

AZ ESCITALOPRAM ÉS EGY 5-HT_{2C} RECEPTOR ANTAGONISTA HATÁSAI AZ EEG GAMMA OSZCILLÁCIÓKRA

Doktori tézisek

Papp Noémi

Gyógyszertudományok Doktori Iskola
Semmelweis Egyetem



Témavezető: Dr. Bagdy György, D.Sc., egyetemi tanár

Hivatalos bírálók:

Dr. Hernádi István, PhD, egyetemi docens

Dr. Bódizs Róbert, PhD, tudományos főmunkatárs

Komplex vizsga bizottság elnöke:

Dr. Benyó Zoltán, D.Sc., egyetemi tanár

Komplex vizsga bizottság tagjai:

Dr. Miklya Ildikó, PhD, egyetemi docens

Dr. Tóth Attila, PhD, egyetemi adjunktus

Budapest

2020

1. Bevezetés

A neuronpopulációk elektromos aktivitását regisztráló elektroencefalográfia (EEG) segítségével vizsgálhatók az ébrenlét ciklus szerkezetében (pl. a gyors szemmozgással kísért alvásban, REMS-ben töltött idő), valamint az agyi oszcillációkban bekövetkező változások. Az EEG jel frekvenciák szerinti bontásával kapott teljesítményspektrum analízise (kvantitatív EEG, qEEG) során nevezetes frekvenciatartományok különíthetők el, melyek különböző agyi funkciókat, illetve állapotokat tükröznek.

A gamma frekvenciatartományba (30-60 Hz) eső oszcillációk az EEG viszonylag magas frekvenciájú komponensei. Generálásukban a fő szerepet a gyorsan tüzelő, parvalbumin-pozitív GABAerg interneuronok játsszák. A gamma oszcillációk mind ébrenlét alatt, mind pedig alvásban számos központi idegrendszeri funkcióval kapcsolatba hozhatók, ilyenek például a memóriafolyamatok, valamint bizonyos kognitív és szenzoros működések. Ennek megfelelően több, e funkciók károsodásával járó kórképben a gamma aktivitás is rendellenes.

Egyre több tudományos bizonyíték támasztja alá a gamma oszcillációk jelentőségét depresszióban. A major depresszió ösztársadalmi szinten a legnagyobb betegségteherrel járó

állapot. A betegek döntő többségénél, valamint a depresszió állatmodelljeiben fellépő jellegzetes alvászavarok (pl. REMS korai megjelenése, fragmentált alvás), illetve az alvásmegvonás akut antidepresszáns hatása az alvásszabályozás és a depresszió szoros kapcsolatát igazolja. Depresszióban bizonyos spektrális eltéréseket is leírtak, azonban az irodalmi adatok ebben a kérdésben kevésbé egyértelműek. A depresszióval kapcsolatba hozott qEEG paraméterek közül a gamma oszcillációk eltéréseit már annyi bizonyíték támasztja alá, hogy felmerült biomarkerként való alkalmazhatóságuk a depresszió patofiziológiai folyamatai, valamint az antidepresszáns terápia klinikai hatékonyságának nyomon követésében.

A szerotonerg (5-HT) rendszer fontos szabályozó szereppel bír számos központi idegrendszeri funkcióban, a görcskészségtől a hangulaton át a kognícióig. Az alvás-ébrenlét ciklus szabályozásában a 5-HT neuronok ébrenlétet elősegítő és REMS-t gátló hatást váltanak ki. A 5-HT az agyi oszcillációk szabályozásában is részt vesz, ám ennek mechanizmusai és az azokat mediáló receptorok még nem teljesen tisztázottak. A depresszió patomechanizmusa is, legalább részben, 5-HT diszfunkcióhoz köthető. Ezt alátámasztja, hogy a neurotransmitter-rendszer a legtöbb mai antidepresszáns gyógyszer elsődleges célpontja.

A szelektív szerotonin visszavételgátló (SSRI) antidepresszánsok a szerotonin-transzporter (5-HTT) blokkolásával fokozzák a 5-HT szintet a szinaptikus részben. A hosszan tartó adagolásuk során fellépő adaptív receptorális változások következtében 2-3 hetes latenciával jelenik meg a terápiás hatásuk és szűnnek meg bizonyos mellékhatásaik. Az escitalopram a gyógyszercsoport jellemző képviselője, mely a 5-HTT iránti magas szelektivitásának köszönhetően kedvező mellékhatásprofilal rendelkezik. Befolyásolja az alvás-ébrenlét ciklust és az EEG spektrum alacsonyabb frekvenciáit is, ahol, a terápiás hatásbeli eltéréshez hasonlóan, szintén megjelenik az akut és krónikus hatások közti különbség (pl. akután csökkenti a REMS-ben töltött időt, mely krónikus kezelésben eltűnik). Az escitalopram gamma oszcillációkra gyakorolt hatásai tekintetében ismereteink még hiányosak.

