinak tulajdonságait, és képesek az egyes neuronokat különböző információ-feldolgozó üzemmódok között átkapcsolni. Mivel tehát az aktív dendritikus folyamatok és a neuromoduláció megváltoztatják az idegsejtek bemenet-kimeneti összefüggését, várható, hogy fontos szerepet töltenek be a hálózati dinamikában is, és ezért célul tűztük ki ezen folyamatok szerepének tisztázását a hippocampális theta oszcilláció létrehozásában.

Részletes hálózati modellünkben (mely 2500 piramisneuron, 400 kosársejtet, és 100 O-LM sejtet tartalmazott) megvizsgáltuk a theta oszcilláció lehetséges keletkezési mechanizmusait ritmikus külső bemenetek hiányában és jelenlétében, valamint kolinerg moduláló bemenet hiányában ill. jelenlétében. Célunk volt annak felderítése is, hogy milyen feltevések mellett képes a hálózati modell egyszerre számot adni a lokális mezőpotenciál-mérésekből származtatható áramforrás-sűrűségi adatokról és az egyes azonosított sejt típusok specifikus tüzelési fázisairól. Azt találtuk, hogy moduláló bemenet nélkül a modell CA1-es hálózat önmagában nem volt képes theta frekvenciás ritmikus aktivitás generálására. A CA3 régióból vagy az entorhinális kéregből érkező, theta frekvenciával modulált serkentés, vagy a kosársejtek szeptális eredetű, theta frekvenciás ritmikus gátlása önmagában is a piramisneuron-populáció oszcilláló aktivitásához vezetett. Mind a források és nyelők térbeli és időbeli eloszlása, mind a különböző sejt típusok tüzelésének fázisa változott attól függően, hogy az egyes ritmikus külső bemenetek, illetve a lokális kölcsönhatások milyen mértékben vettek részt az oszcilláció

létrehozásában. Sikerült megtalálnunk a külső bemenetek erősségének és fázisának egy olyan kombinációját, amelynek hatására az egyes sejttípusok aktivitásának relatív fázisai megegyeztek a kísérleti adatokkal, de az áramforrás-sűrűség tér- és időbeli eloszlása így is szignifikánsan különbözött a mérési adatoktól.

Ismert, hogy a szeptális kolinerg bemenet megváltoztatja a hippokampális neuronok belső tulajdonságait; többek között az R típusú kalciumcsatornák modulációján keresztül befolyásolja a dendritikus Ca akciós potenciálok kiválthatóságát a piramissejtekben. Mivel korábbi eredményeink arra utaltak, hogy a Ca akciós potenciáloknak szerepe lehet a théta oszcilláció létrehozásában, megvizsgáltuk, hogy az R típusú Ca-csatornák modulációja milyen hatással van az oszcillációra a CA1-es hálózati modellben. Azt figyeltük meg, hogy a Ca-csatornák modulációja szükséges feltétele annak, hogy a CA1-es hálózatban lokálisan, ritmikus külső bemenet hiányában théta frekvenciás oszcilláció keletkezzen. Ilyenkor az egyes sejtek ritmikus aktivitásáért disztális dendritikus depolarizáció (pl. direkt entorhinális bemenet) hatására létrejövő repetitív Ca akciós potenciálok a felelősek, és ezeket O-LM sejtek által közvetített dendritikus gátlás képes szinkronizálni. A teljes, ritmikus külső bemeneteket tartalmazó hálózati modellben, ahol kolinerg moduláció nélkül is létrejön théta frekvenciás aktivitás, a moduláció jelentősen megváltoztatja mind a sejtek tüzelését, mind az áramforrások-sűrűség-eloszlást, jelentősen közelebb hozva a szimulált adatokat az in vivo megfigyelhető mintázathoz. Eredményeinket nemzetközi konferenciákon ismertettük, és belőlük jelenleg kézirat készül.

2) Gyors oszcillációk a hippokampusz CA1 régiójának hálózati modelljében.

