

A krónikus escitalopram kezelés hatása a vigilanciára és a kvantitatív EEG-re REM-megvonás és akut 5-HT_{2C} receptor antagonistá adagolása után

Doktori értekezés

Kostyalik Diána

Semmelweis Egyetem

Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Tóthfalusi László, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Köles László, Ph.D., egyetemi docens

Dr. Hernádi István, Ph.D., egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Rihmer Zoltán, az MTA doktora,
egyetemi tanár

Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Al-Khrasani Mahmoud, Ph.D.,
egyetemi adjunktus

Dr. Jakus Rita, Ph.D., neurológus főorvos

Budapest

2015

Tartalom

Rövidítések jegyzéke	4
1 Bevezetés	6
2 Irodalmi áttekintés	8
2.1 Alvás-ébrenlét	8
2.1.1 Az agykéreg elektromos aktivitása, EEG hullámok.....	8
2.1.2 Az alvás-ébrenléti ciklus és a theta oszcillációk	9
2.1.3 Az alvás-ébrenlét szabályozás neuroanatómiai és neurokémiai háttere...	12
2.1.4 Átkapcsolás a vigilanciafázisok között, a „flip-flop” modell	16
2.2 Alvás és depresszió	19
2.2.1 Alvászavarok depresszióban	19
2.2.2 Az alvásmegvonás hatása a hangulatra	20
2.2.3 Az alvászavarok patofiziológiája depresszióban: elméleti modellek.....	23
2.2.4 Az alvásmegvonás rágszálókban, a „flower pot” metodika	25
2.3 Szerotonin és depresszió	27
2.3.1 Szerotonin és szerotonin receptorok	27
2.3.2 Az SSRI antidepresszánsok.....	30
2.4 Szerotonin és alvás.....	33
2.4.1 Az SSRI antidepresszánsok alváshatásai	33
2.4.2 Az 5-HT _{2C} receptor antagonisták alváshatásai.....	35
2.5 A hipnogram modellezése Markov-láncokkal	39
3 Célkitűzések.....	42
4 Anyagok és módszerek.....	44
4.1 Az állatok és tartásuk	44
4.2 A krónikus EEG és EMG elektródák beültetése.....	44

4.3 Az elektrofiziológiai jelek készítése	45
4.4 Az EEG jelek feldolgozása	45
4.5 Hatóanyag adagolás	46
4.6 A kezelési csoportok és a kísérleti protokoll	47
4.6.1 Escitalopram-Rebound kísérlet	47
4.6.2 Escitalopram-5-HT _{2C} receptor kísérlet.....	48
4.7 Vizsgált paraméterek és statisztikai analízis.....	49
4.7.1 Escitalopram-Rebound kísérlet	49
4.7.2 Escitalopram-5-HT _{2C} kísérlet.....	54
5 Eredmények	55
5.1 Escitalopram-Rebound kísérlet.....	55
5.1.1 Az alvásparaméterek deskriptív statisztikai módszerekkel való analízise	55
5.1.2 A hipnogram analízise Markov-láncokkal	58
5.1.3 Az EEG teljesítménysűrűség spektrum, Q-EEG.....	66
5.2 Escitalopram-5-HT _{2C} kísérlet.....	68
5.2.1 Az EEG teljesítménysűrűség spektrum, Q-EEG.....	68
6 Megbeszélés.....	71
6.1 Escitalopram-Rebound kísérlet.....	71
6.2 Escitalopram-5-HT _{2C} receptor kísérlet.....	76
7 Következtetések.....	79
8 Összefoglalás	81
9 Summary.....	82
10 Irodalomjegyzék	83
11 Saját publikációk jegyzéke	107
11.1 Az értekezéshez kapcsolódó közlemények listája	107
11.2 Az értekezéshez nem tartozó, független közlemények listája	107

12 Köszönetnyilvánítás.....	109
-----------------------------	-----

Rövidítések jegyzéke

5-HT: 5-hidroxi-triptamin, szerotonin

ACTH: adrenokortikotróp hormon

ANOVA: analysis of variance, varianciaanalízis

ASRI: allosztérikus szerotonin visszavétel gátló

AUC: area under the curve, görbe alatti terület

AW: active wake, aktív ébrenlét

DRN: dorsal raphe nucleus

ECoG: elektrokortikográfia

EEG: elektroencefalográfia

EMG: elektromiogram

FFT: fast Fourier transformation, gyors Fourier transzformáció

GABA: gamma-aminobutyric acid, gamma-amino-vajsav

GAL: galanin

HAM-D: Hamilton Rating Scale for Depression, Hamilton Depresszió Skála

HIST: hisztamin

HPA-tengely: hypothalamic–pituitary–adrenal axis, hypothalamus-hipofízis-mellékvesekéreg tengely

i.p.: intraperitoneális

IS: intermediate stage, átmeneti stádium

KO: knock out, génkiütött

LC: locus coeruleus

LHA: lateral hypothalamus

LSEQ: Leeds Sleep Evaluation Questionnaire, Leeds Alvásértékelő Mérés-skála

LTD: laterodorsal tegmental nucleus

MAO-A: monoamin-oxidáz-A

m-CPP: meta-chlorphenylpiperazin

MnPO: median preoptic nucleus

MOT: motilitás

MRN: median raphe nucleus

NA: noradrenalin

NE: norepinephrin/noradrenalin

NTR: normalized transition rate, normalizált fázisátváltási sebesség

ORX: orexin

PGO: pons, lateral geniculate, occipitális kéreg hullámok

PPT: pedunculopontine tegmental nucleus

PW: passive wake, passzív ébrenlét

RD: REM sleep deprivation, REM alvás-megvonás

REM: rapid eye movement sleep, gyors szemmozgásos alvás

SB-242084, SB: 6-chloro-5-methyl-1-{[2-(2-methyl-3-pyridyl)oxy]-5-pyridyl carbamoyl}

SB-243213: 5-methyl-1-[-2-[(2-methyl-3-pyridyl)oxy]-5-pyridyl]carbamoyl]-6-trifluoromethylindoline hydrochloride

SB-206553: 5-methyl-1-(3-pyridylcarbamoyl)-1,2,3,5-tetrahydropyr-olo[2,3-f]indole hydrochloride

s.c.: szubkután

SEM: standard error of mean, átlagos hiba

SERT: szerotonin transzporter

SLD: sublaterodorsal nucleus

SSRI: selective serotonin reuptake inhibitor, szelektív szerotonin visszavétel gátló

SWS: lassú hullámú alvás

SWS-1: light slow-wave sleep, felszínes lassú hullámú alvás

SWS-2: deep slow-wave sleep, mély lassú hullámú alvás

TCA: triciklikus antidepresszánsok

TMN: tuberomammillary nucleus

TSH: thyreoidea stimuláló hormon

veh: vehiculum, akut vivőanyag kezelés

VEH: vehiculum, krónikus vivőanyag kezelés

VLPO: ventrolateral preoptic nucleus

vPAG: ventrolateral periaqueductal grey, ventrolateralis periaqueductalis szürkeállomány

1 Bevezetés

Napjainkban az egyik leggyakrabban előforduló pszichiátriai kórkép a depresszió, melynek élettartam prevalenciája nagyon magas, különösen a fejlett országokban, ahol akár a 10-15%-ot is elérheti (Moussavi és mtsai). A betegség oka lehet a tartós munkaképtelenségnek, súlyos krónikus betegségek kialakulásának, öngyilkosságok elkövetésének, tehát számos egészségügyi, társadalmi és gazdasági következménye van. Ezek a tények felhívják a figyelmet a betegség patomechanizmusának további kutatására és új gyógyszerek fejlesztésére.

A depressziós betegek 80-90%-a különböző alvászavarokról számol be (Reynolds és Kupfer, 1987, Armitage és Hoffmann, 2001), melyek az elektroencefalográfiás (EEG) vizsgálatok segítségével objektíven alátámaszthatók. A legjellegzetesebb változások a REM (rapid eye movement, gyors szemmozgásos) alvásnyomás fokozódásában, valamint az alvás fenntartásának nehézségeiben nyilvánulnak meg (Riemann és mtsai, 2001). A legtöbb hatékony antidepresszáns gyógyszer, köztük a szelektív szerotonin visszavétel gátlók (selective serotonin reuptake inhibitors, SSRI-k), csökkentik a REM alvást, továbbá a REM alvás-megvonás enyhítheti a depressziósok tüneteit. A depresszió és az alvás között fennálló kapcsolat azonban máig nem teljesen tisztázott. Felmerül a kérdés, hogyan befolyásolja a szerotonerg neurotranszmisszió tartós fokozása a REM-megvonás után fellépő REM-visszacsapást, mely egy tipikusan depresszió-szerű alvászavar. Rágcsálók alvásának vizsgálata ez esetben indokolt, hiszen alvásarchitektúrájuk jól modellezi az emberi alvás mintázatot (Berger, 1929, Cipolla-Neto és mtsai, 1988), továbbá az egyes viselkedésteszték segítségével utánozhatók a depresszió-szerű tünetek.

Az egyik leghatékonyabb és legelterjedtebben használt antidepresszáns az SSRI escitalopram. Az escitalopram a többi antidepresszánshoz hasonlóan terápiás hatását csak néhány hetes kezelés után éri el, melynek hátterében minden bizonnyal adaptív receptorális változások állnak. A depresszió kezelésére használt gyógyszerek széles palettája ellenére vannak terápia rezisztens betegek, ezért igény mutatkozik augmentációs stratégiákra, új és több támadáspontú gyógyszerek fejlesztésére. Az egyik lehetséges támadáspont a szerotonin 2C (5-HT_{2C}) receptor. A szelektív és potens 5-

HT_{2C} receptor ligandok megjelenésével lehetőség nyílt a receptor funkcióinak behatóbb tanulmányozására rágcsálókban.

Dolgozatom bevezető részében az alvásszabályozás, valamint az alvás és a depresszió között fennálló kapcsolat ismertetése után a kísérletes munkámhoz közvetlenül kapcsolódó irodalmat, vagyis a REM-megvonás alvásra és hangulatra gyakorolt hatásait tekintem át. Ezt követően az SSRI antidepresszánsok és az 5-HT_{2C} receptor antagonisták szerepét alváshatásaikat tárgyalom. Továbbá ismertetem a Markov-lánc modellt, mely a deskriptív statisztikai módszerektől eltérően jobban tükrözi a biológiai folyamatokat, habár az alvás feldolgozásában még egy kevésbé elterjedt statisztikai módszer. Ezek a fejezetek vezetnek át a megválaszolni kívánt kérdésekre. A dolgozat alapjául szolgáló kísérletekben a krónikus escitalopram kezelés alváshatásait vizsgáltam patkányokban.

2 Irodalmi áttekintés

2.1 Alvás-ébrenlét

2.1.1 Az agykéreg elektromos aktivitása, EEG hullámok

Lényeges pontok:

- Az EEG mérésére rágcsálókban elektrokortikográfiát használnak,
- az EEG hullámok amplitúdója/feszültsége a szinkrón tüzelő sejtek számával arányos,
- deszinkronizált hullámok ébrenlét és REM során,
- theta hullámok: alacsony feszültségű, 5-9 Hz frekvenciájú jelek.

Az alvás a fizikai inaktivitás állapota, melyet a tudatosság hiánya és a környezeti stimulusokra való csökkent válaszadási készség jellemez. Az agykéreg elektromos aktivitásának mérésével lehetőség van az agy és a tudat állapotának objektív vizsgálatára. A klinikai neurológia egyik legjelentősebb áttörését jelentette az első elektroencefalográf (EEG) megalkotása, melyre 1924-ben került sor Hans Berger, német pszichiáter által (Berger, 1929). Az agy elektromos jeleit emberben a fejbőrre helyezett elektródokkal, míg rágcsálókban a koponyacsontba ültetett, kemény agyhártyát érintő elektródok (elektrokortikográfia, ECoG) segítségével lehet mérni. Az EEG az elektródok közötti potenciálkülönbségeket regisztrálja, melyek a kéregre merőleges, nagyszámú, egyszerre tüzelő neuron összegzett elektromos aktivitásából (mezőpotenciál) erednek. Az EEG jelek fő forrásai a lassú poszt-szinaptikus potenciálváltozások, az akciós potenciálok rendszerint nem vesznek részt a jelek kialakításában. Az időben folyamatosan változó EEG hullámok frekvenciával és amplitúdóval jellemezhetők. A jelek amplitúdója annál nagyobb, minél több sejt tüzel szinkrón az elektród által érzékelt területen. Az EEG regisztrátumra általánosan jellemző, hogy az alacsonyabb frekvenciájú jelek nagyobb mértékű szinkronicitással járnak (William O. Tatum IV, 2008). A hullámok egyrészt csoportosíthatók szinkronicitás szerint, vagyis megkülönböztetünk szinkronizált (magas amplitúdójú, alacsony frekvenciájú) és deszinkronizált (alacsony amplitúdójú, magas frekvenciájú)

jeleket. A szinkronizált hullámok főleg non-REM (NREM) alvás során, a deszinkronizált hullámok pedig ébrenlét és REM alvás alatt jelentkeznek. Továbbá az agyhullámokat csoportosíthatjuk frekvenciájuk szerint is, habár a hullámokat meghatározó frekvencia tartományok nem teljesen egységesek az irodalomban. A dolgozatban az alábbi csoportosítást használtam: delta (1-4 Hz), théta (5-9 Hz), alfa (10-13), béta (14-30) és gamma (30-60 Hz) hullámok. Továbbá megkülönböztetünk alvási orsókat, melyek jellegzetes formával jellemezhető, 6-15 Hz frekvenciájú jelek (amplitúdójuk először nő, majd csökken) (Kantor és mtsai, 2002, Kantor és mtsai, 2005, Steriade, 2006).

A poliszomnográfias felvételek készítése során az EEG jeleken kívül egyéb fiziológias változókat, mint például a vázizmok (elektromiogram, EMG) és az okulomotoros izmok (elektrookulogram) aktivitását is regisztrálják, melyek segítségével pontosan meghatározhatók az egyes vigilancia stádiumok.

2.1.2 Az alvás-ébrenléti ciklus és a théta oszcillációk

Lényeges pontok:

- A NREM-REM ciklusok hossza fajtól függően változhat,
- az ébrenlétre kevert hullámok (béta, alfa, théta és gamma),
- a NREM alvásra magas delta aktivitás és alvási orsók,
- a REM alvásra kevert, deszinkronizált hullámok, patkányban hippocampális théta aktivitás jellemző,
- a théta hullámokat a tanulás- és memóriefolyamatokkal hozták összefüggésbe.

Egy alvásciklus [NREM és REM alvás] emberben 90 perc, mely 3-6 alkalommal ismétlődik az éjszaka folyamán. Ennek jelentős részét (kb. 80 perc) a NREM alvás teszi ki, melynek mennyisége az alvás előre haladásával csökken, és egyre több REM alvás jelentkezik. Az egyes vigilancia szakaszok hossza fajtól, nemtől, kortól és egészségi állapottól függően változhat. Rágcsálókban egy NREM-REM alvás ciklus 12 perc körül van (McCarley, 2007, Saper és mtsai, 2010).

Ébrenlét

Az ébrenlét állapotára alapvetően az alacsony amplitúdójú, kevert hullámok jellemzők, a jelentősen deszinkronizált béta és gamma, valamint a magasabb

szinkronicitást mutató alfa hullámok. A béta/gamma hullámok főként éber, figyelmi, az alfa hullámok pedig becsukott szem esetén, relaxált vagy álmos állapot során jelentkeznek. Az EEG felvételeken theta hullámok is megfigyelhetők, emberben elsősorban különböző mnemonikai funkciók során, patkányokban pedig főleg exploratív lokomotoros tevékenységek kapcsán (Vanderwolf, 1969, Buzsaki, 2002, Caplan és mtsai, 2003, Brown és mtsai, 2012) .

NREM alvás

Emberben a NREM alvás négy stádiumát különítjük el. Az alvás a NREM-1 fázistól a NREM-4 fázisig fokozatosan mélyül, az ébredési küszöb egyre magasabb. A légzés és a pulzus lassul, a kéreg és a thalamus szinkron tüzelése következtében az EEG jeleken a lassú hullámú aktivitás (0,5-4 Hz) növekvő mennyisége mutatkozik; a kéreg ébresztő mechanizmusai csökkent aktivitást mutatnak. A szendergés (NREM-1) fázisa alatt eltűnnek az ébrenlétre jellemző alfa hullámok és helyüket átveszik a szabálytalan theta sorozatok, és a vertex táji EEG-elvezetésekben fellépő meredek hullámok. Ebben a stádiumban lassú szemmozgások mutatkoznak. Ezt követi a felületes alvás (NREM-2) fázisa, amikor gyakori az alvási orsók és a K-komplexusok jelenléte, valamint alacsony amplitúdójú theta és delta hullámok fordulnak elő; a szemmozgások ebben a fázisban már teljesen hiányoznak. A NREM-3 és NREM-4 stádiumokra (mély, vagy lassú hullámú alvás) az alacsony frekvenciájú, magas amplitúdójú delta hullámok dominanciája jellemző, de alvási orsók és K-komplexusok továbbra is jelentkezhetnek. Rágcsálókban a NREM alvásnak csupán két fázisát különítjük el, a felszínes és a mély lassú hullámú alvást (slow-wave sleep, SWS-1 és SWS-2). Egy átlagos NREM szakasz emberben kb. 40 perc-1 óra, rágcsálókban általában 3-5, de akár 20 perc is lehet (Bódizs, 2000a, Saper és mtsai, 2010).

A lassú hullámú alvás és REM alvás között gyakran fordul elő az úgynevezett átmeneti stádium (intermediate stage, IS), melyre a frontális kéreg nagy amplitúdójú, orsó formájú, gyorsuló hullámai és hippocampális theta oszcillációk jellemzők. Jelenlétét rágcsálókban, macskákban és emberben is igazolták. Ez a stádium minden bizonnyal az agytörzs felől a kéregbe irányuló aktiváló mechanizmusok csökkenésének a következménye. A GABA (gamma-amino butyric acid, gamma-amino-vajsav) aktivitást emelő barbiturátok és benzodiazepinek fokozzák az átmeneti stádium mennyiségét (Gottesmann és mtsai, 1998).

REM alvás

A REM fázis során tapasztalt kérgi jelek nagyon hasonlóak az ébrenlét és a szendregés fázisa alatt észleltekhöz. Ebben a fázisban a gyors szemmozgások mellett a vázizomzat teljes relaxációja jellemző. Rágcsálókban a kortikális felszínről elvezetett EEG felvételeken REM alvás során a magasabb frekvenciájú (5-9 Hz), hippocampális eredetű théta hullámok dominálnak. Emberben szintén jelen vannak ezek a hullámok, de alapvetően a magasabb frekvenciájú és alacsonyabb feszültségű kérgi jelek dominálnak. Az álmok megjelenése REM alvásban a legvalószínűbb, valamint a többi fázishoz képest viszonylag magasabb a spontán ébredések valószínűsége (Bódizs, 2000a, Saper és mtsai, 2010).

Théta oszcillációk

A théta oszcillációk az emlős hippocampus egyik legmeghatározóbb elektrofiziológiai jelei (Vertes és Kocsis, 1997, Buzsaki, 2002). Feltételezhetően szerepük van a memóriakódolásban és visszahívásban, a szenzomotoros integrációban, a tanulás gyorsaságában és a hosszú távú potenciációban (Cantero és mtsai, 2003). A hippocampális eredetű théta oszcillációk erős korrelációt mutatnak bizonyos ébrenlét során megfigyelhető viselkedésekkel és a REM alvással alacsonyabb rendű emlősökben (Winson, 1972). Emberben ezeket a hippocampális hullámokat nem könnyű tanulmányozni, elsősorban technikai okok (a koponya vastagsága miatt nem regisztrálhatók a fejbőrrel) és etikai problémák (hippocampális mélyelektrodák beültetése) miatt. A kevés információ, amivel a szakirodalom rendelkezik, olyan epilepsziás betegekből származik, akiknek terápiás célból intrakraniális elektródákat ültettek be. Az egyik legszisztematikusabb tanulmányban Cantero és munkatársai (2003) a théta ritmust a hippocampus és a kéreg területén is detektálták. A hippocampális jelek rövid „burst”-ök formájában jelentkeztek, és a REM alváshoz, valamint a felébredéshez kapcsolódtak. A kérgi théta ritmust a felébredések és csendes ébrenlét során figyelték meg. Korábbi tanulmányokban a hippocampális théta aktivitás jelenlétét demonstrálták csukott szemű pihenés és szópárok tanulása során (Meador és mtsai, 1991), továbbá kérgi théta aktivitást mutatták ki egyes mnemonikai funkciók, mint például térbeli navigáció (Kahana és mtsai, 1999) és munkamemória (Raghavachari és mtsai, 2001) kapcsán. A kérgi jelek is fázisosan, csupán 1-2 másodperces „burst”-ök formájában fordultak elő (Rizzuto és mtsai, 2003).

Rágcsálókban azonban úgy tűnik, hogy a théta ritmus tónusosan jelentkezik a hippocampusban, ébrenléti explorációs tevékenységek (Vanderwolf, 1969) és REM alvás (Winson, 1972) során. A hippocampális eredetű théta ritmus tanulmányozása rágcsálókban könnyen megvalósítható, akár mélyelektrodák nélkül is, mivel koponyájuk kis mérete és a hippocampus elhelyezkedése lehetővé teszi a jelek kéregről való elvezetését.

2.1.3 Az alvás-ébrenlét szabályozás neuroanatómiai és neurokémiai háttere

Lényeges pontok:

- A felszálló ébresztő rendszer az agytörzsből az előagyba projektáló neuronális rendszer,
- a PPT és LTD területéről eredő kolinerg rostok aktivitása ébrenlét és REM alvás alatt a legmagasabb,
- a monoaminerg neuronok ébrenlét alatt tüzelnek a legintenzívebben, aktivitásuk csökken NREM alvás alatt és szinte teljesen szünetel REM alvás során,
- a NREM-REM átmenetek szabályozásáért részben a kolinerg-monoaminerg interakció tehető felelőssé,
- a VLPO mag GABA-erg gátló sejtjei az alvást segítik elő.

Ébrenlét

Constatin von Economo az első világháború idején az encephalitis lethargica-ban szenvedő betegek vizsgálata során találta az első bizonyítékot arra vonatkozóan, hogy a posterior hypothalamus és az agytörzsi formatio reticularis az ébrenlét fenntartásához elengedhetetlen struktúrák (Economo, 1923, 1930). Az 1950-es években Moruzzi és Magoun macskákon végzett kísérletei által további megerősítést nyert, hogy a formatio reticularis az ébrenlét fenntartásának elengedhetetlen eleme, mivel annak elektromos stimulálása ébrenlétet eredményezett az alvó állatok EEG felvételein (Moruzzi és Magoun, 1949), amit később többen megerősítettek (Lindsley és mtsai, 1949, French és Magoun, 1952). Az eredmények alapján a formatio reticularis-ból kiinduló, a kérgi ébrenlét kiváltásáért felelős neuronális hálózatok a felszálló ébresztő rendszer elnevezést kapták. Ezek az agytörzsből felszálló projekciók két útvonalon keresztül érik el az előagyat. A dorsalis ág a nem specifikus thalamus magvakon keresztül jut az

előagyba, ami elsősorban a szenzoros inputok továbbítását szabályozza a kéregbe. A ventrális ág a hypothalamuson keresztül projektál a bazális előagyba, majd onnan a kéregbe. A felszálló ébresztő rendszert felépítő neuronális rendszerek közül a pedunculopontine és a laterodorsalis tegmentum (PPT és LTD) területéről eredő kolinerg rostok aktivitása ébrenlét és REM alvás alatt a legmagasabb, NREM alvás alatt pedig a legalacsonyabb (el Mansari és mtsai, 1989, Steriade és mtsai, 1993). Ezek a kolinerg neuronok elsősorban a thalamus magvakat innerválják, de a lateral hypothalamus (LHA), a bazális előagy és a kéreg felé is küldenek projekciókat (Satoh és Fibiger, 1986). Általánosságban elmondható, hogy a monoaminerg neuronok ébrenlét alatt tüzelnek a legintenzívebben, aktivitásuk csökken NREM alvás alatt és szinte teljesen szünetel REM alvás során. A noradrenerg rostok a locus coeruleus (LC), a szerotonerg sejtek a dorsalis és median raphe nucleus (DRN és MRN), a dopaminerg neuronok a ventralis periaqueductalis szürkeállomány (vPAG), a hisztaminerg idegsejtek pedig a tuberomammillary nucleus (TMN) területéről erednek. A monoaminerg sejtcsoportok az LHA, a bazális előagy és a kéreg felé projektálnak, de a thalamus felé is küldenek rövidebb projekciókat. (Dahlstroem és Fuxe, 1964, Aston-Jones és Bloom, 1981, Panula és mtsai, 1989, Kocsis és mtsai, 2006, Lu és mtsai, 2006a). A felszálló ébresztő rendszer további elemét képzik azok a glutamaterg sejtek, melyek a híd rostralis szakaszából (parabrachialis nucleus, precoeruleus area) eredve küldenek projekciókat a hypothalamus, a bazális előagy és a kéreg felé (Saper és Loewy, 1980, Hur és Zaborszky, 2005). Ezek a rostok ébrenlét és REM alvás alatt mutatnak aktivitást (Saito és mtsai, 1977, Lu és mtsai, 2006c). Továbbá egyes előagyi struktúrák is részt vesznek az ébrenléti állapot kiváltásában és fenntartásában. Ilyen előagyi struktúra az ébrenlétet elősegítő, REM alvást gátló, különösen exploratív és motivált viselkedések során aktív orexinerg neuronok csoportja az LHA-ban. Ezek a sejtek a kéreg, az agytörzs és a bazális előagy felé projektálnak, valamint a thalamus magvakat is innerválják. Az orexinerg sejtek az ébresztő rendszer számos területéről, főleg a TMN és LC területéről kapnak afferens beidegzést. Az ébresztő rendszer további sejtpopulációi a bazális előagy területén az acetil-kolin, GABA és glutamát termelő neuronok. A kolinerg rostok közvetlenül és közvetve is aktiválják a kérgi piramissejteket, a GABA-erg sejtek pedig diszinhibíció révén fokozzák a kortikális aktivitást (Saper és mtsai, 2010). A felszálló

ébredtő rendszer elemeit és aktivitási szintjüket az egyes vigilanciafázisok alatt az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat A felszálló ébredtő rendszer fő útvonalainak aktivitási szintje ébrenlét, NREM és REM alvás alatt.

+: a rendszer az adott stádiumban aktív; -: a rendszer az adott stádiumban nem aktív; ?: a rendszer aktivitása az adott stádiumban kérdéses; Rövidítések: DRN: dorsal raphe nucleus; GABA: gamma-amino-vajsav; LC: locus coeruleus; LDT: laterodorsal tergmental nucleus; MRN: median raphe nucleus; NREM: non-REM alvás; PPT: pedunculopontine tegmental nucleus; REM: gyors szemmozgásos alvás; TMN: tuberomammillary nucleus; vPAG: ventrolateral periaqueductal grey; (Saper és mtsai, 2010, Wilson és Nutt, 2013 alapján)

Neurotranszmitter	A neuronok eredésének anatómiai lókusza	Ébrenlét	NREM alvás	REM alvás
Acetil-kolin	LDT/PPT	+++	+	+++
Noradrenalin	LC	+++	+	-
Szerotonin	DRN, MRN	+++	+	-
Dopamin	vPAG	+++	+	-
Hisztamin	TMN	+++	+	-
Acetil-kolin	Bazális előagy	+++	-	+
GABA	Bazális előagy	+++	-	?
Orexin	Lateral hypothalamus	+++	-	-

NREM alvás

Constantine Von Economo demonstrálta elsőként, hogy a harmadik agykamra rostrális vége körüli preoptikus régió léziója súlyos inszomniát okoz (Economo, 1930). Később kísérleti állatokban is igazolták, hogy a preoptikus régió-bazális előagy környéki léziók csökkentik az alvást (Nauta, 1946, McGinty és Serman, 1968). Azóta tudjuk, hogy az alvást promotáló neuronok valójában a ventrolateral preoptic nucleus (VLPO) területéről indulnak és innerválják az ébredtő rendszer számos elemét, elsősorban a TMN, LC és a DRN sejtjeit. Ezek a sejtek csak alvás alatt aktívak, gátló neurotranszmittereket, galanint és GABA-t termelnek, így képesek gátolni az ébrenlétet (Sherin és mtsai, 1998). Valószínűsíthető, hogy a VLPO mag régiója elsősorban a NREM, míg a magot körülvevő sejtek a REM alvást segítik elő (Lu és mtsai, 2000). A

VLPO sejtjei reciprok beidegzést kapnak az ébresztő rendszer számos elemétől, elsősorban a TMN, DRN, vPAG, parabrachialis nucleus és a LC területéről (Chou és mtsai, 2002, Lu és mtsai, 2006a). Kimutatták, hogy a VLPO működését az acetil-kolin, a szerotonin (5-HT), a noradrenalin és a dopamin képes gátolni, azonban a hisztamin nem, így a TMN sejtjei egy másik molekula, az endomorfín révén képesek rá gátlást kifejteni (Gallopín és mtsai, 2000, Gallopín és mtsai, 2004). A VLPO szomszédságában található a szintén alvás alatt aktív, GABA-erg sejteket tartalmazó median preotikus nucleus (MnPO) (Gong és mtsai, 2004). A VLPO neuronokkal ellentétben az MnPO sejtjei már elalvás előtt és alvás megvonás során is aktívak, így feltételezett szerepük van az alvásnyomás fokozódásában (Gvilia és mtsai, 2006). Az MnPO neuronjai képezik a VLPO elsődleges bemenetét, így képesek szabályozni annak aktivitását. Továbbá az MnPO sejtjei projektálnak az LHA, a LC, a DRN és a vPAG irányába is (Chou és mtsai, 2002, Uschakov és mtsai, 2007). Valószínűsíthető, hogy a VLPO és a MnPO mellett egyéb neuron csoportok is részt vesznek az alvás elősegítésében és fenntartásában, feltehetően a bazális előagy és a kéreg területén, de jelenleg még kevés bizonyíték áll rendelkezésre (Modirrousta és mtsai, 2004, Takahashi és mtsai, 2009).

REM alvás

A REM alvás szabályozásában az egyik fő szerepet a híd és a középagy találkozásánál levő PPT és LDT kolinerg (REM-on) neuronjai játsszák. Közvetlenül REM alvás előtt és az alatt magas feszültségű, úgynevezett PGO (pons, lateral geniculate, occipitális kéreg) hullámok jelentkeznak, melyek az LDT/PPT idegsejtjeinek tüzelésével időbeli kapcsoltságot mutatnak (Sakai és Jouvet, 1980, el Mansari és mtsai, 1989). REM fázis alatt az ébresztő rendszer monoaminerg (REM-off) sejtjeinek tüzelése a LC, a DRN és a TMN területén szinte teljesen szünetel. Az LDT/PPT kolinerg rostjai és a monoaminerg sejtek közti reciprok kapcsolat alapján feltételezhető, hogy a NREM-REM átmenetek szabályozásáért, legalábbis részben, a kolinerg-monoaminerg interakció tehető felelőssé. NREM alvás során a vPAG és a lateral pontine tegmentum GABA-erg (REM-off) idegsejtjei meggátolják, hogy az alvás REM-be váltsa. REM alvás alatt viszont ezeknek a neuronoknak a működése van gátolva a sublaterodorsal nucleus (SLD) GABA-erg (REM-on) neuronjai révén. Ez a kölcsönös gátló kapcsolat eredményezi a gyors és teljes váltást a NREM és a REM szakaszok között. Az átváltásnak ezt a fő mechanizmusát befolyásolják egyéb, a felszálló ébresztő rendszer

részét képező noradrenerg és szerotonerg rostok, melyek tüzelésükkel a REM alvást gátolják, valamint a kolinerger neuronok, melyek a REM alvásnak kedveznek. Továbbá az orexinerg sejtek gátolják a REM-be lépést, míg a VLPO gátló sejtjeinek aktivitása kedvez a REM kialakulásának (Saper és mtsai, 2010). Az SLD glutamaterg sejtjei számos gátló interneuront aktiválnak a nyúlóvelőben és a gerincvelőben, melyek a motoneuronok gátlása révén előidézik a REM-re jellemző izomatóniát. A parabrachiális nucleus és a precoeruleus régió területéről felszálló glutamaterg rostok pedig az EEG deszinkronizációját és a hippocampális theta ritmust eredményezik, mely a REM alvás tipikus EEG jele (Luppi és mtsai, 2004, Lu és mtsai, 2006c, Vetrivelan és mtsai, 2009).

