

**Szent István Egyetem**  
**Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

**A trigeminális nociceptív funkció  
vizsgálata lovakon**

A doktori értekezés tézisei

Veres-Nyéki Kata Orsolya

2014

Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....

**Bodó Gábor**, DVM, Dr. vet. med, PhD, habil., DipECVS  
Témavezető

Lógyógyászati Klinika vezetője  
Szent István Egyetem  
Állatorvos-tudományi Kar

**Spadavecchia, Claudia**, Prof, DVM, Dr.med.vet, PhD,  
DipECVAA  
Konzulens

Anaesthesiology Division  
Department of Clinical Veterinary Medicine  
Vetsuisse Faculty, University of Bern

Készült: 8 példányban. Ez a ... sz. példány.

.....

Veres-Nyéki Kata Orsolya, DVM, Dr.med.vet, DipECVAA,  
MRCVS

## **1. A munka előzményei, a kitűzött célok**

A fájdalom sikeres kezelése az állatorvosok egyik legfontosabb feladatává vált az elmúlt évtizedben. Szerencsére a lovakkal foglalkozó állatorvosok is felismerték, hogy a fájdalomcsillapításnak több az előnye, mint a mellékhatása (Taylor, Pascoe et al. 2002). A fájdalomcsillapítás elmulasztása számos nemkívánatos következménnyel jár, úgy mint a szimpatikus idegrendszer stimulációja, a hormonrendszer egyensúlyának megbomlása és patológiás fájdalom kórképek kialakulása. E tényezők összességében a stressz szint megemelkedéséhez és akár végkimerüléshez is vezethetnek, mely negatívan befolyásolja a páciensek életminőségét, ezzel állatjóléti kérdéseket vetve fel (Stafford and Mellor 2007; Lerche and Muir 2008).

Tehát a megfelelő fájdalomcsillapítás szükségessége nem vitatható és szerencsére a folyamatos kutatás segít megérteni a különböző fájdalom-típusok hátterében álló folyamatokat. Így lehetőség nyílik a fájdalom mechanizmusának megfelelő kezelések alkalmazására (Vinueza-Fernandez, Jones et al. 2007); habár lovakon végzett ilyen irányú vizsgálatok még nem kerültek publikálásra (Muir 2010). A különböző, a fájdalom csillapítását szolgáló módszerek mellett az eredményes fájdalom-menedzsment a fájdalom effektív és

pontos elbírálásán alapszik (Stafford and Mellor 2007). A fájdalom felismerése és elbírálása lovakon óriási kihívást jelent számunkra, mert beszédre képtelen préda állatokról van szó, akik próbálják elrejteni a fájdalom árulkodó tüneteit. Továbbá köztudott az is, hogy a fájdalom egy szubjektív, többdimenziós, széles individuális variabilitással rendelkező tapasztalat, melynek objektív mérőszámai egyelőre nincsenek (Taylor, Pascoe et al. 2002; Lerche and Muir 2008).

A lovak idiopatikus fejrázása az egyik olyan kórkép, melynek háttérében patológiás fájdalom formák állhatnak. A betegség tünetei, úgymint az orrdörgölés, prüszkölés, a fej hirtelen felrántása munka során súlyosbodhatnak, lovagolhatatlanná téve ezzel a lovakat. Számtalan érintett állat állatjóléti okokból elaltatásra kerül, mert egyértelműen súlyos mértékű szenvedésnek vannak kitéve. Bár a klinikai tünetek mögött álló kórélettani tényezők nem ismertek (Newton, 2005), a trigeminális idegből eredő neuropatikus fájdalom lehet felelős a megfigyelt tünetekért (Newton et al., 2000; Roberts et al., 2009). Ezt a feltételezést erősíti az a tény, hogy a humán trigeminális neuralgia kezelésére használt szereket alkalmazták sikerrel bizonyos fejrázós lovaknál (Newton et al., 2000).

A trigeminális idegek élettani és kóros működésének vizsgálatára embereken elektromos stimulációval kiváltott

reflexek alkalmazhatóak. Mivel feltehetőleg a trigeminális ideg neuropátiás elváltozása okozhatja a lovak idiopátiás fejrázás kórképét, a trigeminális ideg funkciójának vizsgálata elektrofiziológiai módszerekkel új perspektívát nyújthat a betegség kórlelettanának megértéséhez.