A 5-HT hatásait közvetítő receptorok közül a $2C$ altípust ($5-HT_{2C}R$) kapcsolatba hozták depresszióval, szorongással, illetve az ezekkel együtt járó vegetatív eltérésekkel, mint például az alvás vagy a táplálékfelvétel eltérései. Ezt alátámasztja, hogy egyes antidepresszánsok (pl. fluoxetin, trazodon, agomelatin) rendelkeznek $5-HT_{2C}R$ antagonistá tulajdonsággal is, mely hozzájárulhat terápiás hatásukhoz. A nagy szelektivitású $5-HT_{2C}R$ antagonistá SB-242084 rágszálókban anxiolitikus és

antidepresszáns hatásának bizonyult, az SSRI fluoxetinnel kombinálva pedig annak kedvező hatásait potenciózta. Az alvásszerkezetre (REMS csökkentése), valamint az EEG spektrumra (theta teljesítmény csökkentése ébrenlét és REMS alatt) gyakorolt hatásai már ismertek, de a gamma oszcillációkra vonatkozó vizsgálat még nem történt.

2. Célkitűzések

Mindezek alapján célul tűztük ki, hogy választ kapjunk az alábbiakra:

(1) Hogyan alakul a gamma teljesítmény az egyes alvás-ébrenlét stádiumokban?

Okoz-e változást a gamma teljesítményben bármelyik alvás-ébrenlét stádiumban

(2) az SSRI escitalopram, akutan, illetve krónikusan adagolva? Van-e különbség az akut és a krónikus escitalopram hatásai között?

(3) az 5-HT_{2c}R antagonistá SB-242084, akutan? Van-e különbség a krónikus escitalopram és az akut SB-242084 hatásai között?

(4) a krónikus escitalopram és az akut SB-242084 kombinációja?

3. Módszerek

A fenti kérdések megválaszolására két EEG kísérletet végeztünk hím Wistar patkányokon. Inhalációs anesztézia alatt kortikális csavarelektrodokat (frontoparietális EEG elvezetéséhez) és nyaki elektromiográfiás (EMG) elektrodokat ültettünk be. A műtéttől való regenerációt követően az állatokat hozzászoktattuk a mérési körülményekhez.

3.1. Kísérleti elrendezés

Az első kísérletben (*Escitalopram kísérlet*) az escitalopram gamma teljesítményre kifejtett akut, illetve krónikus hatásait vizsgáltuk. Ennek érdekében az állatokat az alábbi 4 kezelési csoportba osztottuk:

- akut escitalopram ($n = 7$),
- akut vivőanyag ($n = 7$),
- krónikus escitalopram ($n = 7$),
- krónikus vivőanyag ($n = 6$).

Az akut csoportokba tartozó állatokat 10 mg/kg escitalopramot vagy vivőanyagot tartalmazó intraperitoneális injekcióval kezeltük a passzív fázis kezdetén (a fény felkapcsolódásakor), közvetlenül a felvétel indítása előtt. A krónikus csoportokba tartozó állatok kezelése a háti bőr alá beültetett ozmotikus

minipumpák segítségével történt, melyek 10 mg/kg/nap escitalopram vagy vivőanyag adagolását tették lehetővé 21 napig. A 21. napon a felvétel indítása az akut csoportokhoz hasonlóan történt.

A második kísérletben (*SB-242084 kísérlet*) az SB-242084 gamma teljesítményre kifejtett akut hatását vizsgáltuk önmagában vagy krónikus escitalopram előkezelés után. Ennek érdekében az állatokat az alábbi 4 kezelési csoportba osztottuk:

- krónikus vivőanyag és akut vivőanyag ($n = 6$),
- krónikus vivőanyag és akut SB-242084 ($n = 6$),
- krónikus escitalopram és akut vivőanyag ($n = 6$),
- krónikus escitalopram és akut SB-242084 ($n = 6$).