2.1.4 Átkapcsolás a vigilanciafázisok között, a „flip-flop” modell

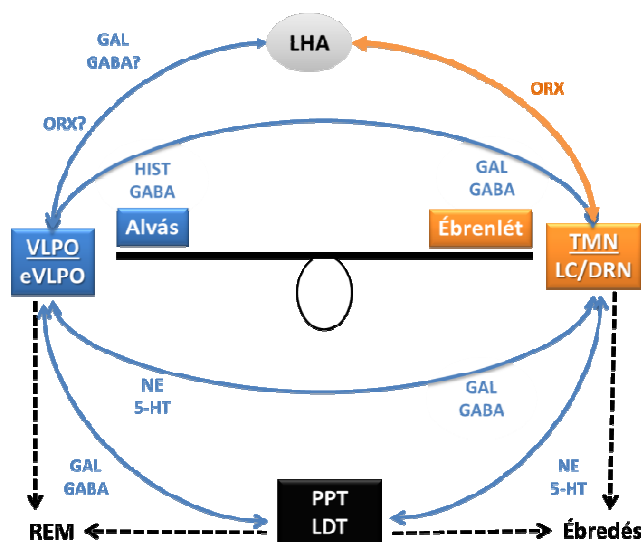
Lényeges pontok:

- Az ébrenlétet és alvást kiváltó rendszerek között oda-vissza gátló kapcsolat van,
- amint a szabályozó kör egyik komponense fölénybe kerül, kikapcsolja a másik oldalt,
- az átváltás a neuronok nagy száma miatt nem azonnal megy végbe, ideje fajtól és az agy komplexitásától függően változik,
- az alvás-ébrenlétszabályozó rendszerek közötti kölcsönös gátlás egyensúlyát döntően befolyásolják a cirkadián és a homeosztatikus tényezők.

A vigilancia szabályozás egyik legfontosabb tulajdonsága az alvás vagy az ébrenlét stabil állapotának biztosítása. Elalvás során drámai változások mérhetők az agykéreg elektromos tevékenységében, az izomtónusban, valamint a légzésben és egyéb fiziológiai paraméterekben. Az elalvás folyamata csupán néhány másodperc rácsálókban, emberben minimum 10 másodperc, de akár 1 perc is lehet. Egy alvási periódus során képesek vagyunk néhány másodperc alatt a NREM és REM alvás között oda-vissza váltani, vagy akár ébrenléti periódusba kerülni. Az ébrenlétet és alvást kiváltó rendszerek között kölcsönös, oda-vissza gátló kapcsolat van, ami biztosítja a gyors és teljes átváltást a stádiumok között. Az agytörzsi magokból kiinduló ébresztő rendszer összes eleme beidegzi a prefrontális kérget, ami pedig projekciókat küld vissza a bazális előagy, a hypothalamus és az agytörzs felé. Az ébrenlét és alvás kiváltásáért felelős neuronok működése közötti reciprok kapcsolat, valamint a fázisok közötti gyors

és teljes átmenet nagyon hasonlít az elektromos áramkörökben alkalmazott „flip-flop” kapcsolók működéséhez (1. ábra) (Saper és mtsai, 2010). Lényegében, amint a szabályozó kör egyik komponense fölénybe kerül, kikapcsolja a másik oldalt. Az agyban ez a folyamat a neuronok nagy száma miatt nem azonnal megy végbe, hanem másodpercek akár percek alatt, illetve ideje fajtól és az agy komplexitásától függően is változik. Az ébrenlét-alvás átváltásokért a felszálló ébresztő rendszer és a VLPO közötti bistabil, oda-vissza gátló kapcsolat tehető felelőssé. Amikor alvás alatt a VLPO sejtjei gyorsan tüzelnek, legátolják az őket gátló monoaminerg neuronokat, így közvetlenül akadályozzák az ébrenlétet és diszinhibíció révén tovább erősítik saját működésüket. Ébrenlét során pedig a monoaminerg rostok tüzelési frekvenciája magas, ami a VLPO sejtjeit, így az alvást gátolja, továbbá diszinhibíció révén fokozza az ébresztő rendszer aktivitását. Rágcsálókban kimutatták, hogy az ébrenlét↔NREM átmenetek során a VLPO, a LC és a TMN neuronjai kevesebb, mint 1 másodperc alatt képesek megváltoztatni tüzelési aktivitásukat (Takahashi és mtsai, 2006, 2009, Takahashi és mtsai, 2010). Mivel azonban idegsejtek ezreinek kell megváltoztatni az aktivitási mintázatát, a szabályozó körben érintett összes neuron nem képes egyszerre átváltani, így az érvényesülő állapot valószínűleg az agy neuronális aktivitásának eredőjeként jelentkezik. Az alvás-ébrenlétet szabályozó rendszerek közötti kölcsönös gátlás egyensúlyát döntően befolyásolják a cirkadián és a homeosztatisztikus tényezők, melyek szükség esetén képesek az egyik vagy a másik állapot irányába tolni az egyensúlyt (Saper és mtsai, 2010). Az alvást és az ébrenlétet szabályozó neuroncsoportok irtása során tapasztalt eredmények általánosságban alátámasztják a „flip-flop” modell elméletét, ugyanis a VLPO léziója után még hónapokkal később is jóval kevesebb az alvás mennyisége és az ébrenlét↔alvás átmenetek számának fokozásával a rendszer stabilitása is csökkent (Lu és mtsai, 2000). Érdekes módon az ébresztő rendszer monoaminerg és kolinerg struktúráinak egyedi és kombinációban történő irtása nem okozott változást sem az alvás mennyiségében, sem pedig annak fragmentációjában (Lu és mtsai, 2006c, Blanco-Centurion és mtsai, 2007). A REM-on és REM-off neuronok működése egymás kölcsönös gátlása következtében szintén hasonlítható a „flip-flop” áramkörökhöz (Luppi és mtsai, 2004, Lu és mtsai, 2006c, Luppi és mtsai, 2006). Ebben a szabályozó körben az egyik oldalról érkező GABA-erg gátlás képes kioltani a másik oldal működését, gyors és teljes átkapcsolást eredményezve. Ezzel összhangban van,

hogy a REM-on sejtpopulációk léziója csökkenti, a REM-off neuronok léziója pedig növeli a REM alvásban töltött időt, miközben mindkét esetben fragmentálódik a REM és a NREM alvás is (Lu és mtsai, 2006c). A „flip-flop” kör stabilizálásában feltehetően a laterális hypothalamusban termelődő orexin játsza az egyik főszerepet. Az orexinerg jelátvitel sérülését feltételezik ugyanis az instabil alvás-ébrenlét ciklussal jellemezhető narkolepszia hátterében, ami az ébrenlétbe betörő, gyakran kateplexiával kísért fragmentált REM alvás periódusokban nyilvánul meg. Az orexinerg neuronok a VLPO-t és az felszálló ébresztő rendszer összes elemét innerválják. Receptorai közül az orexin 1 receptor a LC, az orexin 2 receptor pedig a TMN és a bazális előagy területén fordul elő nagy számban; valamint mindkét receptor megtalálható a raphe magok és a formatio reticularis régiójában. Az orexinerg neuronok tüzelése elsősorban ébrenlét során magas (Saper és mtsai, 2001, Saper és mtsai, 2010).



1. ábra Az alvás-ébrenlét szabályozás reciprok interakciójának („flip-flop” modell) sematikus ábrázolása a szabályozásban résztvevő fő útvonalak ábrázolásával.

A gátló útvonalak kékkel, a serkentő útvonalak narancssárgával vannak jelölve. A TMN, LC és DRN monoaminerg neuronjai fokozzák az ébrenlétet, egyrészt közvetlenül a kéreg beidegzése által, valamint közvetve a VLPO sejtjeinek gátlása révén. Alvás során a VLPO GABA-erg és galaninerger projekciói legátolják az ébresztő rendszert, valamint az aminerg gátlás gátlása révén tovább erősödik az alvás stabilitása. A REM alvás elősegítése érdekében a VLPO gátló sejtjei legátolják a PPT/LDT kolinerg neuronjait gátló sejteteket, valamint a REM alvást gátló monoaminerg rostokat. Az LHA orexinerg sejtjei által az ébresztő rendszer aktivitásának fokozásával és a VLPO valamint az PPT/LDT gátlásával továbbberősítik a stabil ébrenlégi állapotot. Rövidítések: 5-HT: szerotonin; DRN: dorsalis raphe nucleus; GABA: gamma-amino-

vajsav; GAL: galanin; HIST: hisztamin, LC: locus coeruleus; LDT: laterodorsal tegmental nucleus; LHA: lateral hypothalamus; NE: norepinephrin; ORX: orexin; PPT: pedunculopontine tegmental nucleus; REM: gyors szemmozgásos alvás; TMN: tuberomammillary nucleus; VLPO: ventrolateral preoptic nucleus, (Saper és mtsai, 2010).

2.2 Alvás és depresszió

2.2.1 Alvászavarok depresszióban

Lényeges pontok:

- A legtöbb depressziós betegnél alvászavarok jelentkeznek,
- elsősorban a REM alvásnyomás fokozódása, fragmentált alvás és álmatlanság jellemző,
- az álmatlanság nemcsak a depresszió tünete, hanem annak rizikófaktor is lehet.

A depressziós betegek leggyakoribb tünetei között szerepelnek a különböző alvászavarok, amik elsősorban az elalvással és az alvás fenntartásával kapcsolatos nehézségeket jelentik. A depressziósok több mint 80-90 %-a szenved az alábbi problémáktól: elalvási nehézség, fragmentált alvás, zavaros álmok, korai ébredés, az alvás mennyiségének csökkenése, fáradtság közvetlenül ébredés után és napközben. Az álmatlanság (inszomnia) nemcsak a depresszió egyik tünete, hanem hosszú távon, mint rizikófaktor, lehet annak okozója is. Ez egy erős, kétirányú kapcsolatot feltételez az álmatlanság és a depresszió patomechanizmusa között. (Riemann és mtsai, 2001). Másrészt az inszomnia korai tünete vagy előrejelzője is lehet a később kialakuló depressziónak (Perlis és mtsai, 1997). Ezzel ellentétben viszont a betegek egy kevés hányadánál, elsősorban bipoláris depresszió esetén, mértéktelen alvás (hiperszomnia) alakulhat ki (Detre és mtsai, 1972).

A poliszomnográfias felvételek alapján a gyógyszeres kezelésben nem részesülő depressziósok alvása gyakran zavart, fragmentált, gyakori ébredések és csökkent alváshatékonyság (összes alvás idő/összes ágyban töltött idő) jellemzi. Az alvás látencia ideje, azaz a lefekvéstől az elalvásig eltelt idő hosszabb, az összes alvással töltött idő pedig kevesebb. A REM alvás látencia ideje (az elalvástól az első REM szakasz megjelenéséig eltelt idő) gyakran rövidül, az első REM szakasz hossza megnő, valamint fokozódik az egész éjszakán át mért REM alvás időtartama és a gyors szemmozgások

intenzitása (REM denzitás) is. A lassú hullámú alvásban töltött idő gyakran kevesebb, valamint csökkenhet az ekkor jellemző delta hullámok aktivitása (Kupfer és Foster, 1972, Kupfer, 1976). A depressziós betegek gyakori alvászavarait a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat. Gyakori alvászavarok depresszióban.

Rövidítések: REM: rapid eye movement sleep, gyors szemmozgásos alvás; SWS: slow-wave sleep, lassú hullámú alvás;

Összes alvás	REM alvás	SWS
összes idő ↓	összes idő ↑	összes idő ↓
alváslátencia ↑	REM látencia ↓	delta hullámok aktivitása ↓
fragmentált alvás, gyakori ébredések	első REM szakasz hossza ↑	
alváshatékonyság ↓	REM denzitás ↑	

Annak ellenére, hogy a depressziós betegek alvászavarai az utóbbi évtizedekben részletesen fel lettek derítve, sajnos még sincs egy olyan változó sem, ami a depresszióra egyértelműen specifikus lenne (Benca és mtsai, 1992). Kezdetben a rövid REM látenciát tartották az elsődleges depresszió egyik biológiai markerének, de ez az elképzelés később nem nyert egyértelmű bizonyítást (Kupfer, 1976, Riemann és mtsai, 2001).

2.2.2 Az alvásmegvonás hatása a hangulatra

Lényeges pontok:

- Az alvás hiánya jellemzően rossz hangulatot és szorongást okoz,
- a teljes alvás- vagy szelektív REM-megvonás viszont javíthatja a depressziós betegek tüneteit,
- a hangulatra gyakorolt pozitív hatás átmeneti; alvás után a javulás általában megszűnik,
- a REM-megvonás utáni visszaalvásra erős REM-visszacsapás jellemző,
- a REM-deprivációs terápiát akár több hétig kell folytatni a tartós hatás érdekében,
- a terápiás hatás mögött részben az 5-HT_{1A} receptorok adaptációja feltételezhető.

Már a korai alváskutatás során észrevették, hogy a teljes alvásmegvonás vagy a szelektív REM-megvonás javította a depresszív hangulatot az affektív zavarban szenvedő betegek 60%-ánál (Wu és Bunney, 1990). A REM-deprivációs terápiára vonatkozóan az egyik legrészletesebb tanulmányt Vogel és munkatársai végezték 1980-ban, akik kimutatták, hogy az antidepresszáns hatás tartós fennmaradása érdekében a terápiát több napig, vagy akár több hétig kell folytatni. A hatás látencia ideje érdekes módon megegyezik az antidepresszáns farmakoterápia látencia idejével. A REM-megvonás után jelentkező REM-visszacsapás (REM rebound) mértéke a depressziós betegekben és az egészséges kontroll csoportban azonos mértékű volt, viszont amíg a depressziósok REM-visszacsapása az éjszaka első felében volt hangsúlyos, addig egészségesekben ez az éjszaka második felére tolódott. Ennek ellenére a depressziósok esetében a hangulat pozitív irányú változása a késői, vagyis inkább az éjszaka második felére tolódott REM növekedéssel korrelált (Vogel és mtsai, 1980). A REM-depriváció pozitívan befolyásolta a depresszió-szerű tüneteket a depresszió egyes rágcsló modelljeiben is (Adrien és mtsai, 1991, Prathiba és mtsai, 2000). Az alvásmegvonás terápiás hatása azonban csak átmeneti, ugyanis a legtöbb esetben már az első visszaalvást követően visszatérnek a depressziós tünetek (Southmayd és mtsai, 1990). A visszaesés valószínűsége akkor nagyobb, amikor a megvonás utáni alvás REM alvást tartalmaz (Bódizs, 2000b). A tanulmányok azt is kimutatták, hogy a hatás szempontjából elsősorban az alvásmegvonás időtartama számít, nem pedig annak időzítése az éjszaka folyamán (Adrien, 2002); azonban ezzel nem minden kutatócsoport ért egyet. Egyes tanulmányok ugyanis azt találták, hogy az éjszaka utolsó 4-5 órájának ébren töltése elegendő lehet a pozitív hatáshoz (Gillin, 1983).

Mindezekből az következik, hogy a REM alvásban bekövetkező változásoknak döntő szerepük lehet a betegség kialakulása szempontjából, azonban a pontos mechanizmus máig felderítetlen. Mint ahogy az is, hogy pontosan mi okozza a REM-megvonás pozitív hangulati hatását a depressziós betegekben. Mivel a legtöbb antidepresszáns gyógyszer is csökkenti a REM alvást, jogos az a feltételezés, hogy a REM csökkenés fontos lehet a terápiás hatás kialakulása szempontjából (Wilson és Argyropoulos, 2005). Továbbá mind a REM-megvonás, mind pedig a krónikus antidepresszáns kezelés adaptív receptoriális változásokat von maga után. Az antidepresszív farmakonok hatásmódjához hasonlóan az első lépcsőfok minden

bizonyítva a monoaminerg transzmisszió fokozása, mivel a REM alatt inaktív monoaminerg sejtcsoportok a REM alvás gátlása miatt fokozott működést produkálnak (Porkka-Heiskanen és mtsai, 1995). Valószínűsíthető a szerotonerg rendszer alapvető szerepe és a preszinaptikus 5-HT_{1A} receptorok down-regulációja. Ezt bizonyítják azok a tanulmányok, melyek szerint a szerotonerg antidepresszánsok vagy az 5-HT_{1A} receptor antagonisták fokozták az alvásmegvonás terápiás hatását és a kezelésre való fogékonyságot, valamint csökkentették a visszaalvás utáni relapszus előfordulását. Továbbá a REM-megvonás az adrenerg béta receptorok down-regulációját eredményezte a hippocampus és az agytörzs területén, valamint a dopamin-2 és dopamin-3 receptorok funkciójának csökkenését okozta a ventrális striátum régiójában (Wirz-Justice és Van den Hoofdakker, 1999). Az antidepresszív hatást tovább erősíti, hogy a farmakológiai vagy a fizikai REM-megvonás egyaránt fokozta a vérplazma béta-endorfin szintjét (Bódizs, 2000b).

Az alvás- és REM-megvonás hangulatra gyakorolt pozitív hatása elsősorban a bipoláris és a poszt-pszichotikus depresszióban szenvedő betegekben jelentkezett, valamint javulás mutatkozott premenstruációs depresszióban és a skizofrénia negatív tüneteiben is (Wirz-Justice és Van den Hoofdakker, 1999). Pozitív terápiás hatása ellenére az alvásmegvonás nem egy adekvát módszer a klinikumban, hiszen nehéz kivitelezhetősége mellett hatása nem kiszámítható és csak átmeneti. Annak ellenére, hogy a depressziós betegek hangulatában javulás tapasztalható rövid távú alvásmegvonás hatására, az egészséges populációban az alvás hiánya, különösen krónikusan, szorongást okozhat (Wyatt és mtsai, 1971, Peeke és mtsai, 1980, Dinges és mtsai, 1997). Az alvásmegvonás jelentősen megzavarja a szervezet homeosztázisát, metabolikus és kognitív zavarokat okoz, elsősorban a tanulás, a memória és az érzelmek agyterületeinek (hippocampus, amygdala, prefrontális kéreg) működésében (Alkadhi és mtsai, 2013). Fokozza a stressz-tengely aktivitását, megemeli a katabolikus [ACTH (adrenokortikotróp hormon), kortizol, TSH (thyreoidea stimuláló hormon) pajzsmirigyhormonok, katekolaminok], és csökkenti az anabolikus hatású hormonok (növekedési hormon és tesztoszteron) szintjét (Maggio és mtsai, 2013). Egyes szerzők szerint közrejátszik a patológiás szorongás kialakulásában (Alkadhi és mtsai, 2013).

2.2.3 Az alvászavarok patofiziológiája depresszióban: elméleti modellek

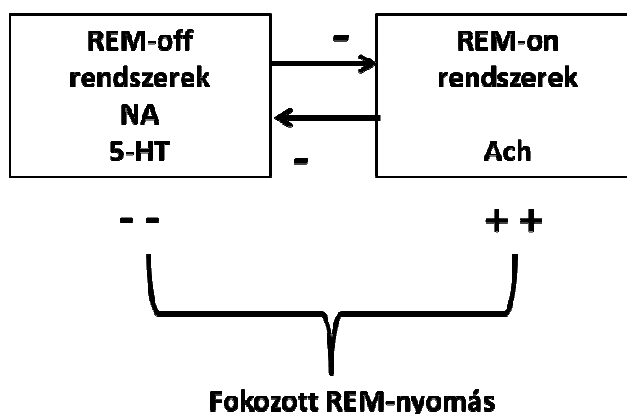
Lényeges pontok:

A depressziósokra jellemző alvászavarok lehetséges okai:

- a fokozott kolinerg érzékenység, a kolinerg-aminerg rendszerek egyensúlyának felborulása,
- az alvásfüggő homeosztatikus folyamat csökkenése,
- a HPA-tengely fokozott aktivitása, az emelkedett kortizol szint.

A reciprok interakciós modell

A reciprok interakciós modell alapja a REM alvást kikapcsoló, aminerg REM-off és a REM alvást beindító, kolinerg REM-on neuronok kölcsönös interakciója az alvásszabályozásban (2. ábra). Egyes feltételezések szerint a depressziót a fokozott kolinerg érzékenység és a kolinerg-aminerg rendszerek egyensúlyának felborulása okozza (Hobson és mtsai, 1975). Akár a fokozott kolinerg behatás, akár a csökkent aminerg tónus magyarázatot adhat arra, miért fokozott a REM mennyisége depresszióban. Továbbá ez a modell magyarázatul szolgálhat az alvásmegvonás után tapasztalt hangulati javulásra, mivel az ébrenlét elnyújtásával megelőzhető a kolinerg transzmisszió éjjeli dominanciája és fokozódik a noradrenerg aktivitás a reggeli órákban (Riemann és mtsai, 2001, Wilson és Argyropoulos, 2005).



2. ábra A REM alvás szabályozásának sematikus ábrája.

Depressziósokban a csökkent szerotonerg és noradrenerg, valamint a fokozott kolinerg tónus magyarázatot adhat az emelkedett REM nyomásra. Rövidítések: 5-HT: szerotonin; Ach: acetil-

kolin; NA: noradrenalin; REM: rapid eye movement sleep, gyors szemmozgásos alvás; (Adrien, 2002)

Kronobiológiai modell

A kronobiológiai feltételezéseken alapuló „két-folyamat” modell (Borbely, 1982, Borbely és Wirz-Justice, 1982) szerint az alvást a homeosztatisz („S-folyamat”; alvásfüggő, a nap során fokozódik, alvás során csökken) és a cirkadián („C-folyamat”; alvás független) szabályozás határozza meg. Az elmélet szerint depresszióban az S-folyamat lecsökken, ami a delta aktivitás és az lassú hullámú alvás csökkenésében nyilvánul meg, utóbbi pedig a REM alvás normálisnál korábbi bekövetkezését eredményezi. Ez a modell magyarázatul szolgál az alvásmegvonás pozitív terápiás hatására is, vagyis alvásmegvonás hatására fokozódik az ébrenlét, aminek következtében az „S-folyamat” megemelkedik, normalizálva az alvást és ez által a hangulatot. Azonban a modell alapvető feltételezéseit kérdőjelezi meg, hogy nem minden kutatócsoport talált csökkent SWS-t és delta aktivitást depressziósokban (Knowles és MacLean, 1990). Kupfer és munkatársai (1990) szerint az egész éjszakán át mért SWS és delta aktivitás helyett a delta-alvás arány, vagyis az első és a második NREM periódus során mért delta aktivitás aránya csökkent depresszióban. Habár ez az elképzelés sem nyert később egyértelmű megerősítést, mivel a farmakoterápiás és pszichoterápiás kezelés kimenetele eredményesebb volt a magasabb delta-alvás aránnyal rendelkező páciensekben (Riemann és mtsai, 2001).

A neuroendokrin rendszer és az alvás kölcsönhatása depresszióban

A stressz-tengely (HPA, hypothalamic–pituitary–adrenal axis, hypothalamus–hipofízis–mellékvesekéreg tengely) fokozott aktivitása, az emelkedett kortizol szint az egyik legáltalánosabb megfigyelés depressziósokban. Továbbá egyes szerzők csökkent növekedési hormon szintet is találtak a betegekben (Steiger és mtsai, 1989, Jarrett és mtsai, 1990). Egészséges emberekben az alvás első óráját SWS és növekedési hormon csúcsok jellemzik a kortizol szintézis mélypontjával egyidejűleg. Ehlers és Kupfer (1987) számolt be először két hypothalamikus peptid [növekedési hormon termelő faktor, kortizol termelő faktor] kölcsönhatásának zavaráról a depressziósok alvásának patomechanizmusában. Az alvás-endokrin rendszer feltételezett zavarát depresszióban azonban nem sikerült egyértelműen bebizonyítani (Holsboer és mtsai, 1988), valamint a

növekedési hormon többszöri adagolása nem hozott javulást a betegek alvásában (Steiger és mtsai, 1994).

2.2.4 Az alvásmegvonás rágcsálókban, a „flower pot” metodika

Lényeges pontok:

- A „flower pot” módszer
 - a REM alatti izomatónia jelenségét használja ki,
 - a REM-megvonás utáni visszaalvásra fokozott REM-nyomás jellemző,
 - erős stressz hatásoknak teszi ki az állatot,
- a depresszió rágcsálómodelljeiben gyakran megfigyelhetők a depressziósokra jellemző REM alvás-változások,
- a stressz expozíciót gyakran alkalmazzák a depresszió modellezésére,
- az alvásmegvonás, mint depresszió modell, jó látszat és konstrukciós validitással rendelkezik.

Az alvásmegvonás tanulmányozása emberekben igen nehéz feladat, így a rágcsálókban alkalmazható metodikák különösen fontosak az alvás mechanizmusainak mélyebb szintű megértéséhez. A jelen értekezés alapját képező egyik kísérletben REM-megvonás céljából a „flower pot” (magyarul „virágcserep”) módszert alkalmaztuk. Ezt a módszert eredetileg macskák REM alvásának megvonására dolgozták ki (Jouvet és mtsai, 1964), majd később patkányokra is átvittették (Cohen és Dement, 1965). Lényege, hogy az állatot egy megfelelő méretű, kerek platformra helyezzük, amit víz vesz körül. A metodika a REM alatti izomatónia jelenségét használja ki, vagyis REM fázisba kerülés esetén az állat vízbe esik, vagy végtagjai a vízbe érnek, ami ébredést okoz. Ez a jelenség a NREM alvás stádiumaiban nem következik be, hiszen ekkor az izomtónus megtartott; habár egyesek úgy találták, hogy a metodika a lassú hullámú alvást is befolyásolja (Grahnstedt és Ursin, 1985). Tehát a REM alvás teljes megvonása ellenére (Machado és mtsai, 2004), a módszer nem tekinthető teljes mértékben szelektívnek. A „flower pot” technika utáni visszaalvás architektúráját már számos kutatócsoport vizsgálta. Általánosságban elmondható, hogy REM-megvonás után erős REM-visszacsapás jelentkezik, ami a REM alvásban töltött idő növekedésében és rövidebb

REM látenciában manifesztálódik (Grahnstedt és Ursin, 1985, Machado és mtsai, 2005, Kitka és mtsai, 2009)

A REM-megvonás mellett a „flower pot” metodika során egyéb erős stressz hatások is érik az állatokat. Ilyenek az izoláció, az immobilizáció, a vízbe esés, elázás stb. (Coenen és van Luijtelea, 1985, Suchecki és mtsai, 2002a), tehát a módszer során az állatok kontrollálhatatlan, elkerülhetetlen, szub-krónikus stressz expozíciónak vannak kitéve. Ezt támasztja alá, hogy a „flower pot” módszer 96 órás alkalmazását követően a HPA-tengely enyhe stressz hatásokra való fokozott érzékenységet és emelkedett kortikoszteron szintézist mutattak ki, ami a visszaalvási periódus során helyreállt (Suchecki és mtsai, 2002b). Egyes viselkedés tesztek eredményei alapján alvásmegvonás után szorongás-szerű tünetek, anhedónia, agresszív viselkedés és hiperaktivitás jelentkezik, valamint tanulás és memória zavarok lépnek fel (Silva és mtsai, 2004b, McEwen, 2006, Andersen és mtsai, 2009). Kimutatták továbbá, hogy a 72 órás „flower pot” REM-megvonás után fokozódott az oxidatív stressz a hippocampusban (Silva és mtsai, 2004a). Ezen a metodikán kívül egyéb módszereket is alkalmaznak rágcslók REM illetve teljes alvásának megvonása céljából. A „treadmill forced activity” modell (alvás esetén elinduló futókerék kelti fel az állatot) 96 órás alkalmazása után 50%-kal csökkent a sejtprolifерáció a hippocampusban (Guzman-Marín és mtsai, 2003). A „gentle handling” módszer (taktilis, vizuális vagy olfaktórius stimulusok, mint újdonságok bemutatásával gátolt elalvás) alkalmazása esetén pedig a gyulladást-indukáló interleukin-1 β -mRNS szintjének emelkedését demonstrálták (You és mtsai, 2011). Ezen kívül a fehérállomány glikogén raktárainak 40%-os csökkenését is leírták, mely a megvonást követő visszaalvás során helyreállt (Kong és mtsai, 2002).

A depresszió kutatásban számos rágcsló modellt alkalmaznak. Ilyenek például a szelektív állattenyésztetek, a genetikailag módosított törzsek (Henn és Vollmayr, 2005), valamint azok az eljárások, melyek során az állatok akut, szub-krónikus vagy krónikus stressz hatásoknak vannak kitéve (Abelaira és mtsai, 2013). Ezek a modellek tipikus viselkedési fenotípussal és erős stressz szenzitivitásra utaló biomarkerekkel rendelkeznek, mint például az emelkedett plazma kortikoszteron szint. Számos modell esetében a depressziósokra jellemző alvászavarokat is megfigyeltek, amelyek elsősorban a REM alvásban jelentkeztek (Adrien és mtsai, 1991, Gronli és mtsai, 2004).

Ilyen például a Wistar-Kyoto patkánytörzs (Dugovic és mtsai, 2000), akikben fokozott REM alvás és alvásfragmentáció jelentkezik. Valamint az emelkedett muszkrarin receptor denzitással rendelkező „Flinder Sensitive Line” patkányok, melyekre a REM alvás idejének növekedése, csökkent REM látencia és a REM-REM ciklusok gyorsulása jellemző (Shiromani és mtsai, 1988). Továbbá a genetikailag módosított „tehetetlen” („helpless”) és a fokozott HPA-tengely aktivitással rendelkező egerek, akikben REM-nyomás és fragmentált alvás mutatkozik (El Yacoubi és mtsai, 2003, Touma és mtsai, 2009). A „születés előtti stressz” („prenatal stress”) modellben például az egész napon át emelkedett REM alvás és a passzív fázisban jellemző alvásfragmentáció pozitívan korrelált a plazma kortikoszteron szint fokozódásával (Dugovic és mtsai, 1999). Ezen kívül a REM látencia csökkenése jellemző a „tanult tehetetlenség” („learned helplessness”) (Adrien és mtsai, 1991) és az „újszülöttkori klomipramin” („neonatal clomipramin”) (Vogel és mtsai, 1990) modellekben. A fentiekhez hasonló alvásváltozásokat egyéb akut és krónikus stresszorok alkalmazása esetén is megfigyelték (Bouyer és mtsai, 1998, Marinesco és mtsai, 1999, Tiba és mtsai, 2004).

Habár manapság a REM alvás-megvonás még nem egy széles körben elfogadott modell a depresszió tanulmányozására, számos olyan rendszert befolyásol, mely kapcsolatba hozható a stresszel. Továbbá a megvonást követő visszaalvás során jelentkező EEG változások hasonlóak a depressziósokban és a depresszió egyes állatmodelljeiben megfigyelt eltérésekhez. Az alvás-megvonásnak, mint depresszió modellnek ugyan vannak korlátai, de az irodalmi adatok alapján jó látszat és konstrukciós validitással rendelkezik (Abelaira és mtsai, 2013).

2.3 Szerotonin és depresszió

2.3.1 Szerotonin és szerotonin receptorok

Lényeges pontok:

- A szerotonin részt vesz az alvás- és hangulatszabályozásban,
- a szinaptikus résbe került szerotonint a szerotonin transzporter szállítja vissza a neuronba,
- a preszinaptikus 5-HT_{1A} és 5-HT_{1B} autoreceptorok aktivációja csökkenti a neuronális aktivitást és a szerotonin felszabadulást,
- az 5-HT_{2C} receptorok funkciójának csökkenése szorongáscsökkentő hatású,

- az 5-HT_{2C} receptor antagonisták fokozzák a mezolimbikus dopamin és a mezokortikális noradrenalin felszabadulást.

A szerotonin egy filogenetikailag ősi hírvivő molekula az L-triptofán aminosavból képződik a triptofán-hidroxiláz enzim hatására a szerotonerg neuronokban. Részt vesz a hangulat, az alvás, a hőmérséklet, az étvágy, a szexuális viselkedés, az evészavarok, a mozgás, a gasztrointesztinális motilitás és egyéb funkciók szabályozásában (Olivier, 2014). A szerotonerg neuronok a különböző középagyi és agytörzsi struktúrákból erednek és projekcióik az egész központi idegrendszert átszövik. Az alvás- és hangulatszabályozásban részt vevő felszálló hálózat a középagyi raphe magok területéről ered. Neuronjainak működését különböző neurotranszmitterek szabályozzák (Saper és mtsai, 2010); a noradrenalin tónusos aktiváló, míg a szerotonin autoreceptorain keresztül gátló hatást fejt ki rajtuk. A szinaptikus részbe került szerotonin két mechanizmussal távozhat: (1) a nagy affinitású szerotonin transzporter (SERT) által, mely a szerotonerg idegsejt membránjában helyezkedik el és visszashallítja a szerotonint a szerotonerg neuronba; (2) a monoamin-oxidáz-A (MAO-A) enzim által degradálódhat 5-hidroxi-indolecetsavvá a gliákban (Olivier, 2014);

Jelenleg 14 féle szerotonin receptor altípust azonosítottak, melyeket hét receptor családba soroltak (5HT₁₋₇). A jelenleg ismert szerotonin receptorok közül az 5-HT_{5B} kivételével mind előfordul a központi idegrendszerben. Az összes szerotonin receptor G-fehérje kapcsolt receptor, kivéve az 5-HT₃ receptort, mely ligand-függő ioncsatorna. A G-fehérje kapcsolt szerotonin receptorok G_{αi}, G_{αq/11} és G_{αs} másodlagos jelátviteli utakon keresztül számos biokémiai jelátviteli utat befolyásolnak. Minden szerotonin receptor megtalálható, mint posztzinaptikus heteroreceptor például glutamáterg és GABA-erg idegsejteken (Adell és mtsai, 2002, McCorvy és Roth, 2015). Az 5-HT_{1A} és 5-HT_{1B} receptorok auto- és heteroreceptorként is funkcionálnak. Dolgozatom témája kapcsán a szerotonin receptorok közül az 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} és 5-HT_{2C} receptor altípusokat fogom részletesen ismertetni, melyek különösen fontosak a hangulat és alvásszabályozás kapcsán, valamint kiemelkedő jelentőségük van az SSRI antidepresszánsok hatásmechanizmusában.