A legújabb kísérleti adatok arra utalnak, hogy a CA1 régióban legalább három, egymástól frekvenciában és jórészt időben is elkülönülő, eltérő mechanizmusú és funkciójú 25 Hz fölötti frekvenciájú ritmikus aktivitás figyelhető meg. A CA1-es hálózati modellben ezeknek az oszcillációknak a keletkezési feltételeit, valamint egymással és a lassabb théta oszcillációval való kölcsönhatásait vizsgálva a következő eredmények születtek. A modell CA1 régió képes átvenni mind a CA3 régió által közvetített lassú, mind az entorhinális kéreg által közvetített gyors gamma oszcillációt. A CA1 hálózaton belül a kétféle bemenet között nem volt szignifikáns interakció. A hálózaton belül több helyen megvalósult viszont a gamma oszcilláció amplitúdója és a théta oszcilláció fázisa között a kísérletekben is megfigyelt kölcsönhatás. A szimulációs eredmények azt jósolják, hogy a jelenség magyarázata a piramissejtekben végbemenő nemlineáris jelösszegződés. Sikerült létrehozni a hálózatban éles hullámhoz tartozó magas frekvenciájú "ripple" oszcillációt is, melynek keletkezésében a modellben a gyors tüzelő periszomatikus gátlósejtek hálózata játszott a kulcsszerepet.

3). A neuronális morfológia és feszültségfüggő konduktanciák hatása az idegsejtek frekvenciafüggő impedanciájára.

Kombinált elektrofiziológiai és elméleti modellező módszerekkel vizsgáltuk a hippokampális idegsejtek rezonancia-tulajdonságait, és azt találtuk, hogy a különböző neurontípusok eltérő impedancia-profiljáért részben a hiperpolarizáció-aktivált nemszelektív kationáram tulajdonságainak különbözősége felelős. Sikerült zárt alakban felírható matematikai képletet találni a több feszültségfüggő konduktanciát tartalmazó, egyszerű dendritfával rendelkező neuronális modellek impedanciájára, amelynek segítségével megíjósolható, hogy az egyes neurontípusok impedanciáját döntően milyen mechanizmusok határozzák meg, és ezek a sejten belül hol helyezkednek el. A kísérleti

eredmények és a matematikai modellek együttesen azt mutatták, hogy míg a hippokampális piramissejtek tüzelési küszöb alatti impedancia-tulajdonságait elsősorban egy hiperpolarizáció-aktivált kationáram (I_h) kinetikai tulajdonságai és elsődlegesen dendritikus elhelyezkedése határozzák meg, több különböző gátló interneuron-típus impedancia-profilja is az I_h és valamely más feszültségfüggő konduktancia együttes jelenlétére utal, míg ezek sejten belüli elhelyezkedése kisebb jelentőségűnek tűnik. Az eredményekből két közlemény készült, melyek egyikét már közlésre benyújtottuk.

Összefoglalva, anatómiai, in vivo és in vitro kísérletekkel, valamint az adatok matematikai elemzésével illetve neuronhálózat modellek vizsgálatával további eredményekhez jutottunk a septum és a hippokampusz reciprok kapcsolatának részleteit tekintve, továbbá feltártuk a hippokampális periodikus aktivitások (theta ágyazott gamma) generálásának néhány elemét.

A pályázat által támogatott kutatások számos fontos kérdést vetettek fel, melyek vizsgálatát további OTKA pályázatok keretében kívánjuk folytatni.

Kutatásban résztvevők azonosak-e a szerződésben szereplő kutatókkal?

Dr Hangya Balázs csatlakozott a C téma adatainak elemzéséhez

Rövid magyar összefoglaló:

Kimutattuk, hogy a szeptum és a hippocampus között a HS sejtek szintjén reciprok gátló kapcsolat áll fent. A HS sejtek érzékelik a hippocampális aktivitás szintjét, elsősorban szeptális gátlás alatt állnak és a szeptumon kívül a hippocampus távoli területeire is vetítenek ezáltal a szeptum és az egész hippocampus működését összehangolják. A theta aktivitással együtt előforduló gamma aktivitás kialakításában elsősorban a PV tartalmú kosársejtek játszanak szerepet, aktivitásukat, és így a gamma aktivitást opiát receptorok útján szabályozni lehet. A szeptum és a hippocampus kölcsönhatását vizsgálva kimutattuk, hogy a medialis septum HCN ioncsatornát es/vagy parvalbumin fehérjét kifejező gátlósejtjei vezérlik a hippocampális theta ritmust. Részletes CA1-es hálózati modell segítségével jóslatokat fogalmaztunk meg a theta és magasabb frekvenciájú oszcillációk lokális mechanizmusaival, kölcsönhatásaival és extrahippocampális modulációjával kapcsolatban.

