

A bazális előagy szerepe normális és kóros kognitív funkciókban

A projekt nem szakmai jellegű összefoglalója:

A neurodegeneratív betegségek komoly terhet rónak az érintett családokra, az egészségügyi rendszerre és a társadalom egészére. Fontos közös pont ezen betegségek hátterében a bazális előagy kolinerg idegsejtjeinek fokozatos pusztulása. A bazális előagy elektromos serkentése jelenleg ígéretes kutatási irány a neurodegeneratív betegségek kezelésében. A kolinerg sejtek normális aktivitásának megállapítása lehetővé teszi a természetes aktivitást pontosabban követő elektromos serkentés alkalmazását, ami a jövőben áttörést jelenthet az Alzheimer kór kezelésében.

Kísérleteinkben azt tervezzük vizsgálni, hogy

- i) a kolinerg sejtek milyen módon vesznek részt a tanulási folyamatokban,
- ii) a bazális előagy másik fontos sejtje típusa, a GABAerg gátlósejtek hogyan működnek a tanulási folyamatok alatt, és
- iii) az előagyi kolinerg és GABAerg sejtek szelektív vagy nem szelektív aktiválása vagy gátlása az Alzheimer kór egér modelljében hogyan befolyásolja a tanulási teljesítményt, illetve az elektrofiziológiai válaszokat.

Kísérleteinkben a kolinerg és GABAerg sejteket/pályákat optogenetikai módszerekkel azonosítjuk, és fénnel aktiváljuk vagy gátoljuk. Az egyes idegsejtek aktivitását bioelektromos jelek alapján elektrofiziológiai módszerekkel regisztráljuk. Az idegi pályák aktiválásának/gátlásának hatását tanulási tesztekkel és a tanulás alatti sejtaktivitás mérésével elemezzük.

Mindehhez a következő beavatkozásokat szükséges elvégezni.

- 1) Az elektródák és az optikai szál beültetése, illetve a fényérzékeny ioncsatorna-fehérjék bevitelére szolgáló mikropipetta bevezetése agyi műtét során történik. Mélyaltatásban, sztereotaxiás készülékben rögzített állat koponyáján mm átmérőjű lyukat fúrunk, és ezen keresztül süllyesztjük az igen vékony eszközöket az agy pontos koordináták által meghatározott területeire. Az elektródákat és az optikai szálakat fogászati cement segítségével a koponyacsontba rögzítjük; a mikropipettát az anyagbevitel után eltávolítjuk. A koponyához a "fejrögzített mérések" esetén egy kis méretű acél lemezt cementezünk. A műtét után a seb környékét újra fertőtlenítjük, a bőrt zárjuk, és a posztoperatív fájdalmat kábító-fájdalomcsillapító adagolásával csökkentjük. A teljes ébredésig az állatot folyamatos megfigyelés alatt tartjuk.
- 2) Virális génbevitel. A mikropipettán át kis nyomással adagolva olyan nem-fertőző vírusokat juttatunk az előagy meghatározott területeire, amelyek fénnel nyitható ioncsatornák génjeit hordozzák. Ezzel a módszerrel egyes sejtje típusokat (pl. kolinerg, GABAerg idegsejteket) lehet azonosítani és befolyásolni az elektródák mellé beültetett optikai szálakkal. Ezzel a módszerrel vizsgálható, hogy hogyan működnek és mi a szerepük az egyes idegsejteknek az éber állat tanulási folyamatai során.
- 3) A műtéttől felépült állatokat különböző tanulási és figyelmi feladatokra tanítjuk, és közben vizsgáljuk az egyes idegsejtek aktivitását, illetve a fénnel aktivált/gátolt sejtek hatását a tanulási folyamatokra. A tanítás során az állatok különböző érzékszervi ingereket (pl. hang) kapnak. Reakciójuknak megfelelően jutalmat (víz) vagy büntetést (levegő vagy enyhe elektromos inger) kapnak. A megfelelő motiváltsági szint eléréséhez szükség van az állatok folyadékfogyasztásának pontos szabályozására. A viselkedési kísérletek egy részében az állatok szabadon mozognak, más részüket fejrögzített állapotban hajtják végre. A szabadon

mozgó kísérletek előnye, hogy nem igényelnek hozzászoktatást, természetesebb körülményeket biztosítanak. A fejrögztített kísérletek előnye, hogy az állatok egyenletesebb, jobb viselkedési teljesítményt mutatnak. A fejrögztített állapothoz az állatokat folyamatosan szoktatjuk hozzá sztandard, bejáratott protokoll szerint, hogy minimalizáljuk az ezzel járó diszkomfortot.

4) A mérések során a beültetett elektródák segítségével regisztráljuk az idegi működést, és a viselkedés elemzésével a tanulási teljesítményt. A meghatározott idegsejtek optogenetikai (fényel történő) stimulációjával vagy gátlásával fogjuk megállapítani, hogy az adott sejtek milyen szerepet játszanak az egyes tanulási folyamatokban. A sejtek fényel való serkentéséhez a beépített optikai szálon át fényt vezetünk az agyba. A paraméterek megfelelő beállítása mellett a fény nem okoz sem fájdalmat, sem agyi károsodást.

5) Alzheimer-modell egereken a fenti módszerekkel azt vizsgáljuk, hogy a kolinerg, illetve GABAerg előagyi idegsejtek serkentésével / gátlásával javítható-e a kóros tanulási tevékenység.

A kísérletek időtartama 5 év; az összes felhasznált állatok száma 320 egér és 60 patkány. Az egerek használatának előnyei a fényel szabályozható ioncsatornákkal rendelkező törzsek jobb elérhetősége, alacsonyabb költség, fejrögztített kísérletekhez történő gyorsabb hozzászokás. A patkányok használatának előnyei a könnyebb és ezáltal pontosabb műtéti célzás, várhatóan jobb viselkedési eredmények. Az állatok ellátását mindvégig szakképzett gondozók végzik, folyamatos állatorvosi felügyelet mellett. A kísérletekhez egereket és patkányokat használunk. A beültetett elektródákat/optikai szálat hordozó állatokat egyedi ketrecekben kívánjuk tartani, hogy se egymásban se a beültetett eszközökben kárt ne okozhassanak. Az egyedi tartásra külön engedélykérelmet nyújtunk be.