Az 5-HT_{1A} és 5-HT_{1B} receptorokat a G_{αi}-kapcsolt jelátvitel jellemzi, vagyis az adenilát-cikláz képződésének gátlásával az intracelluláris ciklikus adenosin monofoszfát

szint csökkenését okozzák; tehát inhibitoros receptorok (Lin és mtsai, 2002). Az 5-HT_{1A} receptorok a központi idegrendszerben magas denzitást mutatnak a kéreg, a hippocampus, az amygdala és a raphe magok területén, de a bazális ganglionok és a thalamus régióiban is jelen vannak. Az 5-HT_{1A} receptor egyrészt, mint szomatodenritikus autoreceptor funkcionál a raphe magok területén. Továbbá posztzinaptikus heteroreceptorként működik a prefrontális és egyéb kérgi területeken, ahol a dopamin felszabadulást befolyásolja. Funkciójukat illetően a neuronok tüzelését gátolják, valamint szabályozzák az ACTH termelést és az étkezési viselkedést. Továbbá valószínűleg fontos szerepet játszanak a szorongásszabályozásban, mivel az 5-HT_{1A} génkiütött állatok fokozott félelmet mutattak a viselkedésvizsgálatok során, az 5-HT_{1A} antagonisták (buspiron, gepiron) pedig hatékonyak szorongás és depresszió kezelésére. (Klemenhagen és mtsai, 2006, Pytliak és mtsai, 2011, Altieri és mtsai, 2013).

Az 5-HT_{1B} receptorok a központi idegrendszerben a bazális ganglionok, a striatum és a frontális kéreg területén fordulnak elő legnagyobb mennyiségben. A receptor preszinaptikus gátlást indukál az axonterminálisok közelében; funkciója nagyban függ az elhelyezkedésétől. A bazális ganglionok és a striatum területén autoreceptorként a szerotonin felszabadulást gátolja, heteroreceptorként pedig más neurotranszmitterek (pl. acetilkolin, glutamát, dopamin, GABA) szekrécióját szabályozza. A kéreg területén például gátolja a dopamin felszabadulást. Az 5-HT_{1B} receptorok megtalálhatók az agyi artériákon is, tehát vaszkuláris hatásuk is van (Jin és mtsai, 1992). Az 5-HT_{1B} génkiütött egerek fokozott agresszivitást és magasabb alkohol preferenciát mutatnak (Groenink és mtsai, 2003).

Az 5-HT₂ receptorok altípus szelektív, nagy affinitású ligandjainak hiánya miatt a receptor behatóbb tanulmányozására csak az utóbbi években nyílt lehetőség. Az 5-HT_{2C} receptorok a központi idegrendszer számos területén előfordulnak, legnagyobb számban a chorioid plexus, az agykéreg, a limbikus rendszer és a bazális ganglionok területén (Mengod és mtsai, 1996). Fontos szerepük van a szorongás, alvás, tanulás, lokomotoros aktivitás, hormonszekréció és az étvágy mechanizmusainak szabályozásában (Bagdy, 1998, Jensen és mtsai, 2010). Ezek a receptorok G_{q/11}-kapcsolt jelátvitel útján fejtik ki hatásukat, vagyis a foszfolipáz-C enzim aktiválásával fokozzák az inozitol-trifoszfát és a diacilglicerol képződést, ami az intracelluláris kalcium szint megemelkedéséhez vezet, tehát excitátoros receptorok (McCorvy és Roth, 2015). A receptor posztzinaptikus

elhelyezkedésű, de preszinaptikus előfordulása sem zárható ki. Heteroreceptorként leggyakrabban GABA-erg neuronokon található és többnyire más neurotranszmitterek felszabadulását szabályozzák (Barnes és Sharp, 1999, Serrats és mtsai, 2005). Az 5-HT_{2C} receptor génkiütött egerek spontán konvulzióktól szenvednek, valamint fokozott táplálékfelvétel és kognitív zavarok jellemzik őket (Tecott és mtsai, 1995, Applegate és Tecott, 1998). A receptor szorongásszabályozásban betöltött szerepét támasztja alá, hogy egyes magas szelektivitást mutató 5-HT_{2C} receptor antagonisták (pl. SB-242084, SB-243213) szorongáscsökkentő hatást okoztak rágcsálókban, és kivédtek a 5-HT₂ receptor agonista *meta*-chlorphenylpiperazin (*m*-CPP) által kiváltott receptor aktiváció szorongásfokozó hatását (Kennett és mtsai, 1997, Bromidge és mtsai, 2000, Bagdy és mtsai, 2001, Wood és mtsai, 2001, Martin és mtsai, 2002). Az 5-HT_{2C} receptorok minden bizonnyal tónusos gátló hatást fejtenek ki a mezolimbikus dopaminerg és a mezokortikális noradrenerg sejtekre, ugyanis antagonistái fokozzák a noradrenalin felszabadulást a frontális kéregben és a dopamin felszabadulást a nucleus accumbensben (Millan és mtsai, 1998, Di Matteo és mtsai, 1999).

2.3.2 Az SSRI antidepresszánsok

Lényeges pontok:

- Az SSRI-k akutan csökkentik a szerotonerg aktivitást és szorongást okoznak,
- terápiás hatásuk megjelenéséhez és az akut mellékhatások megszűnéséhez krónikus szedésre van szükség,
- az 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} és 5-HT_{2C} receptorok funkcióinak csökkenése fontos klinikai hatékonyságuk szempontjából,
- az escitalopram a legszelektívebb és leghatékonyabb SSRI,
- nem minden beteg reagál megfelelően a terápiára,
- az 5-HT_{2C} receptor antagonisták ígéretes ligandoknak bizonyulnak az antidepresszáns hatás fokozása és a szorongáscsökkentés szempontjából.

Az SSRI antidepresszánsok (escitalopram, citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin, sertralin) a legszélesebb körben használt antidepresszánsok napjainkban. Antidepresszáns tulajdonságukon kívül hatékonyak lehetnek a pánikbetegség, az obszesszív-kompulzív zavar és a bulímia kezelésében is (Stahl, 1998).

A depresszió monoamin hipotézise szerint depressziósokban a monoaminok, mint például a szerotonin extracelluláris koncentrációja nem elégséges. A neurotranszmitter receptor hipotézis pedig azt feltételezi, hogy a monoaminerg receptorok up-regulációja (a receptorok számának és/vagy érzékenységének fokozódása) vezet a depressziós állapot kialakulásához. (Haase és Brown, 2015). Az SSRI antidepresszánsok a SERT fehérjéhez kötődve a szinaptikus részbe került 5-HT visszavételének gátlásával fokozzák annak extracelluláris szintjét. A SERT egy molekulák komplex, mely magában foglal egy Na^+/K^+ ATP-áz enzimet és különböző kötőhelyeket a szerotonin, a Na^+ és az SSRI számára (Stahl, 1998). Az SSRI bekötődése csökkenti a transzporter affinitását szerotonin iránt (negatív allosterikus moduláció), így az felhalmozódik az extracelluláris térben, főként a szerotonerg neuronok sejttestjeinek közelében, a szomatodendritikus régióban akkumulálódik, ahol az 5-HT_{1A} autoreceptorokhoz kötődve gátolja a sejtaktivitást (Blier és de Montigny, 1987). Tehát SSRI adagolás után csökken a szerotonerg aktivitás és a szerotonin felszabadulás. Ez az akut mechanizmus a terápiás hatásért nem lehet felelős, viszont a terápia kezdetén megjelenő mellékhatások, mint a szorongás kialakulásáért minden bizonnyal igen. Az SSRI-k farmakológiai hatékonysága a krónikus adagolás (2-3 hét) következtében végbemenő adaptív neurobiológiai változásoknak lehet az eredménye. Az adaptációs mechanizmusokat elsősorban rágcsálókban tanulmányozták, így az eredmények extrapolálása depressziós betegekre igencsak nehéz feladat, tehát ezek alapvetően csak hipotézisek (Wells és mtsai, 1989). Az egyik ilyen késleltetett adaptáció lehet a szerotonin receptorok down-regulációja, melynek során a receptorok mennyisége és/vagy az agonista iránti válaszadási készsége csökken (deszenzitizáció) (Charney és mtsai, 1981). A terápiás hatás kialakulásáért elsősorban a szomatodendritikus 5-HT_{1A} és a terminális 5-HT_{1B} autoreceptorok funkciójának csökkenését tartják felelősnek. Ezen receptorok deszenzitizációjával ugyanis a szerotonerg neuronok aktivitása diszinhibíció, vagyis a gátlás gátlása révén fokozódik (El Mansari és mtsai, 2005). Így az SSRI folyamatos jelenlétével a szerotonerg aktivitás és a szerotonin felszabadulás tartósan magas marad (Bel és Artigas, 1993, Stahl, 1998), bár ezzel az állítással nem minden kutatócsoport ért egyet (Hjorth és Auerbach, 1994). A tartósan magas szerotonin szint az 5-HT_{1A} és 5-HT_{1B} receptorokon kívül a többi szerotonin receptor deszenzitizációját is okozhatja, melyeknek ugyancsak szerepük lehet a terápiás hatás kialakulásában, illetve a

mellékhatások (szorongás, agitáció, fejfájás, szexuális diszfunkció és a hányinger) iránti tolerancia kifejlődésében (Stahl, 1998).

Az SSRI-k kedvező terápiás hatása mellett sajnos sok beteg nem reagál megfelelően a kezelésre. Az SSRI kezelés akut szakaszában jelentkező szorongásfokozó mellékhatás is veszélyes lehet, különösen öngyilkossági hajlamokkal rendelkező páciensek esetén. Ezért olyan augmentációs stratégiákra és kiegészítő terápiákra van szükség, melyekkel ezeket a hatásokat ki lehet küszöbölni. A számos szerotonin receptor közül az 5-HT_{2C} típusú receptorok deszenzitizációjának kiemelt jelentősége lehet a terápiás hatás kialakulásában és a terápia elején fellépő szorongás megszűnésében is (Prisco és Esposito, 1995, Dekeyne és mtsai, 2000, Bagdy és mtsai, 2001). Krónikus SSRI kezelést követően az 5-HT_{2C} receptor válasz csökkenése fokozta a mezolimbikus dopaminerg rendszer aktivitását, melynek döntő szerepet tulajdonítanak az antidepresszáns hatás kialakulásában (Prisco és Esposito, 1995). Továbbá egyes antidepresszánsok (pl. fluoxetin, ritanserin, agomelatin, trazodon, nefazodon, amitriptilin, mirtazapin, mianserin) és a legtöbb atípusos antipszichotikum rendelkezik 5-HT_{2C} receptor antagonistá tulajdonsággal, melynek lényeges szerepet tulajdonítanak a terápiás hatás szempontjából, elsősorban annak dopamin és noradrenalin felszabadító tulajdonsága miatt (Millan, 2005). Az SSRI-k akut szorongáskeltő hatását a magatartástesztek, valamint a biokémiai és neuroendokrin vizsgálatok (*c-fos* válasz az amygdalában és a paraventriculáris magban, valamint fokozott ACTH és kortikoszteron szekréció) egyaránt alátámasztják. (Gibbs és Vale, 1983, To és mtsai, 1999, To és Bagdy, 1999, Bristow és mtsai, 2000, Dekeyne és mtsai, 2000) Míg az SSRI antidepresszánsok szorongásoldó hatásának kialakulásához hetekre van szükség, addig az 5-HT_{2C} receptor gátlása akut szorongáscsökkentő hatást eredményez (Bagdy, 1998). Valamint a krónikus SSRI adagolás gátolta az 5-HT_{2C} receptort aktiváló *m*-CPP, és egyéb anyagok szorongáskeltő hatását (To és mtsai, 1999, To és Bagdy, 1999). Ezen szakirodalmi adatok birtokában felmerül a kérdés, hogyan alakul a többi 5-HT_{2C} receptor funkció a krónikus SSRI kezelés hatására.

Escitalopram

Az escitalopram 2002-ben került bevezetésre, napjainkban a leggyakrabban felírt, leghatékonyabb és egyben a legszelektívebb SSRI antidepresszáns; átlagos napi dózisa 10-20 mg. Farmakokinetikai paraméterei emberben a következők: felezési ideje 27-33

óra; inhibítoros koncentrációja 0,8-1,1 nmol/l, több mint 1000-szer szelektívebb a SERT-hez, mint az egyéb targetekhez; maximális dózist orális adagolás után 5 órával, állandósult (steady-state) koncentrációját pedig 1-2 hét után éri el; proteinekhez való kötődése 56% (Sanchez és mtsai, 2004, Sogaard és mtsai, 2005). Elődje, a racém citalopram tiszta S-enantiomerje. Az escitalopram az SSRI-k közül egyedülálló módon a SERT elsődleges kötőhelyén kívül az allosztérikus kötőhelyre is bekötődik, ezért allosztérikus szerotonin visszavétel gátlónak is nevezik (ASRI). A citaloprammal szembeni előnyös tulajdonságáért az R-enantiomer eltávolítása tehető felelőssé: (1) nem rendelkezik hisztamin receptor gátló tulajdonsággal; (2) nem okoz QT nyúlást a szívben (legalábbis alacsony dózisban); (3) kevesebb dózis elég a kívánt hatás eléréséhez [az escitalopram és citalopram effektív dózisa 58 és 254 µg/kg, intravénás adagolás esetén (Sanchez, 2006)]. Az escitalopram a metabolizáló citokróm-oxidáz-P enzimeket alig befolyásolja, a legkevesebb interakcióval rendelkező SSRI. A betegek által az egyik legjobban tolerált antidepresszáns (Sanchez és mtsai, 2004).

2.4 Szerotonin és alvás

2.4.1 Az SSRI antidepresszánsok alváshatásai

Lényeges pontok:

- A szerotonerg aktivitás ébrenlét alatt a legmagasabb, NREM alatt csökken, és szinte teljesen szünetel REM alatt,
- az SSRI-k akut adagolás után
 - csökkentik a REM mennyiségét,
 - fokozzák a REM látenciát,
 - fokozzák az ébrenlétet.
- az SSRI-k akut alváshatásai krónikus adagolás után általában megszűnnek,
- az SSRI-k pozitívan hatnak a depressziósok alvászavarainak szubjektív tüneteire.

Az alvásszabályozás neurokémiai és neuroanatómiai összefüggései a 2.1.3 és a 2.1.4 fejezetekben kerültek részletes ismertetésre, ezért itt csak röviden összefoglalom a szerotonin alvásszabályozásban betöltött szerepét.

A raphe magok szerotonerg sejtjeinek tüzelése és a szerotonin kiáramlása ébrenlét alatt a legmagasabb, lassú hullámú alvás során csökken, REM alvásban pedig szinte teljesen szünetel. A szerotonerg idegsejteknek ezt a vigilanciafázis-függő aktivitását elsősorban a DRN esetében vizsgálták, de általánosságban a többi raphe mag esetében is jellemző (Ursin, 2002). Az ébrenlét során felszabaduló szerotonin posztszinaptikus receptorain keresztül gátolja az alvást elősegítő, illetve végrehajtó neuronokat (Tissier és mtsai, 1993). Ezzel ellentétben alvás során a szerotonerg neuronok kerülnek gátlás alá, elsősorban GABA-erg mechanizmusok által (Gervasoni és mtsai, 2000); továbbá a szerotonin a szomatodentritikus 5-HT_{1A} receptorokon keresztül gátolja a DRN neuronok aktivitását (Ursin, 2002).

Az SSRI antidepresszánsok a triciklikus (TCA) és a MAO-inhibitor antidepresszánsokhoz hasonlóan csökkentik a REM látenciát és a REM alvás mennyiségét (Wilson és Argyropoulos, 2005). Az antidepresszánsok REM csökkentő hatását az emelkedett szerotonin tónus váltja ki valószínűleg a posztszinaptikus 5-HT_{1A} receptorok közvetítésével (Monaca és mtsai, 2003), amit alátámaszt, hogy az 5-HT_{1A} receptor szelektív agonistái emberben erős REM-szupressziót okoznak (Gillin és mtsai, 1994). Az antidepresszánsok REM csökkentő hatása a terápia kezdeti szakaszában, pár napos szedés után a legkifejezettebb, ami krónikus adagolás (SSRI-k esetében kb. 8 hét) során általában teljesen elmúlik (Wilson és mtsai, 2004). A gyógyszerelés megszakítása esetén REM-visszacsapás következik be, ami néhány napig, vagy hétig áll fent (van Bammel és mtsai, 1993, Feige és mtsai, 2002). Ez a visszacsapás feltehetően a megemelkedett kolinerg tónusnak köszönhető. Az SSRI kezelés ébrenlétfokozó, alvásfragmentáló és az alvás látencia idejét elnyújtó hatását már sok esetben bebizonyították (Sharpley és mtsai, 1996, Rush és mtsai, 1998, Feige és mtsai, 2002). E tekintetben a SERT-hez való magas szelektivitása miatt (Owens és mtsai, 2001) az SSRI-k közül az escitalopram bizonyult a legelőnyösebbnek (Lader és mtsai, 2005). Az SSRI-k ébrenlétfokozó hatását elsősorban az 5-HT_{1A} receptorok aktivációjának tulajdonítják, mivel az 5-HT_{1A} receptor agonisták emelik az ébrenlétet (Monti és Jantos, 1992). Azonban ebben a hatásban közrejátszhat a szerotonin 5-HT₂ receptorokon kifejtett aktivációja is, mivel számos ligand esetében számoltak be az ébrenlét fokozódásáról (Kitka és Bagdy, 2008). Az alvás folytonosságát zavaró hatások a REM szupresszióhoz hasonlóan krónikus adagolás után eltűnnek. Kivétel ez alól az 5-HT_{2C}

receptor antagonist tulajdonsággal is rendelkező fluoxetin, melynek aktiváló hatása még több hét elteltével is tapasztalható (Rush és mtsai, 1998). Az SSRI-k egyéb alváshatásai közé tartozik a szendergés (NREM-1/Light Sleep) fázisának fokozása (Oberndorfer és mtsai, 2000).

A kvantitatív EEG spektrum (Q-EEG) analízis tekintetében a klinikai vizsgálatok metaanalízise alapján az SSRI antidepresszánsok akután fokozzák a θ -t, míg csökkentik az alfa hullámok aktivitását ébrenlét során (Dumont és mtsai, 2005). Patkányokban azonban az akut escitalopram kezelés csökkentette a θ -frekvenciák teljesítménysűrűségét, elsősorban ébrenlét során, mely hatás a krónikus adagolást követően megszűnt (Vas és mtsai, 2013). Továbbá az akut citalopram kezelés csökkenést okozott a 0,5-15 Hz frekvencia sávban, amely 5 hetes adagolást követően már nem jelentkezett (Neckelmann és mtsai, 1996).

Az SSRI antidepresszánsok hatása az alvászavarok szubjektív és objektív tüneteire gyakran ellentmondásos. Amíg az objektív tünetekre negatívan hatnak, legalábbis a terápia kezdeti szakaszában, addig a szubjektív tünetekben javulás tapasztalható (Oberndorfer és mtsai, 2000). Továbbá az EEG felvételek alapján, a terápia során tolerancia fejlődik ki az SSRI-k alvászavaró hatásához. A szubjektív tünetek mérésére szolgáló Hamilton depresszió skála (HAM-D, Hamilton Rating Scale for Depression) alvás elemeiben az SSRI paroxetin és a TCA amitriptylin egyforma javulást okozott. Ugyanezen a skálán a citalopram hasonló javulást okozott a TCA imipraminhoz képest, egy korábbi metaanalízis alapján pedig számos TCA-val szemben mutatott pozitívabb hatást. Továbbá a szintén SSRI sertralin és fluoxetin szignifikáns javulást okozott mind a HAM-D, mind pedig a Leeds alvásértékelő mérőskálán (LSEQ, Leeds Sleep Evaluation Questionnaire) (Wilson és Argyropoulos, 2005).

2.4.2 Az 5-HT_{2C} receptor antagonisták alváshatásai

Lényeges pontok:

Az 5-HT_{2C} antagonisták

- fokozzák a θ -hullámok aktivitását,
- csökkentik a REM alvást,
- fokozzák az ébrenlétet.

Az 5-HT_{2C} receptort számos olyan agyi régióban azonosították, melyek részt vesznek a vigilancia-szabályozásban, ilyenek az agykéreg, a hippocampus, a hypothalamus, a formatio reticularis, a LC, a PPT/LTD és a DRN. Ezeken az agyterületeken a receptor GABA-erg neuronokon fordul elő (Pompeiano és mtsai, 1994, Abramowski és mtsai, 1995, Clemett és mtsai, 2000, Serrats és mtsai, 2005). Az 5-HT_{2C} receptor antagonisták alváshatásait illetően jelenleg elsősorban rágcsáló tanulmányokra támaszkodhatunk. A humán adatok vonatkozásában ugyanis nem lehet szelektív hatásokról beszélni, mivel az 5-HT_{2C} receptor antagonista tulajdonsággal rendelkező antidepresszánsoknak és antipszichotikumoknak egyéb támadáspontjai is vannak. Az 5-HT_{2C} receptor antagonisták Q-EEG- és alváshatásait a 3. táblázat foglalja össze.

Az alvás Q-EEG spektrum analízise alapján egyes szelektív 5-HT_{2C} receptor antagonisták fokozzák a théta hullámok teljesítményét, főleg ébrenlét során (Hajos és mtsai, 2003, Kantor és mtsai, 2005), és megelőzik az 5-HT_{2C} receptort aktiváló agonisták théta csökkentő hatását rágcsálókban (Sorman és mtsai, 2011).

A REM alvás és ébrenlét alatt domináló hippocampális théta ritmust a mediális szeptum GABA-erg és kolinerg neuronjai generálják (Vanderwolf, 1969, Vertes és Kocsis, 1997, Buzsaki, 2002). Ezek a sejtek erős szerotonerg beidegződést kapnak a raphe magok területéről (Acsady és mtsai, 1996). Az 5-HT_{2C} receptorok az említett agyterületeken posztzinaptikusan fordulnak elő szerotonerg idegvégződéseken, valamint szomatodenritikus heteroreceptorokként funkcionálnak GABA-erg interneuronokon (Pompeiano és mtsai, 1994, Clemett és mtsai, 2000, Kantor és mtsai, 2005). Kimutatták, hogy az 5-HT_{2C} receptorok tónusos gátlást fejtenek ki a théta hullámok aktivitására a GABA-erg sejteken keresztül. Szisztémás adagolást követően az 5-HT_{2C} receptor agonista *m*-CPP és Ro 60-0175 csökkentette, míg az 5-HT_{2C} receptor antagonista SB-242084 és SB-206553 fokozta a mediális septum és a hippocampus théta oszcillációit és visszafordította az *m*-CPP hatását (Hajos és mtsai, 2003, Sorman és mtsai, 2011). Sorman és munkatársainak (2011) eredményei alapján az agonista *m*-CPP théta-csökkentő hatása erősebb volt REM-ben, mint ébrenlétben, ami összhangban van azzal a korábbi eredménnyel, mely szerint az antagonista SB-242084 elsősorban ébrenlétben fokozta a hippocampális théta ritmust (Kantor és mtsai, 2005).

Az 5-HT_{2C} receptorok alvásban betöltött szerepét számos vizsgálat bebizonyította rágcsálókban. Az 5-HT_{2C} receptor antagonisták vonatkozásában egyes tanulmányok a

REM alvásban töltött idő mennyiségének, valamint a REM epizódok számának csökkenéséről számolnak be (Smith és mtsai, 2002, Popa és mtsai, 2005, Monti és Jantos, 2006c). Az SWS-1 fokozódását több kísérletben kimutatták (Kantor és mtsai, 2005, Monti és Jantos, 2006a), míg az adatok elég ellentmondásnak tűnnek az SWS-2 szempontjából, mivel csökkenést (Kantor és mtsai, 2005) és növekedést (Smith és mtsai, 2002) egyaránt leírtak. Továbbá egy vizsgálatban az ébrenlét fokozódását is demonstrálták (Kantor és mtsai, 2005). Valamint kimutatták az 5-HT_{2C} receptort nem expresszáló KO (knock out, génkiütött) egerek alvás-ébrenlét architektúrájának zavarát (fokozódott az ébrenlét és csökkent a NREM alvás, de REM-ben nincs változás), és alvásmegvonásra adott fokozott válaszát (fokozott lassú hullámú aktivitás NREM fázisban, emelkedett NREM alvás) (Frank és mtsai, 2002).

3. táblázat Az 5-HT_{2C} receptor antagonisták Q-EEG és alváshatásai

*: hippocampális theta ritmus szabadon-mozgó patkányokban és urethán anesztézia alatt; **: hippocampális theta ritmus klorál-hidrátal altatott patkányban; -: nincs hatás a vizsgált paraméterben; ?: nem vizsgált paraméter; Rövidítések: i.p.: intraperitoneális; i.v.: intravénás; s.c.: szubkután; *m*-CPP: *meta*-chlorphenylpiperazin; KO: knock out, génkiütött

Hatóanyag	Faj (törzs)	Dózis (mg/kg)	Adagolás módja	Adagolás ideje	Alvásfázisokban töltött idő				REM epizódok száma	REM látencia	Q-EEG	Referencia
					Ébrenlét	SWS-1	SWS-2	REM				
SB-242084	patkány (Sprague-Dawley)	1	i.p.	a passzív fázis elején	?	?	?	?	?	?	megelőzte az 5-HT _{2C} agonista <i>m</i> -CPP theta-csökkentő hatását*	(Sorman és mtsai, 2011)
SB-242084 SB-206553	patkány (Sprague-Dawley)	1	i.v.	a passzív fázis elején	?	?	?	?	?	?	theta ↑, és megelőzte az 5-HT _{2C} agonista <i>m</i> -CPP theta-csökkentő hatását**	(Hajos és mtsai, 2003)
	patkány (Sprague-Dawley)	0,1 0,3 1	i.p.	a passzív fázis kezdetekor	– – ↑ az 1. órában	– – ↑ a 3. és 4. órában	– – ↓ az 1. órában	– – –	– ? –	– ? –	theta ↑ főleg ébrenlétben (legnagyobb emelkedés 8 Hz-nél)	(Kantor és mtsai, 2005)
SB-242084	patkány (Wistar)	1	i.p.	a passzív fázis kezdetekor	↑ az 1-2 órában	–	–	↓ 1-2 órában	↓ 1-2 órában	↑ 1-2 órában	theta ↑ ébrenlétben és REM-ben (legnagyobb emelkedés 8 Hz-nél)	(Kostyalik és mtsai, 2014a)
	egér (5-HT _{2A} KO és vad típus)	0,5 1 2,5	i.p.	3 órával a passzív fázis kezdete után	– – –	– – –	– – –	↓ az első 3 órában a vad típusú egerekben KO egerekhez képest	– ? –	– ? –	– ? –	(Popa és mtsai, 2005)
	patkány (Wistar)	0,5 1 2	s.c.	2,5 órával a passzív fázis kezdete után	– – –	– – –	– – –	↓ az 5.-6. órában	↓ az 5.-6. órában	– – –	– ? –	(Monti és Jantos, 2006c)
SB-243213	patkány (Wistar)	0,6 1,2 2,3	mikroinjekció a DRN-be	2,5 órával a passzív fázis kezdete után	– – –	↑ az összegzett első 2 órában	– – –	– – –	– – –	– – –	– ? –	(Monti és Jantos, 2006a)
	patkány (Lister Hooded)	1 3 10	per os	a passzív fázis kezdetén	– – –	– – –	– – –	– – –	– – –	– ? –	– – –	(Smith és mtsai, 2002)
						↑ 2.-6. órában	↓ 2.-12. órában	↓ 2.-12. órában				

2.5 A hipnogram modellezése Markov-láncokkal

Lényeges pontok

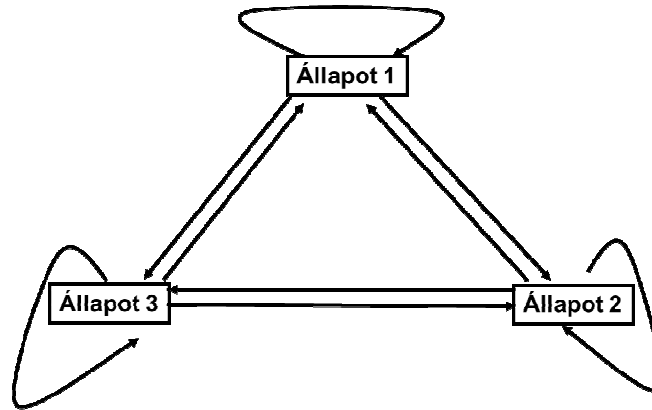
- Az alvás folyamata Markov-láncokkal modellezhető,
- egy Markov-tulajdonságú folyamatra jellemző, hogy a jövő állapota csak a jelen állapot függvénye,
- a Markov-lánc a deskriptív módszereknél hatékonyabban képes modellezni a biológiai folyamatokat,
- a Markov-láncok elterjedést az alváskutatásban eddig elsősorban számítástechnikai problémák gátolták.

A REM alvás-megvonás utáni visszaalvás első két órájának részletes analíziséhez a hagyományos, deskriptív statisztikai módszerek alkalmazásán túl a hipnogramot Markov-láncok segítségével is modelleztük. A modell alkalmazását indokolta, hogy a visszaalvás során elsősorban az alvás- és REM fragmentáció mikro-architektúráját akartuk vizsgálni az egyes kezelési csoportokban, azonban e folyamatok tanulmányozására a hagyományos alvás paraméterek meghatározása és a széles körben alkalmazott deskriptív analízis nem a legtökéletesebb módszer. Ennek az egyik oka az, hogy a hagyományos statisztikai módszerek a hipnogramnak csak egy-egy tulajdonságát veszik figyelembe és a kezelési csoportok átlagait párhuzamosan hasonlítják össze. A párhuzamos összehasonlítás viszont megnöveli az alfa hibát. Például összegezzük azt az időtartamot, amit egy állat REM vagy NREM alvásban tölt, majd az így kapott időtartamokat a kezelési csoportok szerint összehasonlítjuk ANOVA statisztikák segítségével. Egy paraméter, mint egy adott alvásfázisban töltött összes idő azonban nem ad teljes képet a folyamatról. Például a REM-REM-REM-NREM-NREM-NREM és a REM-NREM-REM-NREM-REM-NREM sorozatok teljes ciklus idő szempontjából megegyeznek, de nyilvánvalóan a két sorozat nagymértékben eltér egymástól. Ezért további empirikus, leíró paraméterek definiálása válik szükségessé. Ilyen empirikus paraméterekre példa a REM epizódok átlagos darabszáma és időtartama, vagy az alvásfragmentáció (az alvást megszakító felébredések száma). Egy másik probléma ezekkel a paraméterekkel az, hogy egymástól általában nem függetlenek, mert például az epizódszám és az átlagos idő nyilvánvalóan fordítottan arányos egymással. Továbbá

amikor ezeknek a metrikus módszereknek a segítségével hasonlítottunk össze kezelési csoportokat, a szabadsági fok az egyes csoportok elemszámától függ, de független a megfigyelések számától és a megfigyelt periódus hosszától. Ez könnyen ellentmondásos és nehezen interpretálható eredményekre vezethet, különösen, ha vizsgálati csoportonkénti állatszám „kicsi”. Azt, hogy mi a kicsi, nehéz megmondani, de a statisztikusok tíznél kisebb elemszámú csoportokat kicsinek tartanak, mert ott még nem nagyon érvényesül a normál közelítés. Statisztikai értelemben a leíró paraméterek egy többváltozós problémát több, egyváltozóssá redukálnak, ami ugyan lehet cél, de statisztikai értelemben nem egy hatékony eljárás. A lehetséges megoldás, hogy a deskriptív statisztikai módszereket felváltjuk olyan módszerrel, melyek jobban képesek modellezni a háttérben zajló biológiai folyamatokat. A Markov-lánc egy olyan diszkrét, sztochasztikus folyamatot jelent a matematikában, melyben a rendszer az egyik állapotból a másikba lép; a lehetséges állapotok száma véges és megszámlálható. Egy Markov-tulajdonságú folyamatra jellemző, hogy az adott jelenbeli állapot mellett a rendszer jövőbeni állapota nem függ a múltbeliektől. Az alvás folyamata, az egyes vigilanciafázisok szekvenciája időben folytonos Markov-láncokkal modellezhető. Vagyis a következő alvásfázisba lépés valószínűsége csak a jelen fázistól függ, a fázisváltás valószínűsége pedig exponenciálisan növekszik az idővel. Ez az időben folytonos Markov-lánc jellemzője. A Markov-láncokat széleskörűen használják időben függő többváltozós állapotok jellemzésére. Ebben a kontextusban úgy legcélszerűbb elképzelnünk a Markov-lánc alapú modellezést, mint egy regresszió-szerű eljárást, melynek az a jellegzetessége, hogy a változók nem funkció független változóként vannak modellezve, mint az idő, hanem az előző megfigyelés függvényeként. A regressziós procedúra célja jelen dolgozat esetében, olyan paraméterek meghatározása, melyek előrejelzik, hogy egy állat a jelen fázis függvényében melyik vigilanciafázisban lesz nagy valószínűséggel. Például ha a jelen fázis NREM, az állat innen nagy valószínűséggel REM fázisba lép, vagy ha a jelenlegi fázis ébrenlét, a következő fázis vagy NREM, vagy marad az ébrenlét, viszont a REM-be való átmenet valószínűsége alacsony. Az általunk is használt folytonos idejű Markov-láncok esetén nem magát a valószínűséget számoltuk ki, hanem azt a sebességet, ahogy az időben a valószínűség nő. A Markov-tulajdonságú rendszereket ábrázolhatjuk irányított gráfok segítségével (3. ábra).