A felszálló szerotoninerg rendszerben kimutattunk egy az eddig ismerteknél gyorsabb, glutamátot használó hatékony moduláció-típus létezését.

Short english summary:

We demonstrated that the reciprocal interaction between the medial septum and the hippocampus is realized at the cellular level via the HS cells. They detect the level of hippocampal activity, are under primarily septal inhibitory control and besides the septum they project to remote hippocampal areas, synchronizing the activity of this two regions. The theta concurrent gamma activity is primarily controlled by the PV containing basket cells. These cells and thus gamma activity can be modulated via opiate receptors. Studying the interaction of the medial septum and the hippocampus we proven that HCN/PV expressing medial septal inhibitory neurons drive the hippocampal theta rhythm. Simulations of a detailed network model of area CA1 resulted in predictions regarding the local mechanisms, interactions, and extrahippocampal modulation of theta and higher frequency oscillations.

We demonstrated a quick, glutamatergic component in the ascending modulatory raphe-hippocampal serotonergic projection.

Eltérések az eredeti munkatervtől:

Az A és B téma esetében az ígértes előkísérletek ellenére technikai nehézségek merültek fel. Az A téma kidolgozásához poszt-szinaptikus fehérjéket kívántunk immunfestéssel lokalizálni fixált szövetben jó felbontással. Sajnos míg az antitestek némelyike jó festést ad disszociált sejt kultúrákban, fixált, 60um-es szeletekben értékelhető festést nem kaptunk. Nemzetközi konferenciákon külföldi kollegákkal konzultálva megtudtuk, ők is hasonló problémákkal küzdenek. Valószínűleg a poszt-szinaptikus denzitásban a fehérjék olyan mértékben tömörülnek, hogy az antitest nem fér hozzájuk. Mikrohullámú és enzimes feltárással is próbálkoztunk, sikertelenül. Sikeresen kivitelezünk két a témába vágó másik kísérletsorozatot: 1) megmutattuk, hogy az egyes hippocampális gátlósejtcsoportokban különböző mennyiségű mitokondrium található, utalva az egyes sejtcsoportok átlag aktivitására. A hippocampo-szeptális vetítő sejtek mitokondrium tartalmuk alapján magas aktivitású sejtcsoportnak bizonyultak. 2) A szepto-hippocampális interakció során kialakuló theta aktivitással együtt, a theta által modulált gamma aktivitás finomszerkezetét és a kialakításában részt vevő periszomatikus gátlósejtek szerepét vizsgáltuk.

A B-1 téma esetében a szeptális axonok célelemszelektivitását kívántuk megvizsgálni. Sajnos az anterográd pályajelölési technikák (BDA, PHAL) egyik hiányosságára sikerült fényt derítenünk. A jelölt axonok nem rajzolódnak ki teljes hosszukban és ezért nem lehet őket számos metszeten keresztül követni, a projekthez szükséges 100%-os biztonsággal. A B-2 téma esetében nem csak a reciprok, sejt szintű hippocampo-szeptális kapcsolatot sikerült megvizsgálnunk, hanem részletesen leírtuk a hippocampusból a szeptumba vetítő speciális sejtcsoportot (HS) és rekonstruálni szinaptikus bemeneteiket.

Az E téma esetében figyelembe vettük, hogy a mediális szeptum belső és hippocampális kapcsolatairól hozzáférhető adatok továbbra is hiányosak (lásd fent), viszont a hippocampusban a theta ritmushoz kapcsolódó magasabb frekvenciás oszcillációkról számos új eredmény látott napvilágot. Ezért a mediális szeptum modellezése helyett végül a magasabb frekvenciájú ritmusok egymással és a theta oszcillációval való kölcsönhatásait vizsgáltuk számítógépes szimulációkban.