A 21 napos krónikus előkezelések ozmotikus minipumpák segítségével történtek, melyek az *Escitalopram kísérlethez* hasonlóan 10 mg/kg/nap escitalopramot vagy vivőanyagot adagoltak. Az akut, 1 mg/kg SB-242084 vagy vivőanyag kezelések intraperitoneálisan történtek, a passzív fázis kezdetén, a felvétel indítása előtt közvetlenül.

Az EEG és EMG jelek regisztrálása mellett az állatok motoros aktivitását is detektáltuk, az EEG és EMG jeleket továbbító kábel mozgásából.

3.2. A felvételek kiértékelése

Az értékelést a felvételek első 3 órájában, *Sleep Sign for Animal* szoftver segítségével, 4 másodperces szakaszonként végeztük (automata elemzés, vizuális felülbírálattal). Ennek során az EEG, az EMG és a motoros aktivitás jelek alapján a következő alvás-ébrenlét stádiumokat különítettük el:

- AW (active wake, aktív ébrenlét),
- PW (passive wake, passzív ébrenlét),
- SWS-1 (light slow-wave sleep, felületes lassú hullámú alvás),
- SWS-2 (deep slow-wave sleep, mély lassú hullámú alvás),
- IS (intermediate stage of sleep, köztes szakasz; egy rövid, átmeneti állapot közvetlenül REMS előtt, illetve esetenként utána),
- REMS (rapid eye movement sleep, gyors szemmozgásokkal kísért alvás).

Ezt követően Fast Fourier transzformáció segítségével meghatároztuk az egyes stádiumokhoz tartozó gamma frekvenciatartománybeli (30-60 Hz) EEG teljesítményt.

3.3. Statisztika

Az egyes alvás-ébrenlét stádiumokban kapott adatokat a 3 órára összesítettük. A gamma aktivitás stádiumonkénti alakulásának

vizsgálatához a teljesítmény értékeket a 30-60 Hz tartományban összegeztük, és egyutas, ismétléses varianciaanalízis (analysis of variance, ANOVA) segítségével értékeltük (ismétléses faktor: alany). A spektrumanalízis során kétutas, ismétléses ANOVA (ismétléses faktor: frekvencia, nem-ismétléses faktor: kezelési csoport) tesztet használtunk. Szignifikáns kezelés hatás esetén az ANOVA után Bonferroni *post hoc* tesztet alkalmaztunk. Szignifikáns hatást $p < 0.05$ esetén állapítottunk meg.

4. Eredmények

4.1. Escitalopram kísérlet

A hatóanyaggal nem kezelt állatok EEG teljesítményspektrumainak vizsgálata során egyértelműen igazoltuk, hogy a gamma teljesítmény alvás-ébrenlét stádiumfüggő ingadozást mutat. A legmagasabb gamma aktivitás AW és REMS alatt volt megfigyelhető. A stádiumok gamma teljesítmény alapján az alábbi két csoportra választhatók: viszonylag magas gamma aktivitású stádiumok (AW, REMS, és PW), valamint viszonylag alacsony gamma aktivitásúak (SWS-1, IS, és SWS-2).

Az escitalopram akutan nem befolyásolta a gamma teljesítményt sem az ébrenléti stádiumokban (AW, PW), sem pedig a lassú hullámú alvási stádiumokban (SWS-1, SWS-2). IS alatt azonban némi csökkenés, míg REMS alatt markáns csökkenés volt megfigyelhető a gamma teljesítményben a szer akut hatására.

Az escitalopram krónikus kezelés során sem volt hatással az ébrenlét alatti gamma aktivitásra (AW, PW). Ezzel szemben SWS-1 és SWS-2 alatt markánsan növelte a gamma teljesítményt. IS alatt szintén növekedés volt megfigyelhető, míg REMS alatt nem találtunk szignifikáns változást.

Az escitalopram akut és krónikus hatásait összehasonlítva szembeötlő a különbség, mely alvás-ébrenlét stádiumtól függően mutatkozik meg. Míg akut kezelés során csökkenő teljesítményt láhattunk IS és REMS alatt, a krónikus kezelés gamma teljesítményt fokozó hatása SWS-1 és SWS-2 stádiumokban volt kifejezett.

4.2. SB-242084 kísérlet

Az SB-242084 vegyület AW alatt nem okozott változást a gamma teljesítményben, PW alatt azonban némi fokozódást figyeltünk meg. A legmarkánsabb hatások SWS-1 és SWS-2 alatt jelentek meg, amikor is a gamma teljesítmény növekedése

a krónikus escitalopramhoz hasonló mértékű volt. Végül sem IS, sem pedig REMS alatt nem találtunk szignifikáns eltérést ebben a frekvenciatartományban.