3. ábra: Egy három állapottal rendelkező, Markov-tulajdonságú rendszer ábrázolása irányított gráfokkal.

A csúcsok az egyes állapotok, a két csúcsot összekötő vonalak pedig az egyik állapotból a másikba ugrást jelzik. Egy adott időpillanatban a rendszer maradhat a jelen fázisban is, amit a görbe nyilak jeleznek.



A Markov-láncok illesztése számítástechnikailag egy nagyon intenzív procedúra, mivel a modellt minden megfigyelésre egyszerre kell ráilleszteni. Viszont pontosan ezért a paraméterek közötti problémák természetesen vannak kezelve és a statisztikai értékelés az összes megfigyelésre alapul. A Markov analízis eredménye egyetlen koherens modell, ami statisztikai értelemben optimális, mert a modell paramétereit a valószínűség maximalizálásával kapjuk meg.

Az ötlet, hogy az alvásfázisok időben való váltakozását ábrázoló hipnogram leírható Markov-láncok segítségével, nem új keletű, hiszen már az 1980-as évekből találunk publikációkat a modell ilyen irányú használatára (Kemp és Kamphuisen, 1986). Előnyös tulajdonságai ellenére azonban a Markov-láncok alkalmazása még mindig limitált az alváskutatásban (Zung és mtsai, 1965, Yang és Hirsch, 1973, Yassouridis és mtsai, 1999, Bizzotto és mtsai, 2010). Ennek eddig nagy valószínűséggel a számítástechnika korlátai szabtak határt, vagyis a hardware források követelményei és a megfelelő Markov modulok hiánya a hagyományos statisztikai csomagokból. A technika rohamos fejlődésével azonban ezek a problémák napjainkban egyre inkább megoldódni látszanak. Adataink Markov-lánc analízisét a korábbi tanulmányoktól eltérően egy szabadon elérhető szoftver segítségével végeztük (R program, Lásd: 4.7.1).

3 Célkitűzések

Vizsgálataink középpontjában a krónikus escitalopram kezelés alvásra gyakorolt hatásai álltak.

A szakirodalmi adatok alapján a depressziósok alvásában és egyes, depresszió-szerű állapotot előidéző rágsáló modell esetében is fokozott REM-nyomást figyeltek meg. Továbbá a stressz alvás- és REM fragmentációt okozhat. A „flower pot” módszer után fellépő visszaalvás architektúráját már számos kutatócsoport vizsgálta, azonban az alvás mikrostruktúráját Markov-láncokkal még nem analizálták. Valamint a szakirodalom szintén nem számol be a krónikus SSRI kezelés visszaalvásra gyakorolt hatásairól sem. Első kísérletünkben a magas REM-nyomással és erős stresszel jellemezhető REM-visszacsapási periódus (REM rebound) első 2 óráját tanulmányoztuk. Arra kerestük a választ, hogy a 72 órás „flower pot” procedúra után, a visszaalvás első 2 órájában milyen változások következnek be normál patkányok alvásának

- (1) makro-architektúrájában (hagyományos alvás paraméterek deskriptív statisztikai analízise),
- (2) mikro-architektúrájában (Markov-lánc analízis),
- (3) valamint a Q-EEG-ben,
- (4) és mindezeket a változókat hogyan befolyásolja a krónikus escitalopram kezelés (10 mg/kg, ozmotikus mini pumpa, 24 napig) (Kostyalik és mtsai, 2014b).

A kísérletet elnevezése a továbbiakban: Escitalopram-Rebound.

Az escitalopram kezelés terápiás hatásának kialakulásához több hetes adagolásra van szükség, háttérben adaptív receptorális változások, többek között az 5-HT_{2C} receptorok deszenzitizációja feltételezhető. Az 5-HT_{2C} receptor antagonisták jellemzően emelik a théta oszcillációkat rágsálókban, mely hullámokat a tanulási- és memóriefolyamatokkal hoztak összefüggésbe. Második vizsgálatunkban arra kerestük a választ, (5) hogyan befolyásolja a krónikus escitalopram kezelés (10 mg/kg, ozmotikus minipumpa, 21 napig) a közvetlenül a passzív fázis elején adagolt 5-HT_{2C} receptor

antagonista SB-242084 (1 mg/kg, i.p.) théta frekvenciákra gyakorolt hatását zavartalan alvás-ébrenléti ciklussal rendelkező, szabadon mozgó patkányokban? (Kostyalik és mtsai, 2014a).

A kísérletet elnevezése a továbbiakban: Escitalopram-5-HT_{2C}.

4 Anyagok és módszerek

4.1 Az állatok és tartásuk

Az állatok tartását és az állatkísérleteket az Állatvédelmi Törvénynek (the Hungarian Governmental Regulation on animal studies, 31 December Psychopharmacology 1998 Act), valamint a nemzetközi előírásoknak [European Community Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC); National Institutes of Health “Principles of Laboratory Animal Care” (NIH Publications No. 85-23, revised 1985)] megfelelően, az Állatkísérletes Tudományos Etikai Tanács 22.1/2655/001/2007 és a 22.1/1375/7/2010 iktatószámú engedélyi alapján hajtottuk végre.

A kísérleteket hím *Wistar* patkányokon (Semmelweis Egyetem, Elméleti Tömb Központi Állatháza, Budapest, Magyarország) végeztük (EEG műtét előtti súlyuk: 250-280 g). Az állandó körülmények között tartott állatok (ketrecenként négy) szabványos tápot (CRLT AM, Charles River, Magyarország) és vizet szabadon fogyaszthattak. A helyiségekben állandó hőmérséklet (21 ± 1 °C) és páratartalom (40-50 %), valamint 12 órás sötét/fény periodicitás (a világítás kezdete 10:00, fényáram: kb. 150 lux) volt biztosítva. Az EEG felvételek a passzív (világos) fázisban kerültek rögzítésre.

4.2 A krónikus EEG és EMG elektródák beültetése

A patkányok poligráfias felvételeinek elkészítéséhez krónikus EEG és EMG elektródákat ültettünk be. A műtéteket altatott patkányokon végeztük (2 % halotán oxigénben, Fluotec 3) sztereotaxiás készülék (Kopf) segítségével. Az EEG-hez rozsdamentes acélból készült csavar elektródákat ültettünk be epidurálisan a bal frontális kéreg (bregmához viszonyítva laterális irányban: 2,0 mm és anterior irányban: 2,0 mm) és a bal parietális kéreg (lambdától laterális irányban: 2,0 mm és anterior irányban: 2,0 mm) fölé. A föld elektródát a kisagy fölé helyeztük. Az elvezetésre kerülő jel a bal frontális és a bal parietális elektróda között fellépő potenciálkülönbségből származott. A nyakizomba EMG elektródok (rozsdamentes acélból készült szilikon-gumi bevonatú spirálektródák, Subcutaneous Electrode Wire, Plastics One Inc., Roanoke, VA, USA) kerültek beültetésre. Az EEG és EMG elektródák végeit egy

kisméretű csatlakozóba vezettük, amit speciális cement (Duracryl-E, Spofa Dental, Praha) segítségével az állat koponyacsontjához rögzítettünk és kialakítottuk az úgynevezett koronát. A műtétet követően az állatok antibiotikum (Baytril 5%, 0,07 ml) injekciót kaptak, majd legalább 7 napig egymástól izolálva regenerálódtak.

4.3 Az elektrofiziológiai jelek készítése

Az EEG felvételek készítéséhez a patkányokat üvegfalú ketrecekben (35×35×40 cm) helyeztük el egyesével. Koronájukat egy forgócsatlakozóhoz (Multi Channel Commutator SL6C; Plastics One Inc., Roanoke, USA) rögzített hajlékony kábel (363 PLUG W/SPRING, Plastics One Inc., Roanoke, USA) segítségével csatlakoztattuk a poligráfhoz, ami nem akadályozta a szabad mozgást. A kábelre szerelt mágnes a körülötte elhelyezkedő elektromos tekercsben áramot indukálva az állatok motoros aktivitásáról (motilitás, MOT) adott információt (Kantor és mtsai, 2004). Az EEG, EMG és MOT jeleket a megfelelő alsó és felső szűrést követően (0,53-64 Hz, 6dB/oktáv) differenciál erősítő (Coulbourn, LabLinc V) segítségével felerősítettük (EEG×5000, EMG×20000 és MOT×5000). Az analóg jeleket a *VitalRecorder* program segítségével (Kissei Comtec co. LTD, USA) csatornánként 128 Hz-es mintavételezéssel digitalizáltuk, majd merevlemezen rögzítettük a későbbi feldolgozásokhoz. Az összes felvételt a fény felkapcsolódásakor indítottuk el.

4.4 Az EEG jelek feldolgozása

Az EEG jeleket 4 másodperces szakaszonként (epoch) a *SleepSign for Animal* (Kissei Komtec America, Inc, USA) alvásértékelő program segítségével az alábbi kritérium rendszer alapján vizuálisan elemeztük (Kantor és mtsai, 2004):

- **Aktív ébrenlét (active wake, AW):** alacsony amplitúdójú, magas frekvenciájú, főleg alfa (8-13 Hz) és béta (14-30 Hz), valamint théta (5-9 Hz) tartományba eső EEG hullámok; intenzív EMG és motoros aktivitás.
- **Passzív ébrenlét (passive wake, PW):** alacsony amplitúdójú, magas frekvenciájú, főleg alfa (8-13 Hz) és béta (14-30 Hz), valamint théta (5-9 Hz) tartományba eső EEG hullámok, fokozott EMG; minimális motilitás jellemző.
- **Felszínes lassú hullámú alvás (light slow-wave sleep, SWS-1):** nagy amplitúdójú, alacsony frekvenciájú delta hullámok (0,5-4 Hz), melyeket

alacsony amplitúdójú, magas frekvenciájú alvási orsók (6-15 Hz) szakítanak meg; az izomtónus és a motoros aktivitás csökkent.

- **Mély lassú hullámú alvás (deep slow-wave sleep, SWS-2):** nagy amplitúdójú, alacsony frekvenciájú delta (0,5-4 Hz) hullámok jellemzik; az EMG és a motoros aktivitás csökkent.
- **Átmeneti stádium (intermediate stage, IS):** theta hullámok (5-6 Hz) és magas amplitúdójú orsók (átlag 12,5 Hz) szokatlan együttes megjelenése, rövid szakaszokban. Általában átmenetet képez a lassú hullámú alvás és a REM alvás között, ritkán REM alvás után is megjelenhet. Az izomtónus és a motoros aktivitás csökkent.
- **Gyors szemmozgásos alvás (rapid eye movement sleep, REM-alvás):** egyenletes amplitúdójú theta hullámok (5-9 Hz) jellemzők; az izomtónus hiányzik, viszont időnként 1-2 másodperces izomrángások jelenhetnek meg;

Elvégeztük az EEG kvantitatív kiértékelését (Q-EEG) is, azaz az EEG teljesítménysűrűség spektrumának elemzését az ún. gyors Fourier transzformáció (fast Fourier transformation, FFT; Hanning ablak, 0,25 Hz) segítségével, mely az adott frekvenciához tartozó elektromos teljesítményt adja meg μV^2 mértékegységben. Ehhez azonban nem elégséges az automata kiértékelés, ugyanis a fent említett módszer különösen érzékeny az esetleges műtermékekre. Ezért időigényesebb vizuális elemzés keretében kizártuk a műterméket tartalmazó epochokat és ezután végeztük el a kvantitatív analízist. Ennek során a spektrális görbék frekvenciatengelyén az egymást követő 0,25 Hz-es értékeket összevontuk és 1 Hz-es bineket képeztünk. Az így kapott bineket a felső frekvenciahatárok jelölik, tehát a 2 Hz-es bin ebben az értelemben az 1,25 Hz-től 2 Hz-ig terjedő értékeket jelöli. A Q-EEG-t az 1,25-60 Hz frekvencia tartományban vizsgáltuk, eredményeinket vigilancia stádiumonként átlagolt teljesítményspektrumokon mutatjuk be. A vizsgálat során kiemelt figyelmet fordítottunk a kognitív funkciókkal szoros kapcsolatot mutató theta tartományra (5-9 Hz).

4.5 Hatóanyag adagolás

A dolgozatban szereplő mindkét kísérletben ozmotikus minipumpák segítségével biztosítottuk az escitalopram krónikus adagolását. Ennek érdekében a patkányok háti

bőre alá (2 cm-es bemetszés, a lapockáktól posterior irányban) ozmotikus minipumpát (2ML4, ALZET, 2.5 µl/óra, 28 napig DURECT Corporation, USA) ültettünk be, mely biztosította a folyamatos és egyenletes hatóanyag leadást. A minipumpákat előzetesen **escitalopram-oxalát** oldattal (10 mg/kg/nap, a Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Nyrt. jóvoltából; 0,3 N sósav oldatban oldva), vagy annak oldószerével töltöttük fel. A dózist olyan rágsáló tanulmányok alapján határoztuk meg, melyek a krónikus escitalopram kezelés alvásra, viselkedésre és extracelluláris 5-HT koncentrációra gyakorolt hatását demonstrálták (Ceglia és mtsai, 2004, Jacobsen és Mork, 2004, Popa és mtsai, 2008, Vas és mtsai, 2013).

Az escitalopram-5-HT_{2C} kísérletben az EEG felvételek készítése előtt közvetlenül intraperitoneális (i.p.) **SB-242084** (SB, 6-chloro-5-methyl-1-[[2-(2-methyl-3-pyridyl)oxy]-5-pyridyl carbamoyl], Tocris, UK, 1 mg/kg, 10 % (2-hydroxypropyl)-β-cyclodextrin oldatban oldva), vagy annak oldószere került beadásra a testtömeggel arányos térfogatban (1 ml/kg). Az SB-242084 dózist olyan rágsáló tanulmányok alapján határoztuk meg, melyek esetében befolyásolta az alvást és szorongáscsökkentő hatást produkált (Kantor és mtsai, 2005, Popa és mtsai, 2005). Az SB-242084 szelektívnek mondható, mivel a többi 5-HT₂ receptorhoz képest jóval nagyobb affinitást mutat az 5-HT_{2C} receptorokhoz (5-HT_{2C}: pKi=9,0; 5-HT_{2B}: pKi=7,0; 5-HT_{2A}: pKi=6,8) (Kennett és mtsai, 1997).

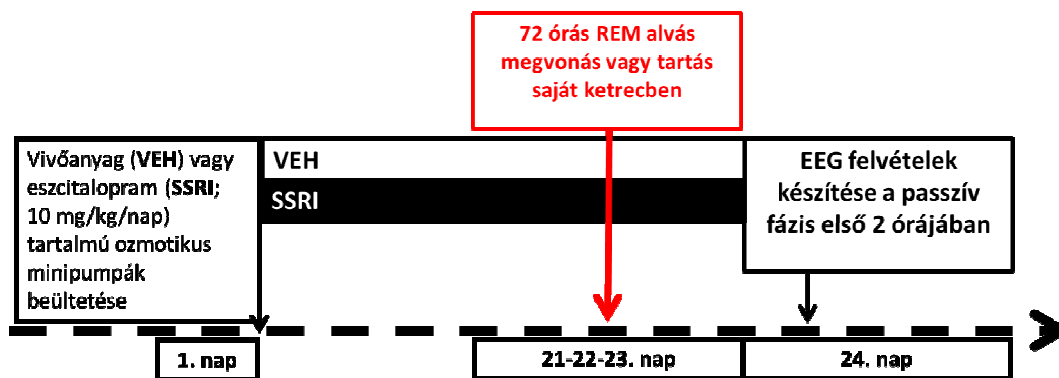
4.6 A kezelési csoportok és a kísérleti protokoll

4.6.1 Escitalopram-Rebound kísérlet

Azt vizsgáltuk, hogyan hat a krónikus escitalopram kezelés (10 mg/kg/nap, 24 napig) a 3 napos szelektív REM alvás-megvonást követő visszaalvás első 2 órájára. Ennek érdekében a megfelelő EEG és EMG jellel rendelkező állatokat véletlenszerűen 4 kísérleti csoportba osztottunk a krónikus kezelés [escitalopram (SSRI) vagy vivőanyag (vehiculum, VEH)] és a REM alvás-megvonás [REM-megvonás (REM deprivation, RD) vagy saját ketrecben tartás (home cage, HC)] alapján:

- Saját ketrecében tartott-vivőanyaggal kezelt csoport (HC-VEH; n=6)
- Saját ketrecében tartott-escitaloprammal kezelt csoport (HC-SSRI; n=7)
- REM alvás-megvonáson átesett-vivőanyaggal kezelt csoport (RD-VEH; n=7)
- REM alvás-megvonáson átesett-escitaloprammal kezelt csoport (RD-SSRI; n=7)

A patkányokat közvetlenül a REM-megvonás előtt 7 napig szoktattuk az EEG felvétel körülményeihez. Az állatok a habituációs periódus végéig a kábelhez voltak csatlakoztatva, majd a krónikus kezelés 21. napján, a fény felkapcsolásakor lecsatlakoztattuk őket a kábelről, és átkerültek egy másik helyiségbe, ahol a körülmények megegyeztek a mérőszoba körülményeivel. Itt az állatok 72 órára izoláltan vagy zavartalan körülmények közé, saját ketrecükbe (HC csoportok), vagy pedig a REM-megvonásra alkalmazott porondra kerültek (RD csoportok). Az RD csoportok állatait egy-egy különálló víztartály közepén elhelyezkedő porondra helyeztünk, melyek kialakítása az irodalmi standardok figyelembevételével történt: a víztartály belső átmérője: 41 cm; a porond átmérője 6,5 cm; vízmagasság: 18 cm, a porond e fölött helyezkedett el 0,5 cm-rel; a kihülést megakadályozása érdekében a porond felszínét PVC-vel borítottuk. A táplálékhoz való folyamatos hozzáférés biztosítva volt. A 72 órás REM-megvonás végén, a 24. napon (fényváltáskor, a passzív fázis elején) az állatokat levettük a porondokról és a saját ketrecben tartott csoportokkal együtt a mérőszobába szállítottuk őket. A kábelhez csatlakoztatást követően elkezdődött a visszaalvás első 2 órájának rögzítése. A kísérleti protokollt a 4. ábra prezentálja.



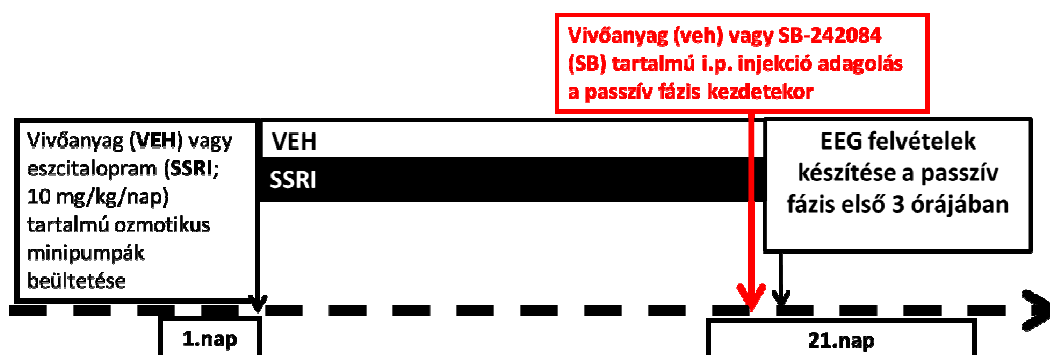
4. ábra. Escitalopram-Rebound kísérlet: a kísérleti protokoll sematikus ábrázolása

4.6.2 Escitalopram-5-HT_{2C} receptor kísérlet

Ebben a kísérletben azt vizsgáltuk, hogyan befolyásolja a krónikus escitalopram előkezelés (21 napos) az akut 5-HT_{2C} receptor antagonistá SB-242084 hatásait a Q-EEG spektrumra. A megfelelő EEG és EMG jellel rendelkező állatokat véletlenszerűen 4 kísérleti csoportba osztottunk a krónikus előkezelés kezelés [escitalopram (SSRI) vagy vivőanyag (vehiculum, VEH)], valamint az akut kezelés [SB-242084 vagy vivőanyag (vehiculum, veh)] alapján:

- Krónikus vivőanyagos előkezelés + akut vivőanyagos kezelés (VEH+veh; n=6)
- Krónikus vivőanyagos előkezelés + akut SB-242084 kezelés (VEH+SB; n=6)
- Krónikus escitalopram előkezelés + akut vivőanyagos kezelés (SSRI+veh; n=7)
- Krónikus escitalopram előkezelés + akut SB-242084 kezelés (SSRI+SB; n=6)

Az állatokat az éles felvételek készítése előtt 7 napig szoktattuk az EEG felvétel körülményeihez, valamint az i.p. injekcióhoz. Az akut i.p. kezelést közvetlenül a passzív fázis elején adagoltuk, majd elkezdődött az EEG felvételek rögzítése. Az alvás első 3 óráját analizáltuk. A kísérleti protokollt az 5. ábra prezentálja.



5. ábra. Escitalopram-5-HT_{2C} kísérlet: a kísérleti protokoll sematikus ábrázolása

4.7 Vizsgált paraméterek és statisztikai analízis

4.7.1 Escitalopram-Rebound kísérlet

Ebben a kísérletben a hipnogramokat az alábbi módszerek segítségével vizsgáltuk:

- Deskriptív statisztikai analízis: átlag, szórás, ANOVA statisztikák, Tukey post hoc analízis,
- Markov-lánc modell,
- kvantitatív alvás analízis (Q-EEG).

A hipnogram deskriptív statisztikai analízise

A vizsgált alvásparaméterek a visszaalvás összegzett első 2 órájában:

- Ébrenlétben, NREM alvásban, REM alvásban és összes alvásban töltött összes idő;
- Ébrenlétben, NREM alvásban, REM alvásban és összes alvásban töltött epizódok darabszáma [egy epizód időtartama ≥ 4 mp (1 epoch)];

- Ébrenlétben, NREM alvásban, REM alvásban és összes alvásban töltött epizódok átlagos időtartama [egy epizód időtartama ≥ 4 mp (1 epoch)];

A fenti alvásparaméterek esetében az alvásfázisokat az alábbiak szerint csoportosítottuk: Ébrenlét (AW és PW), NREM alvás (SWS-1, SWS-2 és IS), REM alvás és összes alvás (NREM és REM alvás).

- Alvásfragmentáció: a bármely alvásfázist megszakító ébredések (AW és PW) darabszámának összege (Huber és mtsai, 1998);
- REM alvás látencia: az elalvás kezdetétől az első REM epoch megjelenéséig eltelt idő;
- Alvás látencia: a passzív fázis kezdetétől az elalvásig, vagyis az első SWS-1 epoch megjelenéséig eltelt idő;
- Első REM szakasz hossza: az első REM szakasz időtartama (az első REM epoch után az IS epochok beleszámítanak);

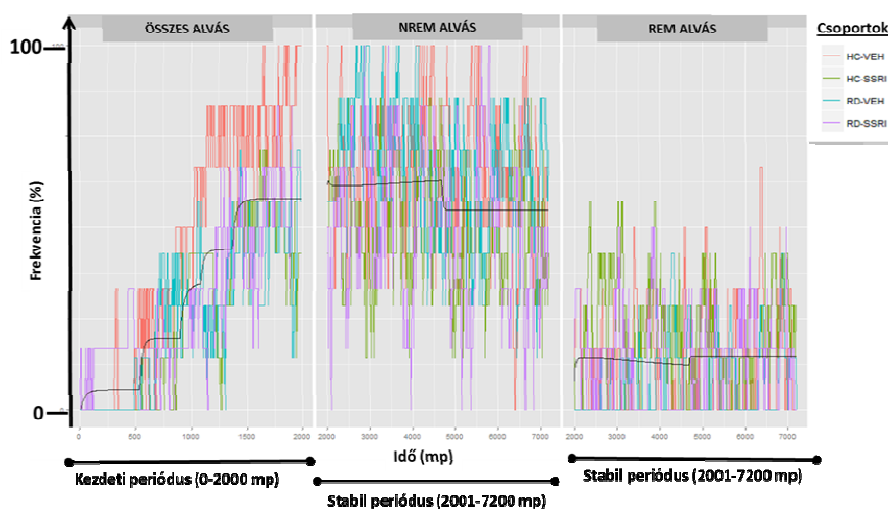
Adatainkat kétutas, ismétlés nélküli varianciaanalízis (ANOVA, analysis of variance) segítségével értékeltük ki [faktorok: kezelés (VEH vagy SSRI) és REM-megvonás (HC vagy RD)], melyet szignifikancia esetén ($p < 0,05$) Tukey post hoc teszt követett. A csoportok közötti szignifikáns különbségeket a post hoc teszt alapján, $p < 0,05$ esetén állapítottuk meg. A statisztikai próbákat a visszaalvás összegzett első 2 órájára végeztük el, ezért az idő nem szerepel faktorként a végső statisztikai tesztben. Az analízist, valamint a grafikonokat a Prism 6 (GraphPad Software, Inc., USA) szoftver segítségével készítettük.

A hipnogram analízise Markov-láncokkal

A hipnogramokat időben folytonos Markov-láncokkal modelleztük. Vizsgálataink során az elsődleges kérdésünk az volt, hogyan viszonyul az egyes fázisátváltások sebessége a kezelési csoportokban a kontroll csoporthoz képest. Ezért a kezelési csoportok adatait a kontroll csoportra (HC-VEH) normalizáltuk, és ezeket a relatív értékeket normalizált fázisátváltási sebességnek (normalized transition rate; NTR) neveztük el. Ha például $NTR > 1$ a WAKE $\rightarrow$ NREM átmenet esetében az egyik kezelési csoportban, az azt jelenti, hogy a kezelés fokozta az ébrenlétből NREM alvásba váltás sebességét a kontroll csoporthoz képest. Abban az esetben, ha egy kezelés csökkenti egy fázisváltás sebességét a kontrollhoz képest, $NTR < 1$. A szignifikancia meghatározására

hagyományos statisztikai tesztek helyett a szoftver által meghatározott konfidencia intervallumot használtuk. Abban az esetben, ha egy kezelési csoportra jellemző átváltásai sebesség konfidencia intervalluma nem foglalja magában az 1-et, a kezelés hatását statisztikailag szignifikánsnak tekintjük a HC-VEH csoporthoz képest 5 %-os alfa hiba elfogadásával ($p < 0,05$). Továbbá, ha két kezelési csoport NTR értékeinek konfidencia intervalluma nem fed át, a két csoport szignifikánsan különbözik egymástól ($p < 0,05$). Az átváltási sebességeken kívül meghatároztuk az egyes vigilanciafázisokban két fázisváltás közötti tartózkodási idők becsült átlagát (tartózkodási idő, az angol terminológia szerint: sojourn time). Ennek a paraméternek közvetlenül értelmezhető fizikai jelentése van, ezért abszolút értékeik vannak a megfelelő 95%-os konfidencia intervallummal ellátva. Két tartózkodási idő értéket statisztikailag különbözőnek tekintünk, ha a konfidencia intervallumaik nem fednek át egymással.

A Markov-lánc egy numerikus optimalizáláson alapuló nemlineáris regressziós modellezési technika. A konvergencia elérése érdekében azonban az alkalmazott modell és szoftver két limitációjával kellett szembesülnünk. Egyrészt problémát jelentett, hogy az átváltási sebességek konstansak és függetlenek az időtől. Ezt sikerült megoldanunk az adatok vizuális szegmentációjával, amikor a vizsgált 2 órás szakaszt olyan stacionárius periódusokra osztottuk, amelyekben az észlelt átváltási frekvenciák viszonylag állandók voltak (6. ábra).



6. ábra: A hipnogram szegmentációja.

A kezdeti periódusban az alvásfázisok frekvenciája növekszik. A szoftver által javasolt szegmentációk fekete vonalakkal vannak jelölve. Egy szegmensen belül a fázisváltási ráták állandónak tekinthetők, azaz függetlenek az időtől. A stabil periódus esetén az átváltási frekvenciák konstansak maradtak, így nem szükséges további szegmentáció.

Az időszegmensek faktor változóként jelentek meg, míg az idő, mint faktor nem szerepelt a végső statisztikai modellben. Ezért a közölt NTR és tartózkodási idő értékek időfüggetlen becslések.

A másik problémát az jelentette, hogy a kezdeti periódusban csak két, a stabil periódusban pedig csak három fázis esetében tudtunk sikeres konvergenciát elérni. Ezeket a limitációkat szem előtt tartva a visszaalvás első 2 óráját két olyan stacionárius periódusra osztottuk, melyekben az alvás karakterisztikája nagyban eltér egymástól:

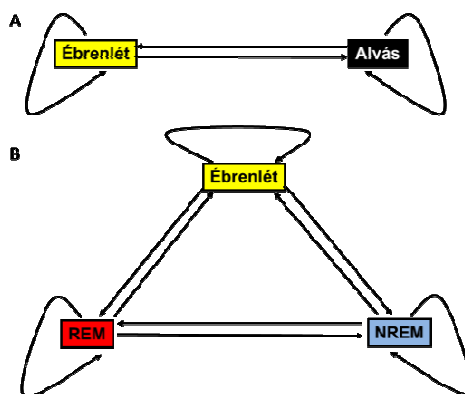
Kezdeti periódus: a visszaalvás első fél órája (0-2000 mp)

A kezdeti periódusban az ébrenléti állapot csökkenő tendenciát mutatott, továbbá ebben a szakaszban még viszonylag kevés a REM fázis, ezért nem sikerült háromállapotú (ébrenlét, REM alvás, NREM alvás) Markov-modellt illeszteni; az optimalizáló algoritmus ugyanis nem konvergált. A numerikus stabilitás elérése érdekében a REM és NREM fázisokat összevontuk az összes alvás fázisába, így végül az alábbi két állapot közötti folyamatokat vizsgáltuk: ébrenlét és alvás.

Stabil periódus: a visszaalvás fennmaradó másfél órája (2001-7200 mp)

A kezdeti periódussal ellentétben, a stabil szakaszban a vigilanciafázisok prevalenciája állandó volt, és a hipnogram sokkal kevesebb non-stacionárius jelleget mutatott. Így további szegmentáció nélkül sikerült háromállapotú Markov-modellt illeszteniük: ébrenlét, NREM és REM alvás.

A kezdeti és a stabil periódus állapotait a 7.A és 7.B ábra reprezentálja.



7. ábra A kezdeti (A) és a stabil (B) szakasz állapotainak ábrázolása gráfokkal.

A csúcsok az egyes vigilancia stádiumok, a két csúcsot összekötő vonalak pedig az egyik állapotból a másikba ugrást jelzik. A dolgozatban ezeknek a vonalaknak megfeleltetett paraméter a normalizált fázisátváltási sebesség (NTR). Egy adott időpillanatban a rendszer nem feltétlenül vált egy másik állapotba, vagyis maradhat a jelen fázisban is, amit a görbe nyilak jeleznek. A dolgozatban ezeknek a vonalaknak megfeleltetett paraméter a tartózkodási idő.

A Markov analízist és a hozzá tartozó ábrákat az ingyenesen letölthető R programmal (R, 2008) és a Markov-lánc analízisre specifikus R program csomag (Jackson, 2011) segítségével végeztük el. A számításokhoz 8 GB RAM-mal és Intel Core-I5 2500 K processzorral rendelkező számítógépet használtunk.

Q-EEG analízis

Q-EEG analízist végeztünk az AW, PW, SWS-1, SWS-2 és REM fázisokban, az alvás összegzett első 2 órájában. A teljesítményspektrumok ábrázolásával a görbék lefutásából megállapítható, hogy mely alvástádiumokra és mely frekvencia tartományokra ajánlatos statisztikai analízist végeznünk. Szemmel látható teljesítménysűrűség különbségek az SWS-1 (théta és alfa tartományban) és az SWS-2 (alfa tartományban) stádiumokban mutatkoztak. Az EEG teljesítményspektrumok

statisztikai vizsgálatához háromutas, ismétléses ANOVA-t használtunk [ismétlés nélküli faktorok: kezelés (VEH vagy SSRI) és alvásmegvonás (HC vagy RD); ismétléses faktor SWS-1 fázisban: theta (5-9 Hz) és alfa frekvenciák (10-13 Hz); ismétléses faktor SWS-2 fázisban: theta frekvenciák (5-9 Hz)]. Szignifikáns ANOVA teszt esetén ($p < 0,05$) a csoportok közötti szignifikáns eltéréseket Tukey post hoc teszt segítségével, $p < 0,05$ esetén állapítottuk meg.

A teljesítményspektrumok statisztikai analízisét, valamint a grafikonokat a Prism 6 (GraphPad Software, Inc., USA) szoftverrel készítettük.

4.7.2 Escitalopram-5-HT_{2C} kísérlet

Q-EEG analízis

Q-EEG spektrum analízist végeztünk a passzív fázis első 3 órájában óránként, az AW, PW, SWS-1, SWS-2 és REM stádiumokban. A teljesítményspektrumok vizuális inspekciója után a theta frekvenciákat (5-9 Hz) AW és a REM fázisokban óránként analizáltuk (AW: 1., 2. és 3. óra; REM: 2. és 3. óra, mivel az 1. óra még túl kevés REM-et tartalmaz). A számításokhoz a theta tartomány görbe alatti területének (area under the curve, AUC) értékeit hasonlítottuk össze az egyes kezelési csoportokban. Az összehasonlítások elvégzése előtt azonban a normális eloszlás biztosítása érdekében az AUC értékek abszolút értékeit logaritmikus transzformációnak vetettük alá. Az így kapott adatokat kétutas ANOVA segítségével analizáltunk [faktorok: előkezelés (VEH vagy SSRI) és kezelés (veh vagy SB)], amit szignifikancia ($p < 0,05$) esetén Tukey post hoc teszt követett. Továbbá a theta frekvenciák és a kezelési csoportok között fennálló kapcsolat vizsgálata érdekében a logaritmizált teljesítménysűrűség értékeket kétutas, ismétléses ANOVA eljárással is kiértékelünk [nem ismétléses faktor: kezelési csoportok (VEH+veh, VEH+SB, SSRI+veh, SSRI+SB); ismétléses faktor: theta frekvenciák (5-9 Hz)], melyet szignifikancia esetén ($p < 0,05$) Tukey post hoc teszt követett. A csoportok közötti szignifikáns különbségeket a post hoc teszt alapján, $p < 0,05$ esetén állapítottuk meg.

A statisztikai analízisekhez és a grafikonokhoz a Statistica 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA) szoftvert használtuk.

5 Eredmények

5.1 Escitalopram-Rebound kísérlet

5.1.1 Az alvásparaméterek deskriptív statisztikai módszerekkel való analízise

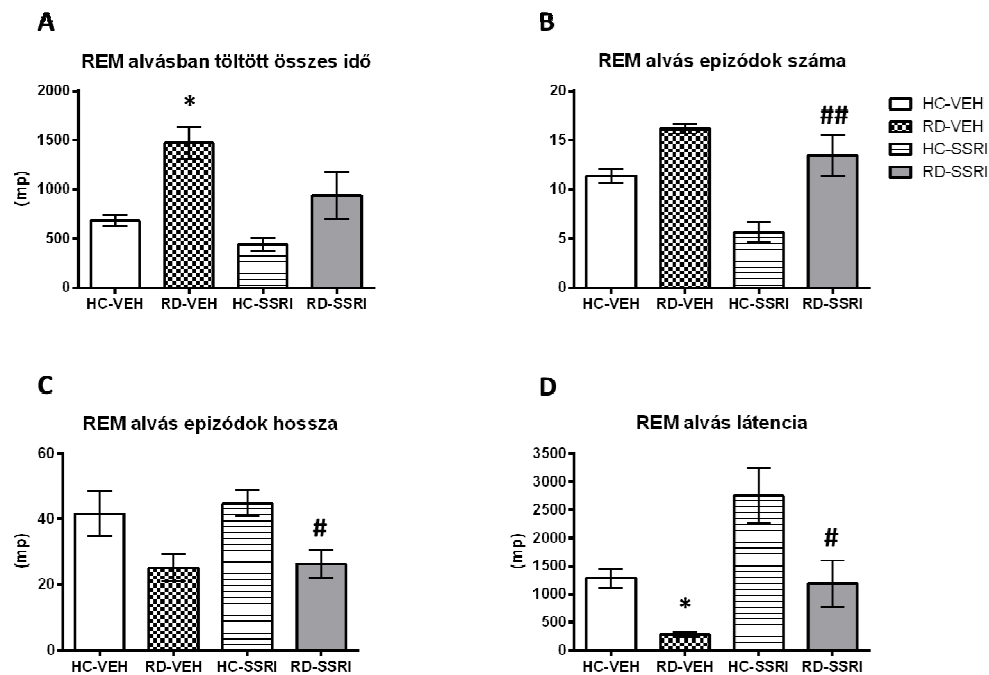
Az ebben a szekcióban tárgyalt paraméterekből készült grafikonokat az 8. ábra prezentálja; a statisztikai analízis eredményeit, valamint az egyes kezelési csoportok átlag és standard hiba értékeit a 4. táblázat foglalja össze, így a szövegben a pontos F és p értékek nem kerültek külön feltüntetésre.

REM alvás

A kétutas ANOVA statisztika alapján a háromnapos REM alvás-megvonás és a krónikus SSRI kezelés markáns hatást gyakorolt a REM alvásban töltött összes időre, a REM epizódok darabszámára és a REM alvás látencia idejére (szignifikáns kezelés és alvásmegvonás hatások az említett paraméterekben).

A REM alvás-megvonás önmagában (RD-VEH csoport) REM-visszacsapást okozott a kontroll csoporthoz (HC-VEH) képest, mivel megnövelte a REM alvásban töltött összes időt (8.A ábra; szignifikáns alvásmegvonás hatás és Tukey post hoc teszt az RD-VEH és a HC-VEH csoportok között), valamint csökkentette a REM alvás látencia idejét (8.D ábra; 4. táblázat: szignifikáns alvásmegvonás hatás és Tukey post hoc teszt az RD-VEH és a HC-VEH csoportok között). A krónikus SSRI kezelés önmagában (HC-SSRI csoport) nem okozott jelentős változásokat a REM paraméterekben. Továbbá úgy tűnik, hogy az escitalopram csak enyhén csökkentette a REM-megvonás után fellépő REM-visszacsapást. A statisztikai analízis alapján ugyanis a REM alvásban töltött összes idő és a REM látencia paraméterekben nem mutatkozott interakció az alvásmegvonás és a krónikus SSRI kezelés hatása között, valamint a post hoc tesztek alapján az RD-SSRI csoport nem különbözik szignifikánsan az RD-VEH csoporttól. Továbbá az RD-SSRI csoportban REM fragmentáció figyelhető meg a HC-SSRI csoporthoz képest, mivel emelkedett a REM epizódok darabszáma (8.B ábra, 4. táblázat: szignifikáns kezelés és alvásmegvonás hatások, szignifikáns Tukey post hoc teszt az RD-SSRI és az HC-SSRI csoportok között), és csökkent a REM epizódok

hossza (8.C ábra; 4. táblázat: szignifikáns alvásmegvonás hatás és Tukey post hoc teszt).



8. ábra REM alvás paraméterek a háromnapos REM alvás-megvonás utáni visszaalvás összegzett első 2 órájában.

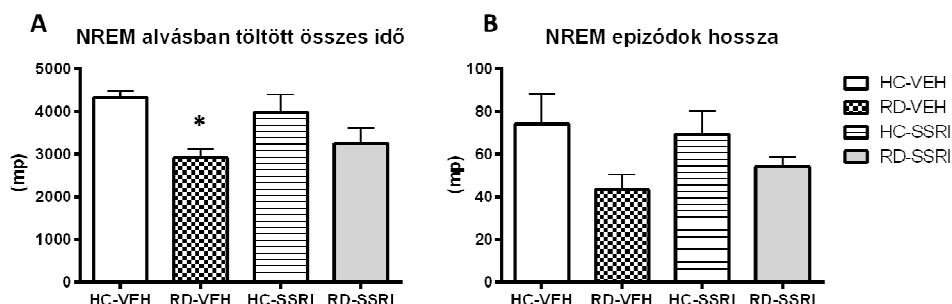
A REM alvásban töltött összes idő (A), a REM epizódok átlagos darabszáma (B) és hossza (C), valamint a REM alvás látencia (D). Az ábrák az átlagokat és a standard hiba értékeket (SEM) prezentálják, csoportonként 6-7 állat adatainak felhasználásával. *: szignifikáns különbség ($p < 0,05$) a Tukey post hoc teszt alapján az RD-VEH és a HC-VEH csoportok között; # és ## : szignifikáns különbségek ($p < 0,05$ és $p < 0,01$) a Tukey post hoc teszt alapján az RD-SSRI és a HC-SSRI csoportok között;

Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI).

NREM alvás

A REM-megvonás (RD-VEH) a NREM epizódok hosszának átlagos hosszának rövidítése révén (9.B ábra; 4. táblázat: szignifikáns alvásmegvonás hatás) csökkentette a NREM alvásban töltött összes időt a saját ketrecben tartott kontroll csoporthoz képest (9.A ábra; 4. táblázat: szignifikáns alvásmegvonás hatás és Tukey post hoc teszt az RD-VEH és a HC-VEH csoportok között). A REM paraméterekhez hasonlóan, az

escitalopram kezelés nem befolyásolta az alvás-megvonás NREM paraméterekre kifejtett hatását sem (nincs kezelés x alvás-megvonás interakció).



9. ábra NREM alvás paraméterek a háromnapos REM alvás-megvonás utáni visszaalvás összegzett első 2 órájában.

A NREM alvásban töltött összes idő (A) és a NREM epizódok darabszáma (B). Az ábrák az átlagokat és a standard hiba értékeket (SEM) prezentálják, csoportonként 6-7 állat adatainak felhasználásával. *: szignifikáns különbség ($p < 0,05$) a Tukey post hoc teszt alapján az RD-VEH és a HC-VEH csoportok között;

Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

Az alábbi vigilancia paraméterek esetében nem találtunk szignifikáns változást: ébrenlétben és összes alvásban töltött összes idő; ébrenlét, NREM alvás és összes alvás epizódok száma; ébrenlét és összes alvás epizódok hossza; alvásfragmentáció; alvás (SWS-1) látencia; első REM szakasz hossza (4. táblázat).

4. táblázat A kétszemponos varianciaanalízis (ANOVA) eredményei és az átlag ± standard hiba (SEM) értékek a háromnapos REM alvás-megvonás utáni visszaalvás összegzett első 2 órájában, az összes vizsgált vigilancia paraméter esetében.

A kétutas ANOVA statisztikák és a Tukey post hoc tesztek szignifikáns eredményei vastag betűvel vannak kiemelve. *: szignifikáns ($p < 0,05$) Tukey post hoc összehasonlítások a HC-VEH csoporthoz képest; # és ##: szignifikáns ($p < 0,05$ és $p < 0,01$) Tukey post hoc összehasonlítások a HC-SSRI csoporthoz képest; Az átlag és SEM értékeket csoportonként 6-7 állat adatainak felhasználásával nyertük. Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

Kétutas ANOVA											
		Kezelés hatás		Alvásmegvonás hatás		Kezelés x Alvásmegvonás interakciós hatás		Átlag ± SEM			
		F _{1,23}	p	F _{1,23}	p	F _{1,24}	p	HC-VEH	RD-VEH	HC-SSRI	RD-SSRI
Alvásfázisban töltött összes idő	Ébrenlét	0.97	0.3337	2.00	0.1703	0.89	0.3529	2063.0±208.2	2991.0±337.2	2823.0±444.4	3006.0±473.7
	NREM	0.0008	0.9772	11.08	0.0029	1.14	0.2963	4325.0±152.8	2921.0±195.7*	3975.0±430.1	3253.0±367.8
	REM	9.18	0.0066	15.85	0.0007	0.10	0.7502	680.8±58.8	1470.0±160.9*	401.7±69.0	940.6±236.3
	ALVÁS	0.97	0.3335	2.00	0.1706	0.89	0.3527	5136.6±208.2	4209.1±337.2	4376.5±444.8	4193.7±473.7
Alvásfázis epizódok száma	Ébrenlét	1.45	0.2393	2.03	0.1673	0.08	0.7757	44.5±5.3	39.2±4.5	40.2±3.8	32.4±4.5
	NREM	0.96	0.3354	0.08	0.7717	<0.0001	0.9924	71.5±16.5	74.8±9.5	60.7±6.1	63.8±11.2
	REM	7.56	0.0117	25.22	<0.0001	0.71	0.4071	11.4±0.7	16.1±0.4	5.0±1.1	13.43±2.0##
	ALVÁS	0.63	0.4330	1.71	0.2035	0.26	0.6119	71.5±17.3	53.1±7.5	58.2±6.2	50.2±7.9
Alvásfázis epizódok átlagos hossza	Ébrenlét	0.75	0.3925	2.84	0.1024	0.15	0.7013	34.6±6.0	64.5±14.8	52.6±12.2	71.4±18.8
	NREM	0.08	0.7756	5.74	0.0250	0.65	0.4284	74.27±14.0	43.5±7.1	69.3±11.0	54.0±4.7
	REM	0.19	0.6664	13.49	0.0015	0.04	0.8299	41.6±6.8	25.1±4.1	44.8±4.0	26.2±4.2*
	ALVÁS	0.05	0.8139	0.24	0.6229	0.09	0.7580	88.8±16.4	91.8±18.3	79.9±12.2	93.0±16.91
Alvásfragmentáció		0.64	0.4308	1.72	0.2022	0.28	0.5997	71.0±17.4	52.4±7.4	57.5±6.2	49.7±7.8
REM látencia		5.05	0.0359	16.53	0.0006	0.10	0.7519	1285.6±171.6	280.0±57.1*	2755.4±480.7	1187.4±410.7*
Alvás (SWS-1) látencia		0.06	0.7992	0.38	0.5385	2.54	0.1244	820.7±189.5	1321.0±229.3	1122±257.1	903.4±206.9
Első REM szakasz hossza		0.30	0.5848	0.15	0.7005	0.50	0.4860	78.4±17.2	102.0±24.5	81.7±20.5	74.8±20.4

5.1.2 A hipnogram analízise Markov-láncokkal

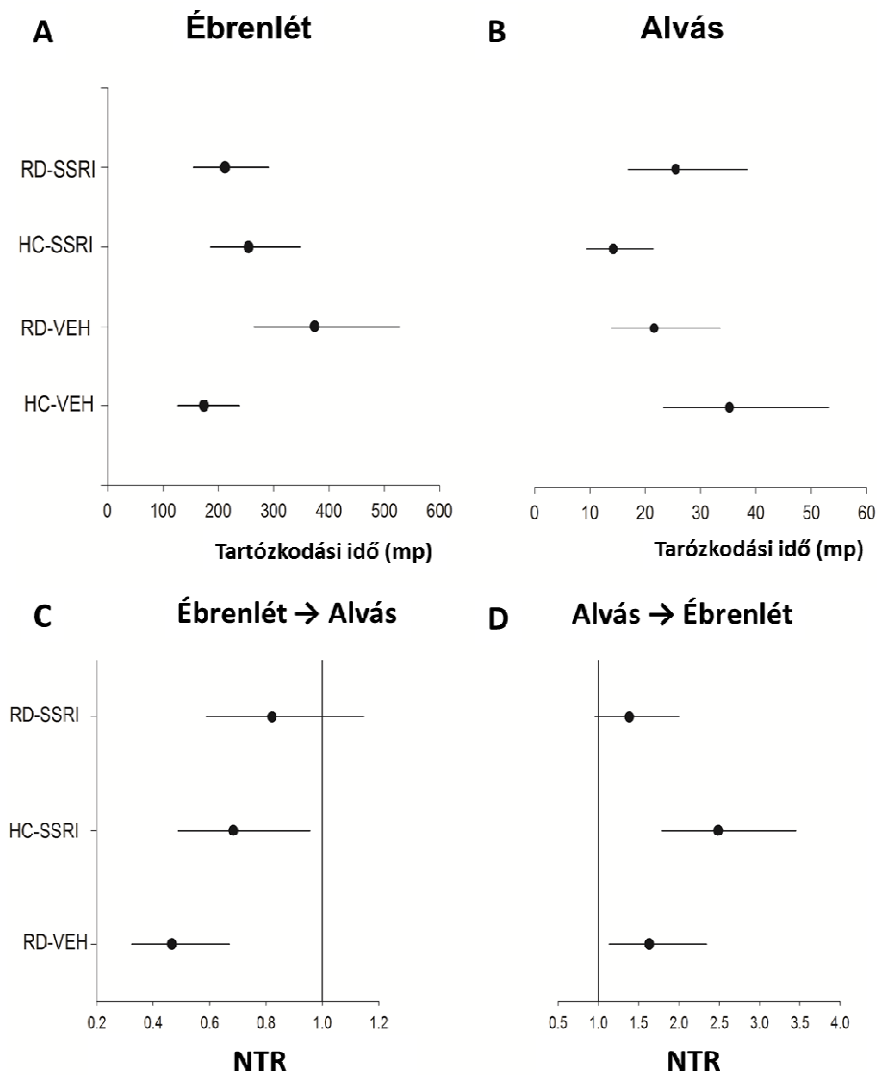
Kezdeti periódus (a visszaalvás első fél órája, 0-2000 mp)

Az ébrenlét és alvás állapotokban való tartózkodási idők és ezen állapotok közötti átváltások sebességei (NTR) a 10. ábrán vannak feltüntetve. A számszerű értékeket és a

statisztikailag szignifikáns változásokat az 5. táblázat foglalja össze. Az eredmények könnyebb megértése érdekében a csoportonkénti tartózkodási idő és NTR értékeket egy sematikus ábrán, irányított gráfok segítségével is ábrázoltam (12. ábra).

Általánosságban elmondható, hogy mind a krónikus escitalopram, mind pedig a REM alvás-megvonás fokozta az ébrenlétet és fragmentálta az alvást, habár együttes alkalmazásuk esetén hatásaik nem összeadódtak, hanem inkább antagonizálták egymást.

Részletesen kifejtve, a REM-megvonáson átesett csoport (RD-VEH) körülbelül 100 %-kal növelte az ébrenlétben tartózkodást (10.A ábra), míg a krónikus escitaloprammal kezelt csoport (HC-SSRI) körülbelül 60 %-kal csökkentette az alvásban tartózkodás idejét (10.B ábra) a kontroll csoporthoz (HC-VEH) képest, mivel konfidencia intervallumaik nem fednek át. Továbbá mind a krónikus SSRI kezelés (HC-SSRI), mind pedig a REM-megvonás (RD-VEH) következtében lelassult az elalvás (10.C ábra; csökkent NTR értékek az ébrenlét→alvás átmenetben) míg az ébredés gyorsult (10.D ábra; emelkedett NTR értékek az alvás→ébrenlét átmenetben). Mivel a HC-SSRI és RD-VEH csoportok konfidencia intervallumai az említett paraméterek esetén nem foglalják magukban az 1-et (a HC-VEH csoport NTR értéke=1), a hatások szignifikánsan különböznek a HC-VEH csoporttól az 5%-os alfa hiba mellett ($p<0,05$). A két intervenció együttes alkalmazásakor, vagyis az RD-SSRI csoportban nem találtunk szignifikáns különbségeket a kontroll csoporthoz képest, sem a tartózkodási időkben, sem pedig a fázisváltási sebességekben.



10. ábra Tartózkodási idő és normalizált fázisátváltási sebesség (NTR) értékek a REM-megvonás utáni 2 órás visszaalvás kezdeti szakaszában (0-2000 mp).

Az ébrenlét (A) és alvás (B) állapotokban való tartózkodási idők becsült átlaga két fázisváltás között, valamint az elalvás (C) és a felébredés (D) kontroll csoportra (HC-VEH) normalizált sebessége (NTR, Normalized Transition Rate; a HC-VEH csoport NTR értéke=1). Minden egyes pont (●) átlag értéket jelent, a vonal szegmensek pedig az átlag körüli 95%-os konfidencia intervallumot jelölik.

Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

5. táblázat Tartózkodási idő és fázisátváltási sebesség (NTR) értékek a REM alvás-megvonás utáni visszaalvás kezdeti szakaszában (0-2000 mp).

Tartózkodási idő: két fázisváltás közötti tartózkodási idők becsült átlaga; Normalizált fázisátváltási sebesség (NTR, Normalized Transition Rate): relatív átváltási sebesség a HC-VEH csoporthoz viszonyítva (a HC-VEH csoport NTR értéke=1) *: szignifikáns ($p<0,05$) hatás a HC-VEH csoporthoz hasonlítva; L és U: a 95%-os konfidencia intervallum alsó (L, Lower limit) és felső (U, Upper limit) határai.

Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

Csoport	Ébrenlét	Alvás				
	Tartózkodási idő (mp)	L	U	Tartózkodási idő (mp)	L	U
RD-SSRI	212.102	155.104	290.046	25.467	16.864	38.460
HC-SSRI	254.713	186.264	348.315	14.176*	9.387	21.408
RD-VEH	374.026*	264.968	527.973	21.609	13.941	33.493
HC-VEH	174.131	127.337	238.122	35.239	23.334	53.216
	Ébrenlét → Alvás	Alvás → Ébrenlét				
	NTR	L	U	NTR	L	U
RD-SSRI	0.821	0.587	1.147	1.384	0.958	1.999
HC-SSRI	0.684*	0.489	0.956	2.486*	1.791	3.450
RD-VEH	0.465*	0.323	0.670	1.631*	1.135	2.343

Stabil periódus (a 2 órás visszaalvási periódus utolsó másfél órája, 2001-7200 mp)

Az ébrenlét, NREM és REM alvás állapotokban való tartózkodási idők és ezen állapotok közötti ugrások sebességei (NTR) a 11. ábrán vannak feltüntetve. A számszerű értékeket és a statisztikailag szignifikáns változásokat a 6. táblázat foglalja össze. Az eredmények könnyebb megértése érdekében a csoportonkénti tartózkodási idő és NTR értékeket egy sematikus ábrán irányított gráfok segítségével is ábrázoltam (12. ábra).

Általánosságban, a krónikus escitalopram kezelés csökkentette a REM-megvonás által okozott csökkenést a REM tartózkodási időben és gyorsította a NREM és REM állapotok közötti átmenet sebességét. Habár az SSRI nem befolyásolta a REM-megvonás után tapasztalt ébrenlét fokozódást.

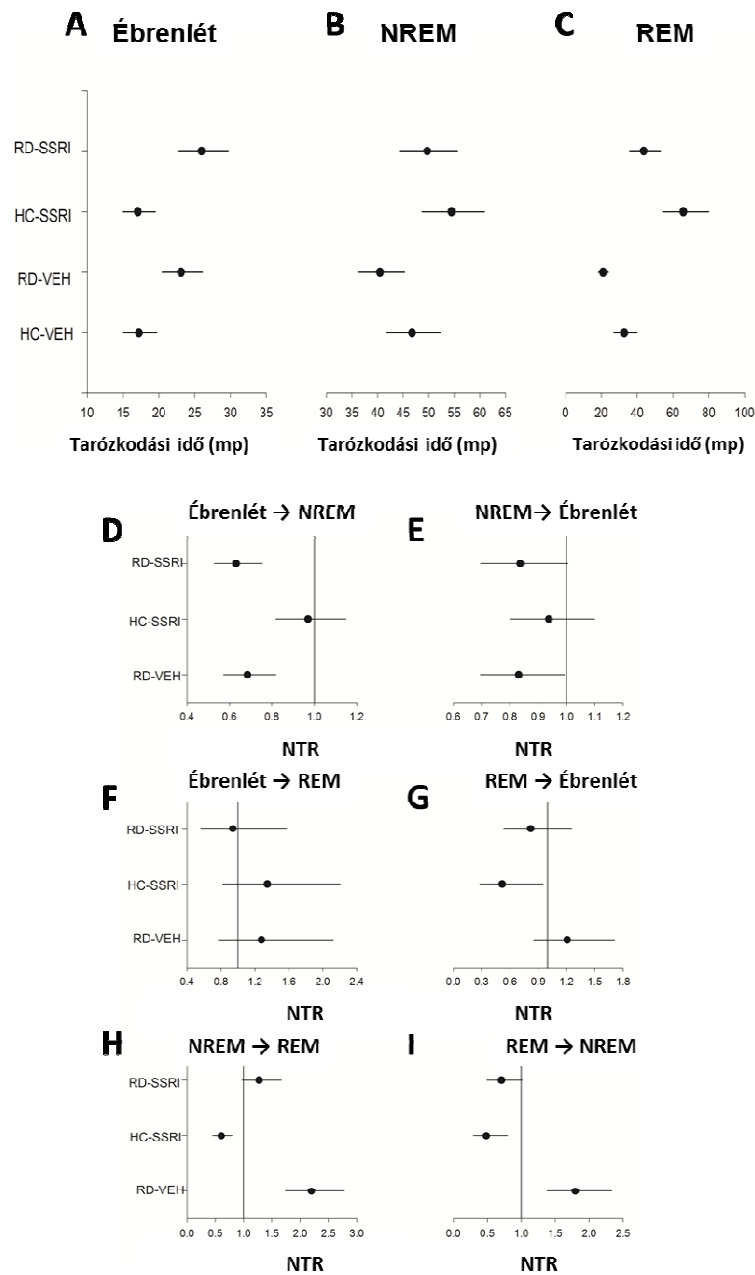
Részletesen kifejtve, a REM-ben tartózkodás ideje (11.C ábra) szignifikánsan csökkent a REM-megvonás (RD-VEH csoport) hatására, valamint megemelkedett a

NREM↔REM fázisok közötti oda-vissza váltások sebessége (11.H-I ábra) a saját ketrecben tartott kontroll csoporthoz (HC-VEH) képest.

Ezzel ellentétben, a krónikus escitalopram kezelés önmagában (HC-SSRI csoport) megduplázta a REM fázisban tartózkodás idejét (11.C ábra), valamint lelassította a NREM↔REM ugrásokat mindkét irányban (11.H-I ábra). Továbbá ugyancsak lelassította a REM-ből ébrenlétbe váltás sebességét (11.G ábra) a vivőanyaggal kezelt kontroll csoporthoz (HC-VEH) képest.

Az krónikus escitalopram kezelésben részesült, REM-megvonáson átesett csoportban (RD-SSRI) fokozott REM tartózkodási időt (11.C ábra) és csökkent NREM↔REM átmeneteket (11.H-I ábra) figyeltünk meg a vivőanyaggal kezelt kontroll csoporthoz (RD-VEH) képest. Továbbá a NREM→REM váltások (11.H ábra) sebessége felgyorsult a saját ketrecben tartott kontroll csoporthoz (HC-SSRI) képest. Az említett paraméterek esetében az RD-SSRI csoport nem különbözik szignifikánsan a HC-VEH csoporttól.

Az ébrenlét állapotának tekintetében, az ébren töltött idő (11.A ábra) szignifikánsan megemelkedett REM-megvonás után, mind az escitaloprammal, mind a vivőanyaggal kezelt csoportok esetében a megfelelő, saját ketrecben tartott kontroll csoporthoz viszonyítva (RD-SSRI vs. HC-SSRI; RD-VEH vs. HC-VEH). Továbbá REM alvás-megvonás után csökkent az elalvás sebessége (Ébrenlét→NREM, 11.D ábra; RD-SSRI vs. HC-SSRI és HC-VEH; RD-VEH vs. HC-VEH), az RD-VEH csoportban pedig lelassult az ébredés (NREM→ébrenlét, 11.E ábra) a HC-VEH csoporthoz viszonyítva.



11. ábra Tartózkodási idő és normalizált fázisátváltási sebesség (NTR) értékek a REM-megvonás utáni 2 órás visszaalvás stabil szakaszában (2001-7200 mp).

Ébrenlét (A), NREM (B) és REM alvás (C) állapotokban való tartózkodási idők becsült átlaga két fázisváltás között, valamint az ébrenlétből NREM-be (D), NREM-ből ébrenlétbe (E), ébrenlétből REM-be (F), REM-ből ébrenlétbe (G), NREM-ből REM-be (H) és REM-ből NREM-be (I) ugrások sebességének kontroll csoportra (HC-VEH) normalizált értéke (NTR; a HC-VEH csoport NTR értéke 1). Minden egyes pont (●) átlag értéket jelent, a vonal szegmensek pedig az átlag körüli 95%-os konfidencia intervallumot jelölik.

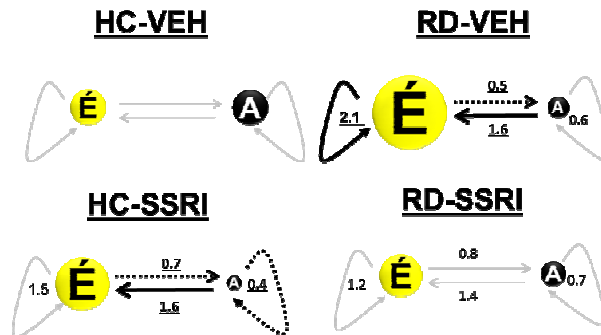
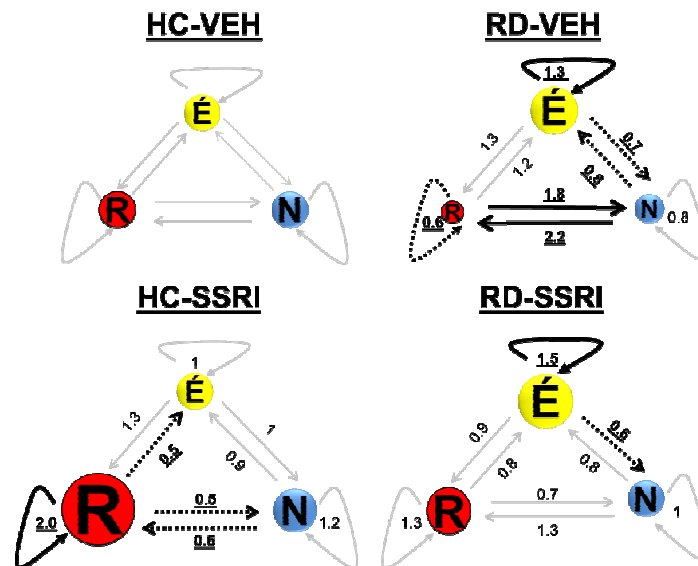
Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

6. táblázat Tartózkodási idő és normalizált fázisátváltási sebesség (NTR) értékek a REM alvás-megvonás utáni visszaalvás stabil szakaszában (2001-7200 mp).

Tartózkodási idő: két fázisváltás közötti tartózkodási idők becslött átlaga; Normalizált fázisátváltási sebesség (NTR, Normalized Transition Rate): relatív átváltási sebesség a HC-VEH csoporthoz viszonyítva (a HC-VEH csoport NTR értéke=1); *: szignifikáns ($p < 0,05$) hatás a HC-VEH csoporthoz hasonlítva; #: szignifikáns ($p < 0,05$) hatás a HC-SSRI csoporthoz hasonlítva; &: szignifikáns ($p < 0,05$) hatás a RD-VEH csoporthoz hasonlítva; L és U: a 95%-os konfidencia intervallum alsó (L, lower limit) és felső (U, upper limit) határai;

Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

Csoport	Ébrenlét			NREM alvás			REM alvás		
	Tartózkodási	L	U	Tartózkodási	L	U	Tartózkodási	L	U
	idő (mp)			idő (mp)			idő (mp)		
RD-SSRI	25,939 [#]	22,668	29,681	49,719	44,440	55,625	43,633 ^{#&}	35,921	53,001
HC-SSRI	17,051	14,901	19,511	54,452	48,670	60,921	65,816 [*]	54,183	79,946
RD-VEH	23,081 [*]	20,442	26,061	40,459	36,157	45,273	20,999 [*]	18,379	23,994
HC-VEH	17,199	15,031	19,681	46,758	41,793	52,312	32,844	27,039	39,896
	Ébrenlét→NREM			NREM→Ébrenlét					
	NTR	L	U	NTR	L	U			
RD-SSRI	0,631 ^{*#}	0,528	0,755	0,836	0,696	1,005			
HC-SSRI	0,970	0,819	1,150	0,938	0,800	1,099			
RD-VEH	0,685 [*]	0,573	0,819	0,831 [*]	0,695	0,993			
	Ébrenlét→REM			REM→Ébrenlét					
	NTR	L	U	NTR	L	U			
RD-SSRI	0,940	0,562	1,573	0,820	0,535	1,255			
HC-SSRI	1,347	0,822	2,206	0,518 [*]	0,282	0,951			
RD-VEH	1,277	0,768	2,123	1,208	0,853	1,710			
	NREM→REM			REM→NREM					
	NTR	L	U	NTR	L	U			
RD-SSRI	1,274 ^{#&}	0,975	1,665	0,709 ^{&}	0,497	1,013			
HC-SSRI	0,605 [*]	0,453	0,806	0,486 [*]	0,297	0,796			
RD-VEH	2,198 [*]	1,739	2,779	1,796 [*]	1,382	2,334			

Kezdeti periódus**Stabil periódus**

12. ábra A Markov-láncok sematikus ábrázolása a kezdeti (0-2000 mp) és a stabil (2001-7200 mp) periódusban.

A számadatok a fázisokban való normalizált tartózkodási idők (hajlított vonalak) és a fázisátváltási sebességek (NTR, egyenes vonalak) becsült átlagát prezentálják az egyes kezelési csoportokban a HC-VEH csoportra vonatkoztatva (tartózkodási idő és NTR értékek a HC-VEH csoportban=1). A körök mérete alkalmazkodik az adott vigilanciafázisban való tartózkodási időkből mért változások mértékéhez a HC-VEH csoporthoz képest. A vastag, folyamatos nyilak a szignifikáns növekedést, míg a szaggatott vonalak a szignifikáns csökkenést reprezentálják a HC-VEH csoport megfelelő értékeihez képest. A szignifikáns változásokhoz tartozó számszerű értékeket vastag, aláhúzott karakterek is jelölik.

Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

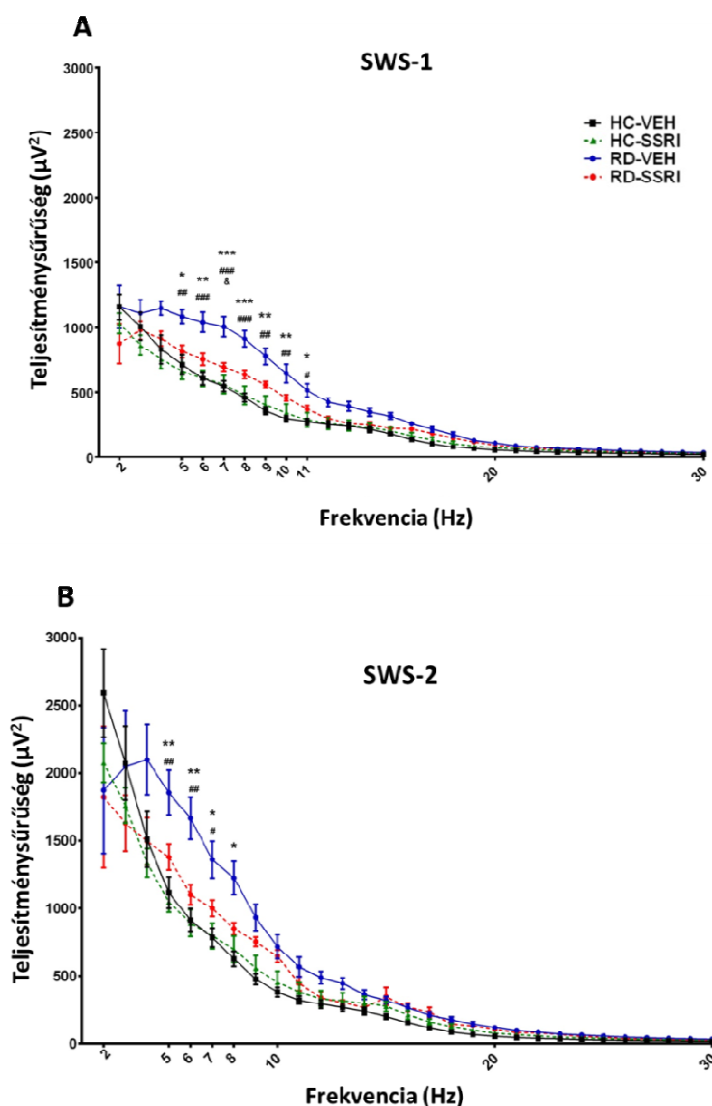
5.1.3 Az EEG teljesítménysűrűség spektrum, Q-EEG

A REM alvás-megvonás (RD-VEH csoport) markáns emelkedést okozott a theta hullámok (5-9 Hz) teljesítménysűrűségében a felszínes (SWS-1, alvás-megvonás hatás: $F_{1,23}=29,92$; $p<0,0001$) és a mély lassú hullámú alvás stádiumaiban (SWS-2, alvás-megvonás hatás: $F_{3,23}=21,33$; $p<0,001$) a HC csoportokhoz képest (a szignifikáns Tukey post hoc összehasonlítások a 13. A és B ábrán vannak prezentálva).

A krónikus SSRI adagolás megelőzte az REM-megvonás fent említett hatásait mindkét fázisában (SWS-1: kezelés hatás: $F_{1,23}=6,42$; $p<0,05$; kezelés x alvás-megvonás interakció: $F_{1,23}=6,94$; $p<0,05$; Tukey post hoc szignifikancia RD-VEH és RD-SSRI csoportok között 7 Hz-nél; SWS-2: kezelés hatás: $F_{1,23}=4,25$; $p=0,0506$; kezelés x alvás-megvonás interakció: $F_{1,23}=4,93$; $p<0,05$; frekvencia x kezelés interakció: $F_{4,92}=4,93$; $p<0,01$; frekvencia x alvás-megvonás interakció: $F_{4,92}=3,66$; $p<0,01$).

Továbbá az alvás-megvonás fokozta az alfa frekvenciák (10-13 Hz) teljesítménysűrűségét SWS-1-ben (alvás-megvonás hatás: $F_{1,23}=13,64$; $p<0,05$, szignifikáns post hoc teszt az RD-VEH és HC-VEH, valamint az RD-VEH és HC-SSRI csoportok között 10 és 11 Hz-nél, 13.A ábra). Ezt a hatást a krónikus escitalopram kezelés kivédte, mivel interakció mutatkozott a kezelés és az alvás-megvonás hatásai között ($F_{1,23}=4,35$; $p<0,05$). Továbbá interakciót figyeltünk meg a frekvenciák és az alvás-megvonás faktorok között is ($F_{3,69}=18,45$, $p=0,0000$).

A vizsgált frekvencia tartományban (2-60 Hz) nem találtunk szignifikáns eltéréseket az AW, PW, IS és REM stádiumok teljesítménysűrűség spektrumaiban.



13. ábra Az EEG teljesítménysűrűség (Q-EEG) spektrum a REM alvás-megvonás utáni visszaalvás összegzett első 2 órájában a lassú hullámú alvás stádiumaiban.

A théta (5-9 Hz) és alfa (10-13 Hz) hullámok teljesítménysűrűsége a felszínes (SWS-1) (A) és a mély lassú hullámú alvás (SWS-2) (B) során. Az ábrák az átlagokat és a standard hiba értékeket (SEM) prezentálják, csoportonként 6-7 állat adatainak felhasználásával. *, ** és ***: szignifikáns ($p < 0,05$, $p < 0,01$ és $p < 0,001$) Tukey post hoc hatások az RD-VEH és a HC-VEH csoportok között; #, ## és ###: szignifikáns ($p < 0,05$, $p < 0,01$ és $p < 0,001$) Tukey post hoc hatások az RD-VEH és a HC-SSRI csoportok között. &: szignifikáns ($p < 0,05$) Tukey post hoc hatás az RD-SSRI és a RD-VEH csoportok között;

Csoportok: saját ketreces tartás, krónikus vivőanyag kezelés (HC-VEH); saját ketreces tartás, krónikus escitalopram kezelés (HC-SSRI); REM alvás megvonás, krónikus vivőanyag kezelés (RD-VEH); REM alvás megvonás, krónikus escitalopram kezelés (RD-SSRI);

5.2 Escitalopram-5-HT_{2C} kísérlet

5.2.1 Az EEG teljesítménysűrűség spektrum, Q-EEG

Aktív ébrenlét (AW)

Az ismétlés nélküli, kétszemponos ANOVA statisztikák alapján a krónikus escitalopram előkezelés nem befolyásolta az SB-242084 théta teljesítmény növelő hatását az AW második (14.A ábra) és harmadik (14.B ábra) órájában, mivel a szignifikáns kezelés hatások (2. óra: $F_{1,20}=22,54$, $p<0,001$; 3. óra: $F_{1,20}=12,95$, $p<0,01$) mellett nem volt szignifikáns interakció az előkezelés és a kezelés hatások között (2.óra: $F_{1,20}=0,09$, $p=0,7623$; 3. óra: $F_{1,20}=1,45$, $p=0,2405$). A Tukey post hoc összehasonlítások alapján az SB-242084 kezelés fokozta a théta hullámok teljesítménysűrűségét (2. óra: VEH+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,05$ és SSRI+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,05$; 3. óra: VEH+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,05$ és SSRI+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,05$).

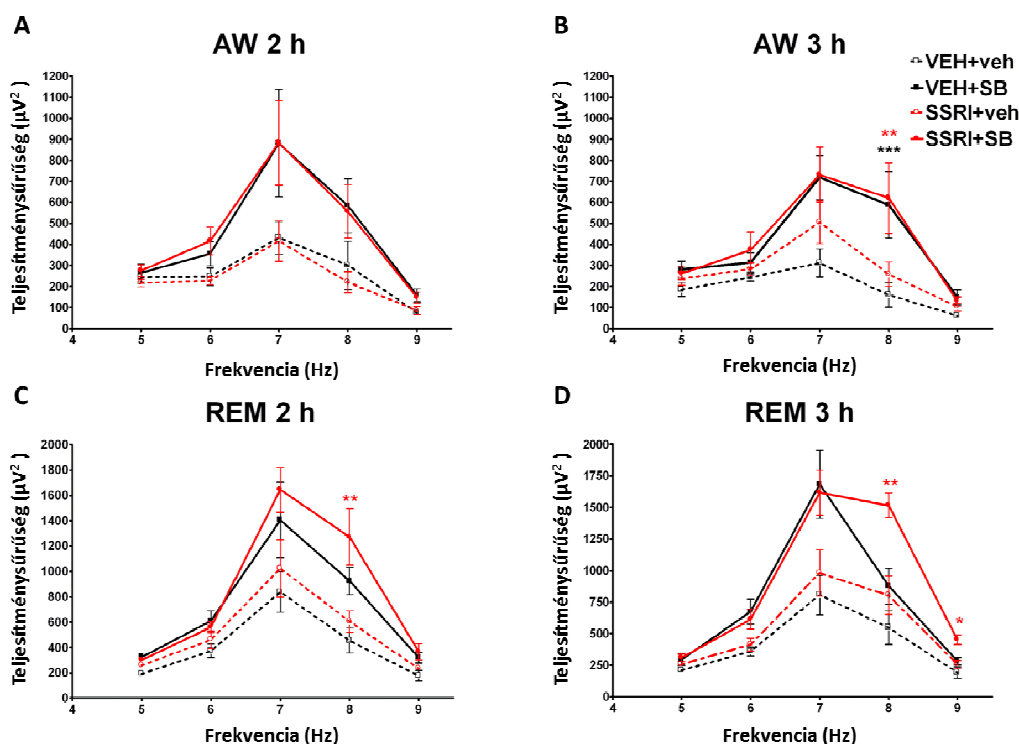
Továbbá az ismétléses (ismétléses faktor: frekvencia), kétszemponos ANOVA statisztikák alapján az 5-HT_{2C} receptor antagonistával kezelt csoportokban (VEH+SB és SSRI+SB) a felvétel harmadik órájában 8 Hz-nél jelentkezett a legprominensebb emelkedés a VEH+veh csoporthoz képest (kezelési csoport hatás: $F_{3,21}=4,80$, $p<0,01$; a szignifikáns post hoc különbségek a 14.B ábrán láthatók).

Az AW első órájában nem találtunk szignifikáns különbségeket.

REM alvás

Az ismétlés nélküli, kétszemponos ANOVA statisztikák alapján a krónikus escitalopram előkezelés nem befolyásolta az SB-242084 théta teljesítmény növelő hatását a REM alvás második (14.C ábra) és harmadik (14.D ábra) órájában, mivel a szignifikáns kezelés hatások (2. óra: $F_{1,20}=14,74$, $p<0,01$; 3. óra: $F_{1,20}=17,78$, $p<0,001$) mellett nem volt szignifikáns interakció az előkezelés és a kezelés faktorok között (2.óra: $F_{1,20}=0,05$, $p=0,8283$; 3. óra: $F_{1,20}=0,04$, $p=0,8394$). A Tukey post hoc összehasonlítások alapján az SB-242084-kezelt csoportok jelentősen fokozták a théta hullámok teljesítménysűrűségét (2. óra: VEH+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,05$ és SSRI+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,05$; 3. óra: VEH+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,05$ és SSRI+SB vs. VEH+veh csoport: $p<0,01$).

Továbbá az ismétléses (ismétléses faktor: frekvencia), kétszemponos ANOVA statisztikák alapján a legnagyobb emelkedés az SSRI+SB csoportban jelentkezett 8 Hz-nél a REM második órájában a VEH+veh csoporthoz képest (kezelési csoport hatás: $F_{3,20}=5,95$, $p<0,01$; a szignifikáns post hoc különbség a 14.C ábrán láthatók). Ugyanebben a csoportban a felvétel harmadik órájában 8 és 9 Hz-eknél figyeltünk meg jelentős θ emelkedést (kezelési csoport hatás: $F_{3,20}=6,46$, $p<0,01$, kezelési csoport x frekvencia interakció: $F_{12,80}=2,36$, $p<0,01$; a szignifikáns post hoc különbségek a 14.D ábrán vannak feltüntetve).



14. ábra A θ frekvenciák (5-9 Hz) teljesítménysűrűség spektruma az SB-242084 kezelést követő második és harmadik órában aktív ébrenlét (AW; A, B) és REM (C, D) fázisokban.

Az ábrák az átlagokat és a standard hiba értékeket (SEM) prezentálják csoportonként 6-7 állat adatainak felhasználásával. * és **: szignifikáns különbségek ($p<0,05$ és $p<0,01$) a Tukey post hoc tesztek alapján az SSRI+SB és VEH+veh csoportok között; ***: szignifikáns különbség ($p<0,001$) a Tukey post hoc teszt alapján az VEH+SB és VEH+veh csoportok között;

Csoportok: krónikus vivőanyag előkezelés, akut vivőanyag kezelés (VEH+veh); krónikus vivőanyag előkezelés, akut SB-242084 kezelés (VEH+SB); krónikus escitalopram előkezelés, akut vivőanyag kezelés (SSRI+veh); krónikus escitalopram előkezelés, akut SB-242084 kezelés (SSRI+SB);

PW, SWS-1, SWS-2 és IS stádiumokban sem a krónikus escitalopram, sem pedig az SB-242084 kezelés nem befolyásolta szignifikánsan a Q-EEG spektrumot.

6 Megbeszélés

6.1 Escitalopram-Rebound kísérlet

REM és NREM alvás

Eredményeinket összefoglalva, a Markov-lánc analízis alapján kapott adatok azt mutatták, hogy a REM alvás-megvonás REM fragmentációt okozott (a REM-ben tartózkodás ideje csökkent; megduplázódott a NREM és REM fázisok közötti átváltások sebessége). Ezzel ellentétben a krónikus escitalopram kezelés elnyújtotta a REM epizódokat (fokozódott a REM-ben tartózkodás ideje; lassultak a NREM és REM fázisok közötti ugrások), és kivédte az alvás-megvonás után jelentkező változásokat (11.C, H-I ábra, 6. táblázat). A hagyományos alvásanalízis alapján REM-megvonás után REM rebound jelentkezett (a REM-ben töltött összes idő nőtt; a REM látencia csökkent), és csökkent a NREM alvás ideje, mely változásokat a krónikus SSRI kezelés nem befolyásolt szignifikánsan (8. A, D és 9. ábra, 4. táblázat).

A REM alvás szabályozását illetően, a REM kiváltásáért felelős hídi kolinerg neuronok (REM-on) és az őket gátló monoaminerg (REM-off) sejtek kölcsönös oda-vissza gátló kapcsolatban vannak (Thakkar és mtsai, 1998). Az irodalmi adatok alapján REM alvás-megvonás után magasabb a kolinerg és alacsonyabb a szerotonerg neuronok aktivitása (Mallick és mtsai, 1990, Maloney és mtsai, 2000). Továbbá számos bizonyíték alátámasztja, hogy a depresszió a kolinerg tónus fokozódásával, valamint a szerotonerg neurotranszmisszió csökkenésével áll kapcsolatban. Ezek alapján valószínűsíthető, hogy a fenti rendszerek közötti egyensúly felborulása lehet felelős a depressziósokban előforduló REM zavarokért (Adrien, 2002). Eredményeinkkel összhangban, a krónikus (21 napos) enyhe stressz fokozta a REM alvásba való átmenetek számát (Cheeta és mtsai, 1997). Továbbá laboratóriumunk egyik korábbi munkája alapján, amikor a „flower pot” metodika során egy nagyobb porondot is alkalmaztunk stressz kontrollként (mérete elég nagy ahhoz, hogy az állat REM-ben ne essen le róla), megállapítottuk, hogy míg a REM-visszacsapásért főleg a REM alvás hiánya, a REM fragmentációjáért inkább a metodika során fellépő erős stressz lehet a felelős (Kitka és mtsai, 2009).

Eredményeink alapján tehát azt feltételezzük, hogy a REM-megvonás után felhalmozódott REM alvás-igény eltolhatja a REM-on és REM-off neuronok közötti viszonylagos egyensúlyt, és felelős lehet a felgyorsult NREM↔REM ugrásokért. Továbbá az SSRI kezelés után tapasztalt ellentétes irányú fázisváltási folyamatok a centrális szerotonerg tónus ellentétes irányú változásának lehetnek a következményei, vagyis escitalopram kezelés után emelkedett, REM-megvonás után pedig csökkent. Mivel az SSRI kezelésben részesült állatokban REM-megvonás után normalizálódtak a REM ugrások, feltételezhetjük, hogy a szerotonerg és a kolinerg rendszerek közötti egyensúly helyreállt.

Az alvásparáméterek hagyományos statisztikai analízise alapján a REM alvás-megvonás a REM epizódok darabszámának enyhe fokozása révén megnövelte a REM alvásban töltött összes időt, valamint csökkentette a REM látencia idejét (8.A, D ábra) és a NREM alvásban töltött összes időt (9.A ábra). Ezek az eredmények összhangban vannak a korábbi tanulmányokkal (Machado és mtsai, 2006, Kitka és mtsai, 2009). Egyes publikációk szerint az emelkedett REM epizódok szám és a csökkent REM látencia a stressz nem-specifikus következményei (Gronli és mtsai, 2004, Machado és mtsai, 2006, Kitka és mtsai, 2009, Kimura és mtsai, 2010). Továbbá a stressz oka lehet a NREM szupresszió is (Ehlers és mtsai, 1986, Holsboer és mtsai, 1988, Machado és mtsai, 2010). Egyes szerzők azonban emelkedést találtak a REM epizódok hosszában is [a 72 órás REM-megvonás utáni visszaalvás első 3 (Katai és mtsai, 2013) és 2-24 órájában (Kitka és mtsai, 2009); 2 napon keresztül tartó, napi 18 órás REM-megvonás után a visszaalvás első 6 órájában (Machado és mtsai, 2006)]. A fenti esetekkel ellentétben mi nem találtunk szignifikáns emelkedést a REM epizódok átlagos hosszában; valójában tendencia mutatkozott a csökkenés irányába. Mivel a REM epizódok hosszának csökkenését kimutatták a kortikotropin felszabadító hormon intracerebroventrikuláris injekciója után is (Machado és mtsai, 2010), valószínűsíthető, hogy a stressz negatívan befolyásolja ezt a paramétert. Továbbá elképzelhető, hogy a REM epizódhossz fokozódás inkább a REM-megvonás, nem pedig a stressz specifikus következménye. A fenti eredményeket összegezve ugyanis elég valószínű, hogy a REM alvás-megvonás utáni első 2 órában a stressz játssza a fő szerepet az alvásszabályozásban. Megjegyzendő azonban, hogy egyes tanulmányokban az úgynevezett rövid REM „próbálkozásokat” nem vették figyelembe a REM epizódok

hosszának meghatározásakor, vagyis kizártak minden olyan REM epizódot, ami 16 másodpercnél rövidebb volt, illetve ha az adott REM szakaszt 16 másodpercnél hosszabb egyéb stádium szakította meg (Kitka és mtsai, 2009, Katai és mtsai, 2013). A rövid REM szakaszok kizárásának oka, hogy ezek feltételezhetően nem tekinthetők stabil REM állapotnak, valamint a REM-et megszakító egyéb, rövid időtartamú vigilanciafázisok sem tekinthetők egy másik, teljes ciklus részének (Gandolfo és mtsai, 1996, Vyazovskiy és mtsai, 2007). Így adatainkat a fenti definíció alapján is kiértékeljük, és a korábbi tanulmányokhoz hasonlóan tendencia mutatkozott a REM epizódhossz növekedésre (ezek az adatok nem szerepelnek a dolgozatban). Véleményünk szerint azonban ez az eredmény nem tükrözné a valós biológiai folyamatokat, hiszen összevetve a Markov-analízis REM fragmentációra utaló eredményeivel, a rövid REM „próbálkozásoknak” patológiás jelentősége lehet REM-megvonás után. Továbbá a szakirodalmi adatok alapján nem zárhatjuk ki annak a valószínűségét sem, hogy a kísérletünkben vizsgált kétórás időintervallum túl kevés volt ahhoz, hogy a REM-megvonás hatása a REM epizódhossz szintjén is manifesztálódjon.

A NREM alvással kapcsolatban meg kell említenünk, hogy az általunk alkalmazott kis-porondos „flower pot” metodika esetében a REM alvás mellett NREM alvás-megvonás is bekövetkezhet, ami NREM-visszacsapásban jelentkezne a visszaalvás során (Grahnedt és Ursin, 1985). Laboratóriumunk egy korábbi közleményében beszámoltunk arról, hogy a háromnapos „flower pot” procedúrát követően a patkányok valóban több időt töltöttek a lassú hullámú alvás stádiumaiban a saját ketrecben tartott kontroll csoporthoz képest, de ezt az emelkedést nem közvetlenül a megvonás után (passzív fázis kezdete) mutattuk ki, hanem az aktív fázisban (12-24 órával később). A REM-megvonás utáni 2-6 órában viszont csökkenés mutatkozott a lassú hullámú alvásban (Kitka és mtsai, 2009), mely összhangban van ezen dolgozat eredményeivel.

A krónikus escitalopram kezelés önmagában csak enyhe változásokat okozott a REM alvás paraméterekben, mely megegyezik a korábbi vizsgálatok eredményeivel (Wilson és Argyropoulos, 2005). Továbbá az SSRI kezelés nem ellensúlyozta a REM-megvonáson átesett állatokban jelentkező REM-visszacsapást (8.A, D ábra). Ez akut adagolás esetén nem igaz, mivel egy korábbi vizsgálatunkban kimutattuk, hogy az escitalopram (10 mg/kg, i.p) közvetlenül a háromnapos REM-megvonás után adagolva csökkentette a REM-visszacsapást (REM alvásban töltött összes idő csökkent, REM

látencia nőtt) a visszaalvás első három órájában (Katai és mtsai, 2013). Tehát az akut escitalopram kezelés az erős REM nyomás ellenére megakadályozta a visszacsapást, viszont jelen vizsgálat eredményei alapján ez a hatás krónikus adagolást követően megszűnik. Nem új keletű az a megállapítás, hogy az SSRI antidepresszánsok tipikus REM-csökkentő hatása krónikus adagolás után megszűnik (Wilson és Argyropoulos, 2005), azonban előttünk még senki nem mutatta ki, hogy ez REM alvás-megvonás után is érvényes. A SSRI-k REM csökkentő hatásának megszűnéséért minden bizonnyal a posztzinaptikus 5-HT_{1A} receptorok adaptációja tehető felelőssé. Továbbá a szomatodendritikus 5-HT_{1A} autoreceptorok deszenzitizációja közrejátszhat az SSRI kezelés és az alvás-megvonás terápiás hatásának kialakulásában is (Chaput és mtsai, 1986, Blier és mtsai, 1987, Jolas és mtsai, 1994, Maudhuit és mtsai, 1996, Prevot és mtsai, 1996).

Ébrenlét

A Markov-lánc analízis alapján a REM-megvonást követő visszaalvás első fél órájában (kezdeti periódus) még egyértelműen az ébrenlét dominált, vagyis gyorsabb a felébredés, az ébrenlétben tartózkodás ideje emelkedett, az elalvás pedig lassabb; tehát az alvás még nem stabil. A krónikus SSRI kezelés hasonló hatásokat okozott az alvás↔ébrenlét paramétereken és a tartózkodási időkben. Érdekes módon az SSRI-vel kezelt, REM-megvonáson átesett csoport esetében a hatások antagonistikus kölcsönhatását figyeltük meg, vagyis az ébrenlét további fokozódása helyett a kontroll csoporttól (HC-VEH) szignifikánsan nem különböző értékeket kaptunk (10. ábra, 5. táblázat).

Eredményeinkkel összhangban, a hosszú távú (72-92 órás) alvás-megvonást követő fél órában agresszivitást, hiperaktivitást, irritabilitást és hiperszexualitást figyeltek meg rágcsálókban, feltételezve, hogy ez az állapot alkalmas a stressz-indukálta inszomnia kutatására (Gessa és mtsai, 1995). Egyes tanulmányok szerint a stressz hatások után jelentkező inszomniáért a hypothalamus-hipofízis tengely aktiválódása lehet a felelős (Ehlers és mtsai, 1986, Chang és Opp, 2001). Szintén eredményeinket támasztja alá, hogy az öt napos citalopram kezelés (2 nappal a REM-megvonás előtt kezdve) visszafordította a 72 órás REM-megvonást („flower pot” módszer) követő szorongás-szerű viselkedését egerekben (Garg és Kumar, 2008). Továbbá kimutatták, hogy egyes antidepresszánsok krónikus kezelés után csökkentik a hypothalamus-hipofízis rendszer

aktivációját depressziósokban és tartós stressznek kitett patkányokban (Duncan és mtsai, 1996, Connor és mtsai, 2000, Deuschle és mtsai, 2003, Hill és mtsai, 2006). Az irodalmi adatok és eredményeink alapján tehát feltételezhető, hogy az antidepresszáns kezelés a stressz csökkentése révén ellensúlyozhatta a REM-megvonást után jelentkező aktivitásfokozódást.

A kezdeti fázissal ellentétben, az SSRI nem akadályozta meg az alvás-megvonást követő ébrenlét fokozódást a stabil fázisban (nő az ébrenlétben tartózkodási idő, csökkent az ébrenlét→NREM alvás átmenet; 11.A, D ábra). Ezen ellentmondás lehetséges oka, hogy amíg az ébrenlét fokozódását a kezdeti fázisban főleg a stressz okozta, a stabil fázisban a REM-megvonás hatása dominált. Habár vizsgálatunk korlátai miatt (például a nagy porond, mint stressz kontroll alkalmazásának, vagy a szorongás-szerű viselkedés vizsgálatának hiánya) határozott konklúziót nem tudunk levonni. Továbbá megemlítendő, hogy a REM-megvonás a szerotonerg neurotranszmisszió mellett egyéb monoaminerg rendszerek működését is befolyásolja (Longordo és mtsai, 2009), melyek ugyancsak részt vesznek az ébrenlét kiváltásában, de az escitalopram nem, vagy csak közvetve képes rájuk hatást gyakorolni.

A hagyományos alvásparaméterekben nem találtunk olyan változást, mely az ébrenlét markáns fokozódását, vagy az alvás fragmentációját jelezte volna (4. táblázat), ami összhangban van a korábbi eredményekkel (Machado és mtsai, 2004, Kitka és mtsai, 2009, Katai és mtsai, 2013).

Q-EEG

Az alvás kvantitatív analízisének eredményei alapján, REM-megvonás után erősen fokozódott a theta-hullámok (5-9 Hz) teljesítménysűrűsége lassú hullámú alvásban (SWS-1 és SWS-2), SWS-1-ben pedig az alfa frekvenciák (10-13 Hz) is megemelkedtek. Ezeket hatásokat a krónikus escitalopram kezelés kivédte (13. ábra).

A theta ritmus elsősorban az ébrenléti figyelem és REM alvás állapotában jellemző (Véserwolf, 1969, Winson, 1972); továbbá ezek a frekvenciák megfigyelhetők a lassú hullámú alvás alatt jelentkező alvási orsókban. Az alvási orsók 6-15 Hz frekvenciájú jelek, melyek jellegzetes formával (amplitúdójuk először nő, majd csökken) rendelkeznek (Kantor és mtsai, 2002, Steriade, 2006). Az alvási orsók a thalamo-kortikális és kortikális neuronális körök hiperpolarizációjától és szinkronizációjától függenek, valójában a thalamo-kortikális gátlás eredményei, ami a szenzoros

információáramlás csökkenéséhez, így az alvás folyamatossá tételéhez járul hozzá. Az alvási orsók, mint fázisos jelenségek, minden bizonnyal az ébredés irányába való eltolódást jelentik; az ébrenlét elnyújtása pedig fokozza az orsóaktivitást. Eredményeinkkel összhangban emelkedett θ aktivitást találtak a NREM alvás stádiumaiban, újszülött korban kломipraminnal kezelt patkányokban. Ezt az eljárást a depresszió egyik rágcsló modelljeként tartják számon a szakirodalomban, melyben a „flower pot” metodikához hasonlóan a fokozott REM mennyiség és a rövidebb REM látencia szintén megfigyelhető (McDowell és mtsai, 2012). A NREM alvás alatt bekövetkező θ emelkedést a nyugtalan alvással hozták összefüggésbe, aminek a hátterében csökkent monoaminerg jelátvitelt feltételeztek (Kesic és mtsai, 2011). Mivel eredményeink alapján az escitalopram kivédte a θ hullámok emelkedését SWS-ben, feltételezhető, hogy ez a farmakoterápia képes csökkenteni a depresszió egyes állatmodelljeire jellemző azon változókat, melyek az alvás minőségének romlását jelezhetik. Valamint, ha a REM alvás megvonásakor depriváljuk az ekkor jellemző θ hullámokat, annak a valószínűsége sem zárható ki, hogy a visszaalvás során ez a hiány θ -visszacsapásban manifesztálódik a lassú hullámú alvás során.

6.2 Escitalopram-5-HT_{2C} receptor kísérlet

Az EEG teljesítmény-sűrűség spektrum analízis alapján az SB-242084 megemelte a θ hullámok (5-9 Hz) teljesítményét az aktív ébrenlét (AW) és REM fázisok második és harmadik órájában (14. ábra). A legnagyobb emelkedést 8 Hz-nél találtuk az AW harmadik órájában (14.B ábra).

Ezek az eredmények összhangban vannak a korábbi vizsgálatokkal (Hajos és mtsai, 2003, Kantor és mtsai, 2005, Sorman és mtsai, 2011), melyek a θ -emelkedést az SB-242084 GABA-erg neuronokra kifejtett diszinhíbiós hatásának tulajdonították. Habár ezek a tanulmányok a θ oszcillációk fokozódását elsősorban ébrenlét során tapasztalták, jelen vizsgálat REM alvásban is kimutatta ugyanezt. Felmerülhet a kérdés, hogyan okozhat θ emelkedést egy szerotonerg antagonistá REM fázis alatt, amikor a szerotonerg aktivitás minimális. Az 5-HT_{2C} receptorok magas konstitutív aktivitása (Deurwaerdere és mtsai, 2004), valamint az SB-242084 inverz agonista tulajdonsága (Chanrion és mtsai, 2008) lehetséges magyarázatot adhatnak erre a problémára. A krónikus escitaloprammal előkezelt állatokban az SB-242084 θ fokozó hatása

ugyancsak megfigyelhető volt AW és REM fázisokban. Az AW fázisban tapasztalat prominens θ emelkedés 8 Hz-nél mindkét SB-242084-kezelt csoportban jelentkezett (14.B ábra), míg a REM alvás esetében csupán az escitaloprammal előkezelt csoportban (14.C, D ábra).

Széles körben elfogadott az az elmélet, mely szerint az SSRI antidepresszánsok terápiás hatása az axonterminálisok közelében tartósan megemelkedett extracelluláris 5-HT koncentráció következtében végbemenő adaptív receptoriális változások eredménye. Az 5-HT_{2C} receptorokat érintő változások tekintetében azonban nem egységes az irodalom. Korábban már beszámoltak a krónikus antidepresszáns kezelés hatására végbemenő 5-HT_{2C} receptor funkciók csökkenéséről, például az *m*-CPP-vel kiváltott szorongás (Bristow és mtsai, 2000, Kantor és mtsai, 2000, Bagdy és mtsai, 2001) és hipoaktivitás (Kennedy és mtsai, 1993, Yamauchi és mtsai, 2004) esetében. Továbbá a receptor denzitásának csökkenését is megfigyelték (Pranzatelli és mtsai, 1993, Pranzatelli és Tailor, 1994, Fone és mtsai, 1998). Azonban eredményeinkkel összhangban, más kutatások nem találtak változást az 5-HT_{2C} receptor-mediálta funkciókban krónikus antidepresszáns kezelést követően. Ilyenek például az *m*-CPP indukálta plazma kortikoszteron szint emelkedés (Ulrichsen és mtsai, 1992), a hipofágia (Fone és mtsai, 1998) és a pénisz-erekció (Berendsen és Broekkamp, 1991). Valamint nem mutattak ki eltérést a receptorok denzitásában sem (Ulrichsen és mtsai, 1992, Fone és mtsai, 1998). Továbbá a krónikus escitalopram kezelés eltérő adaptációt okozott az SB-242084 alvásra gyakorolt hatásaiban is, vagyis míg funkció csökkenés mutatkozott REM alvásban, addig az ébrenléti paraméterekre gyakorolt hatások változatlanok maradtak (Kostyalik és mtsai, 2014a). A csökkenő vagy változatlan funkciók és denzitás mellett egyes szerzők az 5-HT_{2C} receptor-mediálta funkcionális és viselkedési válaszok (Li és mtsai, 1993, Aulakh és mtsai, 1995), valamint a receptor denzitás (Ulrichsen és mtsai, 1992, Hrdina és Vu, 1993, Fone és mtsai, 1998) emelkedéséről számoltak be krónikus antidepresszánsok adagolása után. Li és munkatársai (1993) például azt találták, hogy a krónikus fluoxetin adagolás fokozta az 5-HT_{2C} agonistákra adott endokrin válaszokat. Továbbá az szerotonin és noradrenalin visszavétel gátló imipramin és clomipramin krónikus alkalmazása csökkentette az *m*-CPP-vel kiváltott hipertermiát a depresszió-szerű fenotípust mutató Fawn-Hooded patkányokban (Aulakh és mtsai, 1995).