Az akut SB-242084 és a krónikus escitalopram gamma teljesítményre kifejtett hatásai minden alvás-ébrenlét stádiumban hasonlóak voltak.

A két szer kombinációja az egyes adagolásokhoz viszonyítva hasonló változásokat indukált, további befolyásolás nem volt látható.

5. Következtetések

- A gamma aktivitás alvás-ébrenlét stádiumfüggő alakulása és a kortikális aktiváció szintje között párhuzam vonható: míg a fokozott kortikális aktivációval jellemezhető stádiumokban (ébrenlét, REMS) magasabb, a csökkent kortikális aktivációval jellemezhető stádiumokban (non-REMS) alacsonyabb gamma teljesítményt figyeltünk meg, a szakirodalmi adatokkal összhangban.
- Az escitalopram akut és krónikus adagolás során egyaránt befolyásolta a gamma teljesítményt, azonban a hatások között markáns, alvás-ébrenlét stádiumfüggő különbség volt megfigyelhető. Az akut és a krónikus hatások közti

különbség összhangban áll a rövid, illetve hosszú távú alkalmazás során eltérő terápiás, illetve mellékhatásokkal.

- Ébrenlét alatt az escitalopram a kezelés időtartamától függetlenül a gamma teljesítményre nem volt hatással, ami arra utal, hogy a szer az ébrenlét alatti, gamma aktivitáshoz köthető központi idegrendszeri funkciókat (pl. figyelem, koncentráció) nem rontja.
- Az akut escitalopram kezelés REMS alatti gamma teljesítményt csökkentő hatása, tekintettel a stádium memóriefunkciókban betöltött szerepére, tükrözheti a memória érintettségét, romlását mint mellékhatást, de ez a változás a terápiás hatás kialakulásának egy korai lépését is jelentheti.
- A krónikus escitalopram kezelés ezzel szemben növelte a gamma teljesítményt SWS-1 és SWS-2 alatt, ami magával az antidepresszáns hatással állhat összefüggésben.
- Az akut SB-242084 és a krónikus escitalopram hasonló hatásaiból valószínűsíthető, hogy az escitalopram a 5-HT_{2C}R antagonistá jellegű hatásán keresztül fokozta a gamma teljesítményt a lassú hullámú alvásstádiumok alatt. Ezt alátámasztja, hogy kombinációjuk során nem befolyásolták (nem gátolták vagy potenciózták) egymás hatását.

Eredményeink megerősítik a 5-HT_{2C}R antagonisták potenciális antidepresszánsként való alkalmazhatóságát monoterápiában vagy SSRI-vel való kombinációban. Az eredmények alátámasztják továbbá az EEG gamma oszcillációk és az antidepresszáns terápiák hatékonyságának feltételezett kapcsolatát. A hipotézis igazolásához, valamint a mechanizmusban a szerotonerg rendszer szerepének mélyrehatóbb tisztázásához további, depressziós állatmodelleket is bevonó vizsgálatok szükségesek.

6. Saját publikációk jegyzéke

6.1. A disszertáció alapjául szolgáló közlemények

1. **Papp N**, Koncz S, Kostyalik D, Kitka T, Petschner P, Vas S, Bagdy G. (2019) Acute 5-HT_{2C} Receptor Antagonist SB-242084 Treatment Affects EEG Gamma Band Activity Similarly to Chronic Escitalopram. *Front Pharmacol*, 10: 1636. IF: 4.225 (2019)
2. **Papp N**, Vas S, Bogathy E, Katai Z, Kostyalik D, Bagdy G. (2018) Acute and chronic escitalopram alter EEG gamma oscillations differently: relevance to therapeutic effects. *Eur J Pharm Sci*, 121: 347-355. IF: 3.532 (2018)

6.2. A disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények

1. Bogathy E, **Papp N**, Vas S, Bagdy G, Tothfalusi L. (2019) AM-251, A Cannabinoid Antagonist, Modifies the Dynamics of Sleep-Wake Cycles in Rats. *Front Pharmacol*, 10: 831. IF: 4.225 (2019)
2. Bogathy E, **Papp N**, Tothfalusi L, Vas S, Bagdy G. (2019) Additive effect of 5-HT_{2C} and CB1 receptor blockade on the regulation of sleep-wake cycle. *BMC Neurosci*, 20: 14. IF: 2.811 (2019)