Az SSRI-k ismételt adására bekövetkező receptor deszenzitizáció és szenzitizáció, mint a receptor aktivációra való csökkent vagy fokozott válaszadási készség, számos mechanizmus hatására bekövetkezhethet. In vitro kísérletekben megállapították, hogy az 5-HT_{2C} receptorok agonista indukálta deszenzitizációja nagyban függ a receptor izoformáktól (Schlag és mtsai, 2004). Az 5-HT_{2C} receptornak ugyanis 14 izoformája van eltérő konstitutív aktivitással és szerotoninhoz való érzékenységgel (Burns és mtsai, 1997, Niswender és mtsai, 1999, Wang és mtsai, 2000, Berg és mtsai, 2001, Englander és mtsai, 2005), így valószínű, hogy az adaptív változások is eltérően befolyásolják az egyes izoformákat. A krónikus (24 napos) fluoxetin (5-HT_{2C} receptor antagonistája és SSRI) kezelés változást okozott az 5-HT_{2C} receptor izoformák képződésében, ugyanis fokozta a csökkent bazális és agonista indukált aktivitással rendelkező receptorok expresszióját egerek agykérgében (Englander és mtsai, 2005). Továbbá az 5-HT_{2C} receptor mRNS generális csökkenését találták patkányok prefrontális kérgében. Ugyanebben a tanulmányban viszont a theta hullámok kiváltásában központi szerepet játszó hippocampus területén háromszoros emelkedést írtak le az 5-HT_{2C} receptor mRNS expresszióban, az receptor izoformák frekvenciája azonban nem változott (Barbon és mtsai, 2011).

Eredményeinket összefoglalva, a krónikus escitalopram kezelés nem okozott változást az SB-242084 theta aktivitást fokozó hatásában AW és REM fázisokban. Mindezek alapján azt feltételezzük, hogy a krónikus escitalopram kezelés hatására végbemenő adaptív változások valószínűleg nem érintik a theta hullámok generálásában szerepet játszó 5-HT_{2C} receptorokat.

7 Következtetések

Első vizsgálatunkban normál patkányok alvását vizsgáltuk REM alvás-megvonást követően, vagyis a 72 órás „flower pot” procedúra után, a visszaalvás első 2 órájában.

(1) Az alvás makro-architektúrájában (standard alvás analízis) REM-rebound jelentkezett, azaz megnövekedett a REM alvásban töltött idő és csökkent a REM látencia. (2) A mikro-architektúrában (Markov analízis) REM fragmentációt figyeltünk meg gyorsult NREM↔REM ugrások és csökkent REM tartózkodási idő formájában a visszaalvás stabil periódusában (~30-120 perc); valamint az elalvás lassulása volt jellemző a visszaalvásra, különösen az első 30 percben, ahol kifejezett alvásfragmentáló hatást demonstráltunk (gyorsult ébredések, lassult elalvás, nőtt az ébrenlétben tartózkodási idő). (3) A Q-EEG analízis alapján REM-megvonás után megnövekedett a theta oszcillációk aktivitása lassú hullámú alvásban.

- Mivel a szakirodalmi adatok alapján a depressziós betegek többségénél és egyes depresszió-szerű állapotot előidéző rágsáló modell esetében is fokozott REM nyomást, alvás- és REM fragmentációt figyeltek meg, eredményeinkből arra következtetünk, hogy a szub-krónikus REM alvás-megvonás a „flower pot” protokoll segítségével alkalmas lehet olyan patológiás állapotok modellezésére, mint a szorongás vagy a depresszió, legalábbis az alvás tekintetében.

(4) A krónikus escitalopram kezelés (10 mg/kg, ozmotikus mini pumpa, 24 napig) kivédte a REM alvás-megvonás után fellépő REM fragmentációt a visszaalvás stabil periódusában, valamint az intenzív és tartós felébredéseket a visszaalvás első fél órájában. Továbbá csökkentette a REM-megvonás után fellépő theta fokozódást lassú hullámú alvásban. Ugyanakkor az SSRI csak mérsékelten redukálta a REM-visszacsapást a hagyományos alvás analízis alapján, és nem befolyásolta a lelassult elalvást a stabil periódusban.

- Mivel a Markov-analízis és a Q-EEG alapján a krónikus escitalopram kezelés kivédte a patológiás kondíció állapotára utaló változások többségét, a szub-krónikus „flower pot” módszer, mint depresszió modell, jó prediktív validitását feltételezzük. Elképzelhető, hogy az escitalopram fázisátmeneti valószínűségekre gyakorolt kedvező

hatása a többi SSRI és egyéb antidepresszáns esetén is jellemző lehet, ami felhívja a figyelmet a Markov-lánc modell alváskutatásban való alkalmazásának igényére. Az általunk alkalmazott időben folytonos Markov-modell egy olyan statisztikai eszköz, mely a hagyományos alvás metrikákhoz képest a hipnogram alaposabb analízisét magasabb statisztikai erővel teszi lehetővé, habár jelenleg még vannak korlátai.

Második vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogyan befolyásolja a krónikus escitalopram kezelés (10 mg/kg, ozmotikus mini pumpa, 21 napig) az 5-HT_{2C} receptor antagonistá SB-242084 (1 mg/kg, i.p.) hatását a theta oszcillációkra. **(5)** Eredményeink alapján az escitalopram nem befolyásolta az SB-242084 theta aktivitást fokozó hatását aktív ébrenlét és REM fázisokban.

- Feltételezhető, hogy a theta hullámok szabályozásáért felelős 5-HT_{2C} receptorok nem érintettek az escitalopram kezelés hatására bekövetkező adaptív változásokban. Figyelembe véve, hogy a theta oszcillációkat a tanulás- és memóriefolyamatokkal hozták összefüggésbe, ez az eredmény felveti annak a lehetőségét, hogy a krónikus antidepresszáns kezelés során alkalmazott 5-HT_{2C} receptor antagonistá hatású augmentációs terápiák feltételezett koncentrációfokozó tulajdonsága megmaradhat.

8 Összefoglalás

Az antidepresszáns gyógyszerek kutatása során nagy igény mutatkozik olyan rágcsáló modellekre, melyek képesek utánozni a depresszió-szerű viselkedést, valamint olyan biomarkerek analízisére, melyek tükrözik a háttérben zajló biológiai folyamatokat. Az escitalopram az egyik leghatékonyabb antidepresszáns. Mivel terápiás hatása csak néhány hetes adagolás után jelentkezik, vizsgálatainkban krónikus kezelést alkalmaztunk. Az első kísérletben a depresszió-szerű állapot létrehozása érdekében a 3 napos „flower pot” módszerrel történő REM-megvonás utáni visszaalvás 2 órás periódusát vizsgáltuk patkányokban, hagyományos alvásparaméterek és Markov-láncok segítségével. Arra kerestük a választ, hogyan befolyásolja a 24 napos escitalopram adagolás a REM-megvonást követő alvás mikro- és makro-architektúráját és a Q-EEG-t. A Markov-láncok alapján az escitalopram megelőzte a REM-megvonás után fellépő alvásfragmentációt az első fél órában, és a REM-fragmentációt az azt követő másfél órában. Továbbá a Q-EEG alapján kivédte a fokozott theta aktivitást lassú hullámú alvásban. Viszont nem gátolta a REM-visszacsapás mértékét és nem gátolta a lelassult elalvást a stabil periódusban. Mivel az escitalopram kezelés a Markov-analízis és a Q-EEG alapján kivédte az alvás patológiás állapotára utaló változások többségét, a „flower pot” módszer jó prediktív validitását feltételezzük, szub-krónikusan alkalmas lehet a szorongás és a depresszió modellezésére, legalábbis az alvás tekintetében. A Markov-lánc modell a hipnogram alaposabb analízisét tette lehetővé, mint a standard metrika, ami felhívja a figyelmet a módszer alváskutatásban való alkalmazására.

Mivel a krónikus SSRI kezelés terápiás hatásának hátterében részben az 5-HT_{2C} receptorok adaptációja feltételezhető, a második kísérletben azt vizsgáltuk, hogyan befolyásolja a 21 napos escitalopram kezelés az akut 5-HT_{2C} receptor antagonistá SB-242084 theta oszcilláció-fokozó hatását szabadon-mozgó patkányokban. Eredményeink alapján az SB-242084 aktív ébrenlét és REM fázisokban fokozta a theta aktivitást, mely hatás az escitalopram kezelés ellenére fennmaradt. Így feltételezhető, hogy a theta hullámok szabályozásáért felelős 5-HT_{2C} receptorok nem érintettek az SSRI hatására bekövetkező adaptív változásokban. Ennek ismerete fontos lehet, hiszen az 5-HT_{2C} receptor antagonistá ligandok potenciális targetek az antidepresszáns kezelések terápiás hatásának fokozására.

9 Summary

There is a huge demand in antidepressant drug research for rodent models which can mimic depression-like behaviour, as well as biomarker analyses which can reflect the underlying biological processes. Escitalopram is one of the most effective antidepressants. Since its therapeutic effects appear only after several weeks of treatment, we applied chronic administration in the study. In the first experiment, 3-day-long REM sleep deprivation was used by the „flower pot” procedure in rats to create depression-like behaviour. We investigated the effects of 24-day-long escitalopram treatment on the micro- and macro-architecture of sleep by means of Markov chains and standard sleep analysis, respectively, as well as the Q-EEG in the first 2 hours of recovery sleep following REM sleep deprivation. According to the results of Markov-chains, escitalopram prevented sleep fragmentation in the first 30 minutes, and REM-fragmentation in the following 90 minutes after REM sleep deprivation. In addition, escitalopram avoided the enhanced theta activity in SWS by the Q-EEG, but only moderately attenuated the REM-rebound and did not interfere with the slow falling asleep processes in the stable period. Based on the Markov and Q-EEG results, escitalopram treatment prevented most changes related to pathological condition of sleep. So, we suppose a good predictive validity of the „flower pot” protocol, sub-chronically it can be feasible to model anxiety and depression, at least regarding sleep. Markov-modelling allows analyzing hypnograms in finer granularity than the standard approach; sleep research is a potential area of its application.

Adaptation of 5-HT_{2C} receptor functions is supposed to be involved in the therapeutic action of chronic SSRI treatment. In the second experiment, we examined the effects of 21-day-long escitalopram treatment on the theta activity-increasing property of the acutely administered 5-HT_{2C} antagonist SB-242084 in freely-moving rats. Based on our results, this effect of SB-242084 was seen in active wake and REM sleep, and was not influenced by escitalopram. We can suppose that 5-HT_{2C} receptors, which play a role in the regulation of theta waves, are not involved in the adaptive mechanisms caused by the SSRI. The precise knowledge of this can be crucial, considering that 5-HT_{2C} receptor antagonists became promising drugs due to the augmentation of the therapeutic potential of antidepressants.

10 Irodalomjegyzék

- Abelaira HM, Reus GZ, Quevedo J (2013) Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. *Rev Bras Psiquiatr* 35 Suppl 2:S112-120.
- Abramowski D, Rigo M, Duc D, Hoyer D, Staufenbiel M (1995) Localization of the 5-hydroxytryptamine_{2C} receptor protein in human and rat brain using specific antisera. *Neuropharmacology* 34:1635-1645.
- Acsady L, Arabadzisz D, Katona I, Freund TF (1996) Topographic distribution of dorsal and median raphe neurons with hippocampal, septal and dual projection. *Acta Biol Hung* 47:9-19.
- Adell A, Celada P, Abellan MT, Artigas F (2002) Origin and functional role of the extracellular serotonin in the midbrain raphe nuclei. *Brain research Brain research reviews* 39:154-180.
- Adrien J (2002) Neurobiological bases for the relation between sleep and depression. *Sleep Med Rev* 6:341-351.
- Adrien J, Dugovic C, Martin P (1991) Sleep-wakefulness patterns in the helpless rat. *Physiol Behav* 49:257-262.
- Alkadhi K, Zagaar M, Alhaider I, Salim S, Aleisa A (2013) Neurobiological consequences of sleep deprivation. *Curr Neuropharmacol* 11:231-249.
- Altieri SC, Garcia-Garcia AL, Leonardo ED, Andrews AM (2013) Rethinking 5-HT_{1A} receptors: emerging modes of inhibitory feedback of relevance to emotion-related behavior. *ACS chemical neuroscience* 4:72-83.
- Andersen ML, Hoshino K, Tufik S (2009) Increased susceptibility to development of anhedonia in rats with chronic peripheral nerve injury: involvement of sleep deprivation? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 33:960-966.
- Applegate CD, Tecott LH (1998) Global increases in seizure susceptibility in mice lacking 5-HT_{2C} receptors: a behavioral analysis. *Exp Neurol* 154:522-530.
- Armitage R, Hoffmann RF (2001) Sleep EEG, depression and gender. *Sleep Med Rev* 5:237-246.
- Aston-Jones G, Bloom FE (1981) Activity of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in behaving rats anticipates fluctuations in the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 1:876-886.

- Aulakh CS, Mazzola-Pomietto P, Murphy DL (1995) Long-term antidepressant treatments alter 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor-mediated hyperthermia in Fawn-Hooded rats. *European journal of pharmacology* 282:65-70.
- Bagdy G (1998) Serotonin, anxiety, and stress hormones. Focus on 5-HT receptor subtypes, species and gender differences. *Ann N Y Acad Sci* 851:357-363.
- Bagdy G, Graf M, Anheuer ZE, Modos EA, Kantor S (2001) Anxiety-like effects induced by acute fluoxetine, sertraline or m-CPP treatment are reversed by pretreatment with the 5-HT_{2C} receptor antagonist SB-242084 but not the 5-HT_{1A} receptor antagonist WAY-100635. *Int J Neuropsychopharmacol* 4:399-408.
- Barbon A, Orlandi C, La Via L, Caracciolo L, Tardito D, Musazzi L, Mallei A, Gennarelli M, Racagni G, Popoli M, Barlati S (2011) Antidepressant treatments change 5-HT_{2C} receptor mRNA expression in rat prefrontal/frontal cortex and hippocampus. *Neuropsychobiology* 63:160-168.
- Barnes NM, Sharp T (1999) A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38:1083-1152.
- Bel N, Artigas F (1993) Chronic treatment with fluvoxamine increases extracellular serotonin in frontal cortex but not in raphe nuclei. *Synapse* 15:243-245.
- Benca RM, Obermeyer WH, Thisted RA, Gillin JC (1992) Sleep and psychiatric disorders. A meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 49:651-668; discussion 669-670.
- Berendsen HH, Broekkamp CL (1991) Attenuation of 5-HT_{1A} and 5-HT₂ but not 5-HT_{1C} receptor mediated behaviour in rats following chronic treatment with 5-HT receptor agonists, antagonists or anti-depressants. *Psychopharmacology (Berl)* 105:219-224.
- Berg KA, Stout BD, Maayani S, Clarke WP (2001) Differences in rapid desensitization of 5-hydroxytryptamine_{2A} and 5-hydroxytryptamine_{2C} receptor-mediated phospholipase C activation. *J Pharmacol Exp Ther* 299:593-602.
- Berger H (1929) Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. *Archiv f Psychiatrie* 87:527-570.

- Bizzotto R, Zamuner S, De Nicolao G, Karlsson MO, Gomeni R (2010) Multinomial logistic estimation of Markov-chain models for modeling sleep architecture in primary insomnia patients. *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 37:137-155.
- Blanco-Centurion C, Gerashchenko D, Shiromani PJ (2007) Effects of saporin-induced lesions of three arousal populations on daily levels of sleep and wake. *J Neurosci* 27:14041-14048.
- Blier P, de Montigny C (1987) Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of the 5-HT_{1A} agonist gepirone: electrophysiological studies in the rat brain. *Synapse* 1:470-480.
- Blier P, de Montigny C, Chaput Y (1987) Modifications of the serotonin system by antidepressant treatments: implications for the therapeutic response in major depression. *J Clin Psychopharmacol* 7:24S-35S.
- Bódizs R. Az alvás szerkezete és az álmodás pszichobiológiája. In: Érdi T (szerk.), Alvás, Álom, Bioritmusok. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2000a:83-93.
- Bódizs R. Pszichopatológia. In: Érdi T (szerk.), Alvás, Álom, Bioritmusok. Medicina Könyvkiadó Rt., Budapest, 2000b: 364-370.
- Borbely AA (1982) A two process model of sleep regulation. *Human neurobiology* 1:195-204.
- Borbely AA, Wirz-Justice A (1982) Sleep, sleep deprivation and depression. A hypothesis derived from a model of sleep regulation. *Human neurobiology* 1:205-210.
- Bouyer JJ, Vallee M, Deminiere JM, Le Moal M, Mayo W (1998) Reaction of sleep-wakefulness cycle to stress is related to differences in hypothalamo-pituitary-adrenal axis reactivity in rat. *Brain Res* 804:114-124.
- Bristow LJ, O'Connor D, Watts R, Duxon MS, Hutson PH (2000) Evidence for accelerated desensitisation of 5-HT_{2C} receptors following combined treatment with fluoxetine and the 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY 100,635, in the rat. *Neuropharmacology* 39:1222-1236.
- Bromidge SM, Dabbs S, Davies DT, Davies S, Duckworth DM, Forbes IT, Gaster LM, Ham P, Jones GE, King FD, Mulholland KR, Saunders DV, Wyman PA, Blaney FE, Clarke SE, Blackburn TP, Holland V, Kennett GA, Lightowler S, Middlemiss DN, Trail B, Riley GJ, Wood MD (2000) Biarylcarbamoyleindolines

- are novel and selective 5-HT_{2C} receptor inverse agonists: identification of 5-methyl-1-[[2-[(2-methyl-3-pyridyl)oxy]-5-pyridyl]carbamoyl]-6-trifluoromethylindoline (SB-243213) as a potential antidepressant/anxiolytic agent. *J Med Chem* 43:1123-1134.
- Brown RE, Basheer R, McKenna JT, Strecker RE, McCarley RW (2012) Control of sleep and wakefulness. *Physiological reviews* 92:1087-1187.
- Burns CM, Chu H, Rueter SM, Hutchinson LK, Canton H, Sanders-Bush E, Emeson RB (1997) Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature* 387:303-308.
- Buzsaki G (2002) Theta oscillations in the hippocampus. *Neuron* 33:325-340.
- Cantero JL, Atienza M, Stickgold R, Kahana MJ, Madsen JR, Kocsis B (2003) Sleep-dependent theta oscillations in the human hippocampus and neocortex. *J Neurosci* 23:10897-10903.
- Caplan JB, Madsen JR, Schulze-Bonhage A, Aschenbrenner-Scheibe R, Newman EL, Kahana MJ (2003) Human theta oscillations related to sensorimotor integration and spatial learning. *J Neurosci* 23:4726-4736.
- Ceglia I, Acconcia S, Fracasso C, Colovic M, Caccia S, Invernizzi RW (2004) Effects of chronic treatment with escitalopram or citalopram on extracellular 5-HT in the prefrontal cortex of rats: role of 5-HT_{1A} receptors. *Br J Pharmacol* 142:469-478.
- Chang FC, Opp MR (2001) Corticotropin-releasing hormone (CRH) as a regulator of waking. *Neurosci Biobehav Rev* 25:445-453.
- Chanrion B, Mannoury la Cour C, Gavarini S, Seimandi M, Vincent L, Pujol JF, Bockaert J, Marin P, Millan MJ (2008) Inverse agonist and neutral antagonist actions of antidepressants at recombinant and native 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors: differential modulation of cell surface expression and signal transduction. *Mol Pharmacol* 73:748-757.
- Chaput Y, de Montigny C, Blier P (1986) Effects of a selective 5-HT reuptake blocker, citalopram, on the sensitivity of 5-HT autoreceptors: electrophysiological studies in the rat brain. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 333:342-348.

- Charney DS, Menkes DB, Heninger GR (1981) Receptor sensitivity and the mechanism of action of antidepressant treatment. Implications for the etiology and therapy of depression. *Arch Gen Psychiatry* 38:1160-1180.
- Cheeta S, Ruigt G, van Proosdij J, Willner P (1997) Changes in sleep architecture following chronic mild stress. *Biol Psychiatry* 41:419-427.
- Chou TC, Bjorkum AA, Gaus SE, Lu J, Scammell TE, Saper CB (2002) Afferents to the ventrolateral preoptic nucleus. *J Neurosci* 22:977-990.
- Cipolla-Neto J, Negrao N, Afeche SC, Paludetti LA, Benedito-Silva AA, Marques N, Menna-Barreto L (1988) Remarkable similarities between the temporal organization of neocortical electrographic sleep patterns of rats and humans. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica* [et al] 21:599-601.
- Clemett DA, Punhani T, Duxon MS, Blackburn TP, Fone KC (2000) Immunohistochemical localisation of the 5-HT_{2C} receptor protein in the rat CNS. *Neuropharmacology* 39:123-132.
- Coenen AM, van Luijtelaar EL (1985) Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. *Physiol Behav* 35:501-504.
- Cohen HB, Dement WC (1965) Sleep: changes in threshold to electroconvulsive shock in rats after deprivation of "paradoxical" phase. *Science* 150:1318-1319.
- Connor TJ, Kelliher P, Shen Y, Harkin A, Kelly JP, Leonard BE (2000) Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced-swim test. *Pharmacol Biochem Behav* 65:591-597.
- Dahlstroem A, Fuxe K (1964) EVIDENCE FOR THE EXISTENCE OF MONOAMINE-CONTAINING NEURONS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. I. DEMONSTRATION OF MONOAMINES IN THE CELL BODIES OF BRAIN STEM NEURONS. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum SUPPL* 232:231-255.
- De Deurwaerdere P, Navailles S, Berg KA, Clarke WP, Spampinato U (2004) Constitutive activity of the serotonin_{2C} receptor inhibits in vivo dopamine release in the rat striatum and nucleus accumbens. *J Neurosci* 24:3235-3241.

- Dekeyne A, Denorme B, Monneyron S, Millan MJ (2000) Citalopram reduces social interaction in rats by activation of serotonin (5-HT)_{2C} receptors. *Neuropharmacology* 39:1114-1117.
- Detre T, Himmelhoch J, Swartzburg M, Anderson CM, Byck R, Kupfer DJ (1972) Hypersomnia and manic-depressive disease. *Am J Psychiatry* 128:1303-1305.
- Deuschle M, Hamann B, Meichel C, Krumm B, Lederbogen F, Kniest A, Colla M, Heuser I (2003) Antidepressive treatment with amitriptyline and paroxetine: effects on saliva cortisol concentrations. *J Clin Psychopharmacol* 23:201-205.
- Di Matteo V, Di Giovanni G, Di Mascio M, Esposito E (1999) SB 242084, a selective serotonin_{2C} receptor antagonist, increases dopaminergic transmission in the mesolimbic system. *Neuropharmacology* 38:1195-1205.
- Dinges DF, Pack F, Williams K, Gillen KA, Powell JW, Ott GE, Aptowicz C, Pack AI (1997) Cumulative sleepiness, mood disturbance, and psychomotor vigilance performance decrements during a week of sleep restricted to 4-5 hours per night. *Sleep* 20:267-277.
- Dugovic C, Maccari S, Weibel L, Turek FW, Van Reeth O (1999) High corticosterone levels in prenatally stressed rats predict persistent paradoxical sleep alterations. *J Neurosci* 19:8656-8664.
- Dugovic C, Solberg LC, Redei E, Van Reeth O, Turek FW (2000) Sleep in the Wistar-Kyoto rat, a putative genetic animal model for depression. *Neuroreport* 11:627-631.
- Dumont GJ, de Visser SJ, Cohen AF, van Gerven JM (2005) Biomarkers for the effects of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 59:495-510.
- Duncan GE, Knapp DJ, Johnson KB, Breese GR (1996) Functional classification of antidepressants based on antagonism of swim stress-induced fos-like immunoreactivity. *J Pharmacol Exp Ther* 277:1076-1089.
- Economo C (1923) Encephalitis lethargica. *Wien Med Wochenschr* 73:777-782.
- Economo C (1930) Sleep as a problem of localization. *The Journal of Nervous and Mental Disease* 71:248-259.

- Ehlers CL, Kupfer DJ (1987) Hypothalamic peptide modulation of EEG sleep in depression: a further application of the S-process hypothesis. *Biol Psychiatry* 22:513-517.
- Ehlers CL, Reed TK, Henriksen SJ (1986) Effects of corticotropin-releasing factor and growth hormone-releasing factor on sleep and activity in rats. *Neuroendocrinology* 42:467-474.
- el Mansari M, Sakai K, Jouvet M (1989) Unitary characteristics of presumptive cholinergic tegmental neurons during the sleep-waking cycle in freely moving cats. *Experimental brain research* 76:519-529.
- El Mansari M, Sanchez C, Chouvet G, Renaud B, Haddjeri N (2005) Effects of acute and long-term administration of escitalopram and citalopram on serotonin neurotransmission: an in vivo electrophysiological study in rat brain. *Neuropsychopharmacology* 30:1269-1277.
- El Yacoubi M, Bouali S, Popa D, Naudon L, Leroux-Nicollet I, Hamon M, Costentin J, Adrien J, Vaugeois JM (2003) Behavioral, neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:6227-6232.
- Englander MT, Dulawa SC, Bhansali P, Schmauss C (2005) How stress and fluoxetine modulate serotonin 2C receptor pre-mRNA editing. *J Neurosci* 25:648-651.
- Feige B, Voderholzer U, Riemann D, Dittmann R, Hohagen F, Berger M (2002) Fluoxetine and sleep EEG: effects of a single dose, subchronic treatment, and discontinuation in healthy subjects. *Neuropsychopharmacology* 26:246-258.
- Fone KC, Austin RH, Topham IA, Kennett GA, Punhani T (1998) Effect of chronic m-CPP on locomotion, hypophagia, plasma corticosterone and 5-HT_{2C} receptor levels in the rat. *Br J Pharmacol* 123:1707-1715.
- Frank MG, Stryker MP, Tecott LH (2002) Sleep and sleep homeostasis in mice lacking the 5-HT_{2c} receptor. *Neuropsychopharmacology* 27:869-873.
- French JD, Magoun HW (1952) Effects of chronic lesions in central cephalic brain stem of monkeys. *AMA archives of neurology and psychiatry* 68:591-604.
- Gallopín T, Fort P, Eggermann E, Cauli B, Luppi PH, Rossier J, Audinat E, Muhlethaler M, Serafin M (2000) Identification of sleep-promoting neurons in vitro. *Nature* 404:992-995.

- Gallopín T, Luppi PH, Rambert FA, Frydman A, Fort P (2004) Effect of the wake-promoting agent modafinil on sleep-promoting neurons from the ventrolateral preoptic nucleus: an in vitro pharmacologic study. *Sleep* 27:19-25.
- Gandolfo G, Gauthier P, Arnaud C, Gottesmann C (1996) Influence of paradoxical sleep deprivation on the intermediate stage of sleep in the rat. *Neurosci Res* 25:123-127.
- Garg R, Kumar A (2008) Possible role of citalopram and desipramine against sleep deprivation-induced anxiety like-behavior alterations and oxidative damage in mice. *Indian J Exp Biol* 46:770-776.
- Gervasoni D, Peyron C, Rampon C, Barbagli B, Chouvet G, Urbain N, Fort P, Luppi PH (2000) Role and origin of the GABA-ergic innervation of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci* 20:4217-4225.
- Gessa GL, Pani L, Fadda P, Fratta W (1995) Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. *Eur Neuropsychopharmacol* 5 Suppl:89-93.
- Gibbs DM, Vale W (1983) Effect of the serotonin reuptake inhibitor fluoxetine on corticotropin-releasing factor and vasopressin secretion into hypophysial portal blood. *Brain Res* 280:176-179.
- Gillin JC (1983) The sleep therapies of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 7:351-364.
- Gillin JC, Jernajczyk W, Valladares-Neto DC, Golshan S, Lardon M, Stahl SM (1994) Inhibition of REM sleep by ipsapirone, a 5HT_{1A} agonist, in normal volunteers. *Psychopharmacology (Berl)* 116:433-436.
- Gong H, McGinty D, Guzman-Marin R, Chew KT, Stewart D, Szymusiak R (2004) Activation of c-fos in GABA-ergic neurones in the preoptic area during sleep and in response to sleep deprivation. *J Physiol* 556:935-946.
- Gottesmann C, Gandolfo G, Arnaud C, Gauthier P (1998) The intermediate stage and paradoxical sleep in the rat: influence of three generations of hypnotics. *Eur J Neurosci* 10:409-414.
- Grahnstedt S, Ursin R (1985) Platform sleep deprivation affects deep slow wave sleep in addition to REM sleep. *Behav Brain Res* 18:233-239.

- Groenink L, van Bogaert MJ, van der Gugten J, Oosting RS, Olivier B (2003) 5-HT_{1A} receptor and 5-HT_{1B} receptor knockout mice in stress and anxiety paradigms. *Behav Pharmacol* 14:369-383.
- Gronli J, Murison R, Bjorvatn B, Sorensen E, Portas CM, Ursin R (2004) Chronic mild stress affects sucrose intake and sleep in rats. *Behav Brain Res* 150:139-147.
- Guzman-Marin R, Suntsova N, Stewart DR, Gong H, Szymusiak R, McGinty D (2003) Sleep deprivation reduces proliferation of cells in the dentate gyrus of the hippocampus in rats. *J Physiol* 549:563-571.
- Gvilia I, Xu F, McGinty D, Szymusiak R (2006) Homeostatic regulation of sleep: a role for preoptic area neurons. *J Neurosci* 26:9426-9433.
- Haase J, Brown E (2015) Integrating the monoamine, neurotrophin and cytokine hypotheses of depression - A central role for the serotonin transporter? *Pharmacology & therapeutics* 147C:1-11.
- Hajos M, Hoffmann WE, Weaver RJ (2003) Regulation of septo-hippocampal activity by 5-hydroxytryptamine(2C) receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 306:605-615.
- Henn FA, Vollmayr B (2005) Stress models of depression: forming genetically vulnerable strains. *Neurosci Biobehav Rev* 29:799-804.
- Hill MN, Ho WS, Sinopoli KJ, Viau V, Hillard CJ, Gorzalka BB (2006) Involvement of the endocannabinoid system in the ability of long-term tricyclic antidepressant treatment to suppress stress-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuropsychopharmacology* 31:2591-2599.
- Hjorth S, Auerbach SB (1994) Lack of 5-HT_{1A} autoreceptor desensitization following chronic citalopram treatment, as determined by in vivo microdialysis. *Neuropharmacology* 33:331-334.
- Hobson JA, McCarley RW, Wyzinski PW (1975) Sleep cycle oscillation: reciprocal discharge by two brainstem neuronal groups. *Science* 189:55-58.
- Holsboer F, von Bardeleben U, Steiger A (1988) Effects of intravenous corticotropin-releasing hormone upon sleep-related growth hormone surge and sleep EEG in man. *Neuroendocrinology* 48:32-38.
- Hrdina PD, Vu TB (1993) Chronic fluoxetine treatment upregulates 5-HT uptake sites and 5-HT₂ receptors in rat brain: an autoradiographic study. *Synapse* 14:324-331.

- Huber R, Deboer T, Schwierin B, Tobler I (1998) Effect of melatonin on sleep and brain temperature in the Djungarian hamster and the rat. *Physiol Behav* 65:77-82.
- Hur EE, Zaborszky L (2005) Vglut2 afferents to the medial prefrontal and primary somatosensory cortices: a combined retrograde tracing in situ hybridization study [corrected]. *J Comp Neurol* 483:351-373.
- Jackson CH (2011) Multi-State Models for Panel Data: The msm Package for R. *Journal of Statistical Software* 38:1-28.
- Jacobsen JP, Mork A (2004) The effect of escitalopram, desipramine, electroconvulsive seizures and lithium on brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the rat brain and the correlation to 5-HT and 5-HIAA levels. *Brain Res* 1024:183-192.
- Jarrett DB, Miewald JM, Kupfer DJ (1990) Recurrent depression is associated with a persistent reduction in sleep-related growth hormone secretion. *Arch Gen Psychiatry* 47:113-118.
- Jensen NH, Cremers TI, Sotty F (2010) Therapeutic potential of 5-HT_{2C} receptor ligands. *ScientificWorldJournal* 10:1870-1885.
- Jin H, Oksenberg D, Ashkenazi A, Peroutka SJ, Duncan AM, Rozmahel R, Yang Y, Mengod G, Palacios JM, O'Dowd BF (1992) Characterization of the human 5-hydroxytryptamine_{1B} receptor. *J Biol Chem* 267:5735-5738.
- Jolas T, Haj-Dahmane S, Kidd EJ, Langlois X, Lanfumey L, Fattaccini CM, Vantalon V, Laporte AM, Adrien J, Gozlan H, és mtsai (1994) Central pre- and postsynaptic 5-HT_{1A} receptors in rats treated chronically with a novel antidepressant, cericlamine. *J Pharmacol Exp Ther* 268:1432-1443.
- Jouvet D, Vimont P, Delorme F, Jouvet M (1964) [STUDY OF SELECTIVE DEPRIVATION OF THE PARADOXAL SLEEP PHASE IN THE CAT]. *C R Seances Soc Biol Fil* 158:756-759.
- Kahana MJ, Sekuler R, Caplan JB, Kirschen M, Madsen JR (1999) Human theta oscillations exhibit task dependence during virtual maze navigation. *Nature* 399:781-784.
- Kantor S, Anheuer ZE, Bagdy G (2000) High social anxiety and low aggression in Fawn-Hooded rats. *Physiol Behav* 71:551-557.

- Kantor S, Jakus R, Balogh B, Benko A, Bagdy G (2004) Increased wakefulness, motor activity and decreased theta activity after blockade of the 5-HT_{2B} receptor by the subtype-selective antagonist SB-215505. *Br J Pharmacol* 142:1332-1342.
- Kantor S, Jakus R, Bodizs R, Halasz P, Bagdy G (2002) Acute and long-term effects of the 5-HT₂ receptor antagonist ritanserin on EEG power spectra, motor activity, and sleep: changes at the light-dark phase shift. *Brain Res* 943:105-111.
- Kantor S, Jakus R, Molnar E, Gyongyosi N, Toth A, Detari L, Bagdy G (2005) Despite similar anxiolytic potential, the 5-hydroxytryptamine 2C receptor antagonist SB-242084 [6-chloro-5-methyl-1-[2-(2-methylpyrid-3-ylloxy)-pyrid-5-yl carbamoyl] indoline] and chlordiazepoxide produced differential effects on electroencephalogram power spectra. *J Pharmacol Exp Ther* 315:921-930.
- Katai Z, Adori C, Kitka T, Vas S, Kalmar L, Kostyalik D, Tothfalusi L, Palkovits M, Bagdy G (2013) Acute escitalopram treatment inhibits REM sleep rebound and activation of MCH-expressing neurons in the lateral hypothalamus after long term selective REM sleep deprivation. *Psychopharmacology (Berl)* 228:439-449.
- Kemp B, Kamphuisen HA (1986) Simulation of human hypnograms using a Markov chain model. *Sleep* 9:405-414.
- Kennedy AJ, Gibson EL, O'Connell MT, Curzon G (1993) Effects of housing, restraint and chronic treatments with mCPP and sertraline on behavioural responses to mCPP. *Psychopharmacology (Berl)* 113:262-268.
- Kennett GA, Wood MD, Bright F, Trail B, Riley G, Holland V, Avenell KY, Stean T, Upton N, Bromidge S, Forbes IT, Brown AM, Middlemiss DN, Blackburn TP (1997) SB 242084, a selective and brain penetrant 5-HT_{2C} receptor antagonist. *Neuropharmacology* 36:609-620.
- Kesic S, Kalauzi A, Radulovacki M, Carley DW, Saponjic J (2011) Coupling changes in cortical and pontine sigma and theta frequency oscillations following monoaminergic lesions in rat. *Sleep Breath* 15:35-47.
- Kimura M, Muller-Preuss P, Lu A, Wiesner E, Flachskamm C, Wurst W, Holsboer F, Deussing JM (2010) Conditional corticotropin-releasing hormone overexpression in the mouse forebrain enhances rapid eye movement sleep. *Mol Psychiatry* 15:154-165.

- Kitka T, Bagdy G. Effect of 5-HT_{2A/2B/2C} receptor agonists and antagonists on sleep and waking in laboratory animals and humans In: Monti JM, Pandi-Perumal SR, Jacobs BL and Nutt DJ (szerk.), Serotonin and Sleep: Molecular, Functional and Clinical Aspects, Birkhäuser-Verlag, Basel, 2008: 387-414.
- Kitka T, Katai Z, Pap D, Molnar E, Adori C, Bagdy G (2009) Small platform sleep deprivation selectively increases the average duration of rapid eye movement sleep episodes during sleep rebound. *Behav Brain Res* 205:482-487.
- Klemenhagen KC, Gordon JA, David DJ, Hen R, Gross CT (2006) Increased fear response to contextual cues in mice lacking the 5-HT_{1A} receptor. *Neuropsychopharmacology* 31:101-111.
- Knowles JB, MacLean AW (1990) Age-related changes in sleep in depressed and healthy subjects. A meta-analysis. *Neuropsychopharmacology* 3:251-259.
- Kocsis B, Varga V, Dahan L, Sik A (2006) Serotonergic neuron diversity: identification of raphe neurons with discharges time-locked to the hippocampal theta rhythm. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:1059-1064.
- Kong J, Shepel PN, Holden CP, Mackiewicz M, Pack AI, Geiger JD (2002) Brain glycogen decreases with increased periods of wakefulness: implications for homeostatic drive to sleep. *J Neurosci* 22:5581-5587.
- Kostyalik D, Katai Z, Vas S, Pap D, Petschner P, Molnar E, Gyertyan I, Kalmar L, Tothfalusi L, Bagdy G (2014a) Chronic escitalopram treatment caused dissociative adaptation in serotonin (5-HT) _{2C} receptor antagonist-induced effects in REM sleep, wake and theta wave activity. *Experimental brain research* 232:935-946.
- Kostyalik D, Vas S, Katai Z, Kitka T, Gyertyan I, Bagdy G, Tothfalusi L (2014b) Chronic escitalopram treatment attenuated the accelerated rapid eye movement sleep transitions after selective rapid eye movement sleep deprivation: a model-based analysis using Markov chains. *BMC Neurosci* 15:120.
- Kupfer DJ (1976) REM latency: a psychobiologic marker for primary depressive disease. *Biol Psychiatry* 11:159-174.
- Kupfer DJ, Foster FG (1972) Interval between onset of sleep and rapid-eye-movement sleep as an indicator of depression. *Lancet* 2:684-686.

- Kupfer DJ, Frank E, McEachran AB, Grochocinski VJ (1990) Delta sleep ratio. A biological correlate of early recurrence in unipolar affective disorder. *Arch Gen Psychiatry* 47:1100-1105.
- Lader M, Andersen HF, Baekdal T (2005) The effect of escitalopram on sleep problems in depressed patients. *Hum Psychopharmacol* 20:349-354.
- Li Q, Brownfield MS, Battaglia G, Cabrera TM, Levy AD, Rittenhouse PA, van de Kar LD (1993) Long-term treatment with the antidepressants fluoxetine and desipramine potentiates endocrine responses to the serotonin agonists 6-chloro-2-[1-piperazinyl]-pyrazine (MK-212) and (+-)-1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane HCl (DOI). *J Pharmacol Exp Ther* 266:836-844.
- Lin SL, Setya S, Johnson-Farley NN, Cowen DS (2002) Differential coupling of 5-HT(1) receptors to G proteins of the G(i) family. *Br J Pharmacol* 136:1072-1078.
- Lindsley DB, Bowden JW, Magoun HW (1949) Effect upon the EEG of acute injury to the brain stem activating system. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1:475-486.
- Longordo F, Kopp C, Luthi A (2009) Consequences of sleep deprivation on neurotransmitter receptor expression and function. *Eur J Neurosci* 29:1810-1819.
- Lu J, Greco MA, Shiromani P, Saper CB (2000) Effect of lesions of the ventrolateral preoptic nucleus on NREM and REM sleep. *J Neurosci* 20:3830-3842.
- Lu J, Jhou TC, Saper CB (2006a) Identification of wake-active dopaminergic neurons in the ventral periaqueductal gray matter. *J Neurosci* 26:193-202.
- Lu J, Sherman D, Devor M, Saper CB (2006c) A putative flip-flop switch for control of REM sleep. *Nature* 441:589-594.
- Luppi PH, Gervasoni D, Boissard R, Verret L, Goutagny R, Peyron C, Salvert D, Leger L, Barbagli B, Fort P (2004) Brainstem structures responsible for paradoxical sleep onset and maintenance. *Arch Ital Biol* 142:397-411.
- Luppi PH, Gervasoni D, Verret L, Goutagny R, Peyron C, Salvert D, Leger L, Fort P (2006) Paradoxical (REM) sleep genesis: the switch from an aminergic-cholinergic to a GABA-ergic-glutamatergic hypothesis. *Journal of physiology, Paris* 100:271-283.

- Machado RB, Hipolide DC, Benedito-Silva AA, Tufik S (2004) Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res* 1004:45-51.
- Machado RB, Suchecki D, Tufik S (2005) Sleep homeostasis in rats assessed by a long-term intermittent paradoxical sleep deprivation protocol. *Behav Brain Res* 160:356-364.
- Machado RB, Suchecki D, Tufik S (2006) Comparison of the sleep pattern throughout a protocol of chronic sleep restriction induced by two methods of paradoxical sleep deprivation. *Brain Res Bull* 70:213-220.
- Machado RB, Tufik S, Suchecki D (2010) Modulation of Sleep Homeostasis by Corticotropin Releasing Hormone in REM Sleep-Deprived Rats. *Int J Endocrinol* 2010:326151.
- Maggio M, Colizzi E, Fisichella A, Valenti G, Ceresini G, Dall'Aglio E, Ruffini L, Lauretani F, Parrino L, Ceda GP (2013) Stress hormones, sleep deprivation and cognition in older adults. *Maturitas* 76:22-44.
- Mallick BN, Siegel JM, Fahringer H (1990) Changes in pontine unit activity with REM sleep deprivation. *Brain Res* 515:94-98.
- Maloney KJ, Mainville L, Jones BE (2000) c-Fos expression in GABA-ergic, serotonergic, and other neurons of the pontomedullary reticular formation and raphe after paradoxical sleep deprivation and recovery. *J Neurosci* 20:4669-4679.
- Marinesco S, Bonnet C, Cespuglio R (1999) Influence of stress duration on the sleep rebound induced by immobilization in the rat: a possible role for corticosterone. *Neuroscience* 92:921-933.
- Martin JR, Ballard TM, Higgins GA (2002) Influence of the 5-HT_{2C} receptor antagonist, SB-242084, in tests of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 71:615-625.
- Maudhuit C, Hamon M, Adrien J (1996) Effects of chronic treatment with zimelidine and REM sleep deprivation on the regulation of raphe neuronal activity in a rat model of depression. *Psychopharmacology (Berl)* 124:267-274.
- McCarley RW (2007) Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep medicine* 8:302-330.

- McCorvy JD, Roth BL (2015) Structure and function of serotonin G protein-coupled receptors. *Pharmacology & therapeutics*.
- McDowell AL, Strohl KP, Feng P (2012) Sleep-related epilepsy in a Long-Evans hooded rat model of depression. *Sleep Breath* 16:1181-1191.
- McEwen BS (2006) Sleep deprivation as a neurobiologic and physiologic stressor: Allostasis and allostatic load. *Metabolism: clinical and experimental* 55:S20-23.
- McGinty DJ, Serman MB (1968) Sleep suppression after basal forebrain lesions in the cat. *Science* 160:1253-1255.
- Meador KJ, Thompson JL, Loring DW, Murro AM, King DW, Gallagher BB, Lee GP, Smith JR, Flanigin HF (1991) Behavioral state-specific changes in human hippocampal theta activity. *Neurology* 41:869-872.
- Mengod G, Vilaro MT, Raurich A, Lopez-Gimenez JF, Cortes R, Palacios JM (1996) 5-HT receptors in mammalian brain: receptor autoradiography and in situ hybridization studies of new ligands and newly identified receptors. *The Histochemical journal* 28:747-758.
- Millan MJ (2005) Serotonin 5-HT_{2C} receptors as a target for the treatment of depressive and anxious states: focus on novel therapeutic strategies. *Therapie* 60:441-460.
- Millan MJ, Dekeyne A, Gobert A (1998) Serotonin (5-HT)_{2C} receptors tonically inhibit dopamine (DA) and noradrenaline (NA), but not 5-HT, release in the frontal cortex in vivo. *Neuropharmacology* 37:953-955.
- Modirrousta M, Mainville L, Jones BE (2004) GABA-ergic neurons with alpha2-adrenergic receptors in basal forebrain and preoptic area express c-Fos during sleep. *Neuroscience* 129:803-810.
- Monaca C, Boutrel B, Hen R, Hamon M, Adrien J (2003) 5-HT 1A/1B receptor-mediated effects of the selective serotonin reuptake inhibitor, citalopram, on sleep: studies in 5-HT 1A and 5-HT 1B knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 28:850-856.
- Monti JM, Jantos H (1992) Dose-dependent effects of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT on sleep and wakefulness in the rat. *J Sleep Res* 1:169-175.

- Monti JM, Jantos H (2006a) Effects of activation and blockade of 5-HT_{2A/2C} receptors in the dorsal raphe nucleus on sleep and waking in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 30:1189-1195.
- Monti JM, Jantos H (2006c) Effects of the serotonin 5-HT_{2A/2C} receptor agonist DOI and of the selective 5-HT_{2A} or 5-HT_{2C} receptor antagonists EMD 281014 and SB-243213, respectively, on sleep and waking in the rat. *European journal of pharmacology* 553:163-170.
- Moruzzi G, Magoun HW (1949) Brain stem reticular formation and activation of the EEG. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1:455-473.
- Moussavi S, Chatterji S, Verdes E, Tandon A, Patel V, Ustun B Depression, chronic diseases, and decrements in health: results from the World Health Surveys. *The Lancet* 370:851-858.
- Nauta WJ (1946) Hypothalamic regulation of sleep in rats; an experimental study. *Journal of neurophysiology* 9:285-316.
- Neckelmann D, Bjorvatn B, Bjorkum AA, Ursin R (1996) Citalopram: differential sleep/wake and EEG power spectrum effects after single dose and chronic administration. *Behav Brain Res* 79:183-192.
- Niswender CM, Copeland SC, Herrick-Davis K, Emeson RB, Sanders-Bush E (1999) RNA editing of the human serotonin 5-hydroxytryptamine 2C receptor silences constitutive activity. *J Biol Chem* 274:9472-9478.
- Oberndorfer S, Saletu-Zyhlarz G, Saletu B (2000) Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on objective and subjective sleep quality. *Neuropsychobiology* 42:69-81.
- Olivier B (2014) Serotonin: A never-ending story. *European journal of pharmacology*.
- Owens MJ, Knight DL, Nemeroff CB (2001) Second-generation SSRIs: human monoamine transporter binding profile of escitalopram and R-fluoxetine. *Biol Psychiatry* 50:345-350.
- Panula P, Pirvola U, Auvinen S, Airaksinen MS (1989) Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience* 28:585-610.
- Peeke SC, Callaway E, Jones RT, Stone GC, Doyle J (1980) Combined effects of alcohol and sleep deprivation in normal young adults. *Psychopharmacology (Berl)* 67:279-287.

- Perlis ML, Giles DE, Buysse DJ, Tu X, Kupfer DJ (1997) Self-reported sleep disturbance as a prodromal symptom in recurrent depression. *J Affect Disord* 42:209-212.
- Pompeiano M, Palacios JM, Mengod G (1994) Distribution of the serotonin 5-HT₂ receptor family mRNAs: comparison between 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors. *Brain Res Mol Brain Res* 23:163-178.
- Popa D, Lena C, Alexandre C, Adrien J (2008) Lasting syndrome of depression produced by reduction in serotonin uptake during postnatal development: evidence from sleep, stress, and behavior. *J Neurosci* 28:3546-3554.
- Popa D, Lena C, Fabre V, Prenat C, Gingrich J, Escourrou P, Hamon M, Adrien J (2005) Contribution of 5-HT₂ receptor subtypes to sleep-wakefulness and respiratory control, and functional adaptations in knock-out mice lacking 5-HT_{2A} receptors. *J Neurosci* 25:11231-11238.
- Porkka-Heiskanen T, Smith SE, Taira T, Urban JH, Levine JE, Turek FW, Stenberg D (1995) Noradrenergic activity in rat brain during rapid eye movement sleep deprivation and rebound sleep. *The American journal of physiology* 268:R1456-1463.
- Pranzatelli MR, Murthy JN, Tailor PT (1993) Novel regulation of 5-HT_{1C} receptors: down-regulation induced both by 5-HT_{1C/2} receptor agonists and antagonists. *European journal of pharmacology* 244:1-5.
- Pranzatelli MR, Tailor PT (1994) Modulation of brainstem 5-HT_{1C} receptors by serotonergic drugs in the rat. *Gen Pharmacol* 25:1279-1284.
- Prathiba J, Kumar KB, Karanth KS (2000) Effects of REM sleep deprivation on cholinergic receptor sensitivity and passive avoidance behavior in clomipramine model of depression. *Brain Res* 867:243-245.
- Prevot E, Maudhuit C, Le Poul E, Hamon M, Adrien J (1996) Sleep deprivation reduces the citalopram-induced inhibition of serotonergic neuronal firing in the nucleus raphe dorsalis of the rat. *J Sleep Res* 5:238-245.
- Prisco S, Esposito E (1995) Differential effects of acute and chronic fluoxetine administration on the spontaneous activity of dopaminergic neurones in the ventral tegmental area. *Br J Pharmacol* 116:1923-1931.

- Pytliak M, Vargova V, Mechirova V, Felsoci M (2011) Serotonin receptors - from molecular biology to clinical applications. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 60:15-25.
- R Development Core Team. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2008.
- Raghavachari S, Kahana MJ, Rizzuto DS, Caplan JB, Kirschen MP, Bourgeois B, Madsen JR, Lisman JE (2001) Gating of human theta oscillations by a working memory task. *J Neurosci* 21:3175-3183.
- Reynolds CF, 3rd, Kupfer DJ (1987) Sleep research in affective illness: state of the art circa 1987. *Sleep* 10:199-215.
- Riemann D, Berger M, Voderholzer U (2001) Sleep and depression--results from psychobiological studies: an overview. *Biol Psychol* 57:67-103.
- Rizzuto DS, Madsen JR, Bromfield EB, Schulze-Bonhage A, Seelig D, Aschenbrenner-Scheibe R, Kahana MJ (2003) Reset of human neocortical oscillations during a working memory task. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:7931-7936.
- Rush AJ, Armitage R, Gillin JC, Yonkers KA, Winokur A, Moldofsky H, Vogel GW, Kaplita SB, Fleming JB, Montplaisir J, Erman MK, Albala BJ, McQuade RD (1998) Comparative effects of nefazodone and fluoxetine on sleep in outpatients with major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 44:3-14.
- Saito H, Sakai K, Jouvét M (1977) Discharge patterns of the nucleus parabrachialis lateralis neurons of the cat during sleep and waking. *Brain Res* 134:59-72.
- Sakai K, Jouvét M (1980) Brain stem PGO-on cells projecting directly to the cat dorsal lateral geniculate nucleus. *Brain Res* 194:500-505.
- Sanchez C (2006) The pharmacology of citalopram enantiomers: the antagonism by R-citalopram on the effect of S-citalopram. *Basic & clinical pharmacology & toxicology* 99:91-95.
- Sanchez C, Bogeso KP, Ebert B, Reines EH, Braestrup C (2004) Escitalopram versus citalopram: the surprising role of the R-enantiomer. *Psychopharmacology (Berl)* 174:163-176.
- Saper CB, Chou TC, Scammell TE (2001) The sleep switch: hypothalamic control of sleep and wakefulness. *Trends in neurosciences* 24:726-731.

- Saper CB, Fuller PM, Pedersen NP, Lu J, Scammell TE (2010) Sleep state switching. *Neuron* 68:1023-1042.
- Saper CB, Loewy AD (1980) Efferent connections of the parabrachial nucleus in the rat. *Brain Res* 197:291-317.
- Satoh K, Fibiger HC (1986) Cholinergic neurons of the laterodorsal tegmental nucleus: efferent and afferent connections. *J Comp Neurol* 253:277-302.
- Schlag BD, Lou Z, Fennell M, Dunlop J (2004) Ligand dependency of 5-hydroxytryptamine 2C receptor internalization. *J Pharmacol Exp Ther* 310:865-870.
- Serrats J, Mengod G, Cortes R (2005) Expression of serotonin 5-HT_{2C} receptors in GABA-ergic cells of the anterior raphe nuclei. *J Chem Neuroanat* 29:83-91.
- Sharpley AL, Williamson DJ, Attenburrow ME, Pearson G, Sargent P, Cowen PJ (1996) The effects of paroxetine and nefazodone on sleep: a placebo controlled trial. *Psychopharmacology (Berl)* 126:50-54.
- Sherin JE, Elmquist JK, Torrealba F, Saper CB (1998) Innervation of histaminergic tuberomammillary neurons by GABA-ergic and galaninergic neurons in the ventrolateral preoptic nucleus of the rat. *J Neurosci* 18:4705-4721.
- Shiromani PJ, Overstreet D, Levy D, Goodrich CA, Campbell SS, Gillin JC (1988) Increased REM sleep in rats selectively bred for cholinergic hyperactivity. *Neuropsychopharmacology* 1:127-133.
- Silva RH, Abilio VC, Takatsu AL, Kameda SR, Grassl C, Chehin AB, Medrano WA, Calzavara MB, Registro S, Andersen ML, Machado RB, Carvalho RC, Ribeiro Rde A, Tufik S, Frussa-Filho R (2004a) Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. *Neuropharmacology* 46:895-903.
- Silva RH, Kameda SR, Carvalho RC, Takatsu-Coleman AL, Niigaki ST, Abilio VC, Tufik S, Frussa-Filho R (2004b) Anxiogenic effect of sleep deprivation in the elevated plus-maze test in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 176:115-122.
- Smith MI, Piper DC, Duxon MS, Upton N (2002) Effect of SB-243213, a selective 5-HT_{2C} receptor antagonist, on the rat sleep profile: a comparison to paroxetine. *Pharmacol Biochem Behav* 71:599-605.

- Sogaard B, Mengel H, Rao N, Larsen F (2005) The pharmacokinetics of escitalopram after oral and intravenous administration of single and multiple doses to healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 45:1400-1406.
- Sorman E, Wang D, Hajos M, Kocsis B (2011) Control of hippocampal theta rhythm by serotonin: Role of 5-HT_{2c} receptors. *Neuropharmacology*.
- Southmayd SE, David MM, Cairns J, Delva NJ, Letemendia FJ, Waldron JJ (1990) Sleep deprivation in depression: pattern of relapse and characteristics of preceding sleep. *Biol Psychiatry* 28:979-988.
- Stahl SM (1998) Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *J Affect Disord* 51:215-235.
- Steiger A, Guldner J, Colla-Muller M, Friess E, Sonntag A, Schier T (1994) Growth hormone-releasing hormone (GHRH)-induced effects on sleep EEG and nocturnal secretion of growth hormone, cortisol and ACTH in patients with major depression. *J Psychiatr Res* 28:225-238.
- Steiger A, von Bardeleben U, Herth T, Holsboer F (1989) Sleep EEG and nocturnal secretion of cortisol and growth hormone in male patients with endogenous depression before treatment and after recovery. *J Affect Disord* 16:189-195.
- Steriade M (2006) Grouping of brain rhythms in corticothalamic systems. *Neuroscience* 137:1087-1106.
- Steriade M, McCormick DA, Sejnowski TJ (1993) Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 262:679-685.
- Suchecki D, Tiba PA, Tufik S (2002a) Hormonal and behavioural responses of paradoxical sleep-deprived rats to the elevated plus maze. *J Neuroendocrinol* 14:549-554.
- Suchecki D, Tiba PA, Tufik S (2002b) Paradoxical sleep deprivation facilitates subsequent corticosterone response to a mild stressor in rats. *Neuroscience Letters* 320:45-48.
- Takahashi K, Kayama Y, Lin JS, Sakai K (2010) Locus coeruleus neuronal activity during the sleep-waking cycle in mice. *Neuroscience* 169:1115-1126.

- Takahashi K, Lin JS, Sakai K (2006) Neuronal activity of histaminergic tuberomammillary neurons during wake-sleep states in the mouse. *J Neurosci* 26:10292-10298.
- Takahashi K, Lin JS, Sakai K (2009) Characterization and mapping of sleep-waking specific neurons in the basal forebrain and preoptic hypothalamus in mice. *Neuroscience* 161:269-292.
- Tecott LH, Sun LM, Akana SF, Strack AM, Lowenstein DH, Dallman MF, Julius D (1995) Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2c} serotonin receptors. *Nature* 374:542-546.
- Thakkar MM, Strecker RE, McCarley RW (1998) Behavioral state control through differential serotonergic inhibition in the mesopontine cholinergic nuclei: a simultaneous unit recording and microdialysis study. *J Neurosci* 18:5490-5497.
- Tiba PA, Tufik S, Suchecki D (2004) Effects of maternal separation on baseline sleep and cold stress-induced sleep rebound in adult Wistar rats. *Sleep* 27:1146-1153.
- Tissier MH, Lainey E, Fattaccini CM, Hamon M, Adrien J (1993) Effects of ipsapirone, a 5-HT_{1A} agonist, on sleep/wakefulness cycles: probable post-synaptic action. *J Sleep Res* 2:103-109.
- To CT, Anheuer ZE, Bagdy G (1999) Effects of acute and chronic fluoxetine treatment of CRH-induced anxiety. *Neuroreport* 10:553-555.
- To CT, Bagdy G (1999) Anxiogenic effect of central CCK administration is attenuated by chronic fluoxetine or ipsapirone treatment. *Neuropharmacology* 38:279-282.
- Touma C, Fenzl T, Ruschel J, Palme R, Holsboer F, Kimura M, Landgraf R (2009) Rhythmicity in mice selected for extremes in stress reactivity: behavioural, endocrine and sleep changes resembling endophenotypes of major depression. *PloS one* 4:e4325.
- Ulrichsen J, Partilla JS, Dax EM (1992) Long-term administration of m-chlorophenylpiperazine (mCPP) to rats induces changes in serotonin receptor binding, dopamine levels and locomotor activity without altering prolactin and corticosterone secretion. *Psychopharmacology (Berl)* 107:229-235.
- Ursin R (2002) Serotonin and sleep. *Sleep Med Rev* 6:55-69.

- Uschakov A, Gong H, McGinty D, Szymusiak R (2007) Efferent projections from the median preoptic nucleus to sleep- and arousal-regulatory nuclei in the rat brain. *Neuroscience* 150:104-120.
- van Bommel AL, van den Hoofdakker RH, Beersma DG, Bouhuys AL (1993) Changes in sleep polygraphic variables and clinical state in depressed patients during treatment with citalopram. *Psychopharmacology (Berl)* 113:225-230.
- Vanderwolf CH (1969) Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 26:407-418.
- Vas S, Katai Z, Kostyalik D, Pap D, Molnar E, Petschner P, Kalmar L, Bagdy G (2013) Differential adaptation of REM sleep latency, intermediate stage and theta power effects of escitalopram after chronic treatment. *J Neural Transm* 120:169-176.
- Vertes RP, Kocsis B (1997) Brainstem-diencephalo-septohippocampal systems controlling the theta rhythm of the hippocampus. *Neuroscience* 81:893-926.
- Vetrivelan R, Fuller PM, Tong Q, Lu J (2009) Medullary circuitry regulating rapid eye movement sleep and motor atonia. *J Neurosci* 29:9361-9369.
- Vogel G, Neill D, Kors D, Hagler M (1990) REM sleep abnormalities in a new animal model of endogenous depression. *Neurosci Biobehav Rev* 14:77-83.
- Vogel GW, Vogel F, McAbee RS, Thurmond AJ (1980) Improvement of depression by REM sleep deprivation. New findings and a theory. *Arch Gen Psychiatry* 37:247-253.
- Vyazovskiy VV, Achermann P, Tobler I (2007) Sleep homeostasis in the rat in the light and dark period. *Brain Res Bull* 74:37-44.
- Wang Q, O'Brien PJ, Chen CX, Cho DS, Murray JM, Nishikura K (2000) Altered G protein-coupling functions of RNA editing isoform and splicing variant serotonin_{2C} receptors. *J Neurochem* 74:1290-1300.
- Wells KB, Stewart A, Hays RD, Burnam MA, Rogers W, Daniels M, Berry S, Greenfield S, Ware J (1989) The functioning and well-being of depressed patients. Results from the Medical Outcomes Study. *Jama* 262:914-919.
- William O Tatum IV. Normal EEG. In: B. Barry (szerk.), *Handbook of EEG Interpretation*. Demos Medical Publishing, New York, 2008: 1-54.

- Wilson S, Argyropoulos S (2005) Antidepressants and sleep: a qualitative review of the literature. *Drugs* 65:927-947.
- Wilson S, Nutt D. *Sleep Disorders*, Oxford University Press, Oxford, 2013: 84.
- Wilson SJ, Bailey JE, Rich AS, Adrover M, Potokar J, Nutt DJ (2004) Using sleep to evaluate comparative serotonergic effects of paroxetine and citalopram. *Eur Neuropsychopharmacol* 14:367-372.
- Winson J (1972) Interspecies differences in the occurrence of theta. *Behavioral biology* 7:479-487.
- Wirz-Justice A, Van den Hoofdakker RH (1999) Sleep deprivation in depression: what do we know, where do we go? *Biol Psychiatry* 46:445-453.
- Wood MD, Reavill C, Trail B, Wilson A, Stean T, Kennett GA, Lightowler S, Blackburn TP, Thomas D, Gager TL, Riley G, Holland V, Bromidge SM, Forbes IT, Middlemiss DN (2001) SB-243213; a selective 5-HT_{2C} receptor inverse agonist with improved anxiolytic profile: lack of tolerance and withdrawal anxiety. *Neuropharmacology* 41:186-199.
- Wu JC, Bunney WE (1990) The biological basis of an antidepressant response to sleep deprivation and relapse: review and hypothesis. *Am J Psychiatry* 147:14-21.
- Wyatt RJ, Fram DH, Kupfer DJ, Snyder F (1971) Total prolonged drug-induced REM sleep suppression in anxious-depressed patients. *Arch Gen Psychiatry* 24:145-155.
- Yamauchi M, Tatebayashi T, Nagase K, Kojima M, Imanishi T (2004) Chronic treatment with fluvoxamine desensitizes 5-HT_{2C} receptor-mediated hypolocomotion in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 78:683-689.
- Yang MC, Hirsch CJ (1973) The use of a semi-Markov model for describing sleep patterns. *Biometrics* 29:667-676.
- Yassouridis A, Steiger A, Klinger A, Fahrmeir L (1999) Modelling and exploring human sleep with event history analysis. *J Sleep Res* 8:25-36.
- You Z, Luo C, Zhang W, Chen Y, He J, Zhao Q, Zuo R, Wu Y (2011) Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: involvement in depression. *Behav Brain Res* 225:135-141.

Zung WW, Naylor TH, Gianturco DT, Wilson WP (1965) Computer simulation of sleep EEG patterns with a Markov chain model. *Recent Adv Biol Psychiatry* 8:335-355.

11 Saját publikációk jegyzéke

11.1 Az értekezéshez kapcsolódó közlemények listája

1. Kostyalik D, Katai Z, Vas S, Pap D, Petschner P, Molnar E, Gyertyan I, Kalmar L, Tothfalusi L, Bagdy G (2014) Chronic escitalopram treatment caused dissociative adaptation in serotonin (5-HT) 2C receptor antagonist-induced effects in REM sleep, wake and theta wave activity. *Experimental brain research* 232:935-946.
2. Kostyalik D, Vas S, Katai Z, Kitka T, Gyertyan I, Bagdy G, Tothfalusi L (2014) Chronic escitalopram treatment attenuated the accelerated rapid eye movement sleep transitions after selective rapid eye movement sleep deprivation: a model-based analysis using Markov chains. *BMC Neurosci* 15:120.

11.2 Az értekezéshez nem tartozó, független közlemények listája

1. Bergman P, Adori C, Vas S, Kai-Larsen Y, Sarkanen T, Cederlund A, Agerberth B, Julkunen I, Horvath B, Kostyalik D, Kalmar L, Bagdy G, Huutoniemi A, Partinen M, Hokfelt T (2014) Narcolepsy patients have antibodies that stain distinct cell populations in rat brain and influence sleep patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E3735-3744.
2. Katai Z, Adori C, Kitka T, Vas S, Kalmar L, Kostyalik D, Tothfalusi L, Palkovits M, Bagdy G (2013) Acute escitalopram treatment inhibits REM sleep rebound and activation of MCH-expressing neurons in the lateral hypothalamus after long term selective REM sleep deprivation. *Psychopharmacology (Berl)* 228:439-449.
3. Vas S, Katai Z, Kostyalik D, Pap D, Molnar E, Petschner P, Kalmar L, Bagdy G (2013) Differential adaptation of REM sleep latency, intermediate

stage and theta power effects of escitalopram after chronic treatment. J Neural Transm 120:169-176.

4. Volk B, Nagy BJ, Vas S, Kostyalik D, Simig G, Bagdy G (2010) Medicinal chemistry of 5-HT_{5A} receptor ligands: a receptor subtype with unique therapeutical potential. Curr Top Med Chem 10:554-578.

12 Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet nyilvánítani témavezetőmnek, Dr. Tóthfalusi Lászlónak, konzulensemnek, Prof. Bagdy Györgynek, szerzőtársaimnak, Kátai Zitának, Vas Szilviának, Molnár Eszternek, Pap Dorottyának, Kalmár Lajosnak, Petschner Péternek és Gyertyán Istvánnak a munkámhoz nyújtott segítségért, valamint családomnak és barátaimnak az ösztönzésért és támogatásért.