A legjobb tudomásunk szerint a trigemino-cervikális reflex (TCR) még nem került leírásra lovakon, valamint a pislogási reflexet (blink reflex – BR) is csak bódított lovakon írták le; habár az ezekhez kapcsolódó elektrofiziológiai paraméterek diagnosztikai lehetőséget nyújthatnak a lovak trigeminális rendszerének megbetegedéseinél, nem-szedált állatokon. A trigeminális nocicepció működésének jobb megértése elősegítheti a trigeminális ideg diszfunkciójából eredő megbetegedések kezelését is.

A jelen doktori munka céljai tehát a következők voltak: (1) annak vizsgálata, hogy az infraorbitális vagy supraorbitális idegek (ION vagy SON) fájdalmas transzkután elektrostimulációja kiváltja-e a trigemino-cervikális reflexet lovakon az emberekhez hasonlóan; (2) a reflex elektrofiziológiai tulajdonságainak és az inger-válasz funkciójának leírása nem-szedált lovakon; (3) a BR vizsgálata a TCR kiváltása közben; (4) a trigeminális temporális szummáció küszöbértékének meghatározása, és (5) a trigeminális nociceptív reflexek elektrofiziológiai

tulajdonságainak vizsgálata ismétlődő elektromos stimuláció  
(repeated stimulation - RS) során nem-szedált állatokon.

## **2. Anyag és módszer**

### 2.1 Kísérleti állatok

Tíz melegvérű, egészséges felnőtt lovat (6 herélt, 4 kanca; 7 svájci félvér, 2 freiberger és 1 hannoveri) vizsgáltunk. A lovak klinikailag egészségesek voltak, idegrendszeri eltérést nem mutattak, életkoruk 14–23 év között volt, súlyuk pedig 540–640 kg. A kísérletek elvégzésére 2009 február 2-a és 28-a között került sor, a svájci Berni Állatkísérleti Bizottság engedélyével (kísérleti engedély száma: Tierversuche/Bewilligung 92/08). A méréseket a Berni Egyetem Állatorvos-tudományi Karán és a Nemzeti Lovasközpontban (NPZ Bern - Nationales Pferdezentrum Bern), szintén Bernben végeztük.

### 2.2 A vizsgálandó reflexek definíciója

A BR-t az orbicularis oculi (OO) izom összehúzódása váltja ki a trigeminális ideg által beidegzett bőrterület ingerlését követően. A reflex afferens ágát a trigeminális ideg érző rostjai alkotják, míg az efferens ágat a facialis ideg motoros rostjai képezik. Anor és mtsai (1996) szerint lovaknál a BR-nek három komponense van, melyek az R1, R2 és R3. A TCR-t a nyak izmainak aktivitása váltja ki a trigeminális ideg által beidegzett bőrterület ingerlésének hatására. A reflex afferens ágát a trigeminális ideg érző rostjai adják, míg az efferens ágat

a nyaki idegek motoros rostjai képezik. Embereken a felületi fájdalmas elektrostimuláció viszonylag késői reflex komponenseket vált ki, melyeknek látenciája jellemzően 40-50 ms (C3) (Ertekin et al., 1996, 2001; Serrao et al., 2003), míg a korai reflex komponensek (C1 és C2) általában csak mechanikai, percután, vagy nem fájdalmas elektrostimulációval válthatóak ki (Di Lazzaro et al., 1996; Ertekin et al., 2001; Leandri et al., 2001).

### 2.3 A kísérlet eszközei

A kísérleteket két etetés közé, a napi munka utánra időzítettük, hogy ezzel csökkentsük az állatokat érő stresszt és standardizáljuk a körülményeket. Minden állatot vénakatéterrel láttunk el, hogy ha a fájdalmas stimuláció hatására kezelhetetlenné válnának, a bódításukra azonnal lehetőségünk legyen. A mérésekre az állatokat kalodában helyeztük el. Az elektrofiziológiai méréseknél és a viselkedési reakciók bírálatánál ugyanaz a két megfigyelő (SC és V-NyK) volt jelen. A kísérletekhez használt elektrostimulátor egy speciálisan erre a célra készített, akkumulátorral működő, optoizolált, konstans áramerősséget alkalmazó készülék volt, melynek maximális feszültsége 200 V.

### 2.4 Az állatok viselkedésének pontozása

Az ingerlésre adott válaszreakció bírálatát ugyanaz a megfigyelő (V-NyK) végezte numerikus (numerical rating scale



– NRS; 1. Táblázat) és vizuális értékelő skálák (visual analogue scale - VAS) alkalmazásával. A vizuális analóg skála egy 100 mm-es vonal, melynek nulla értéke a baloldalon jelenti azt, ha a ló egyáltalán nem adott válaszreakciót a stimulációra, a jobb oldali szélsőérték pedig az elképzelhető legrosszabb adott reakciót jelöli. A baloldaltól milliméterekben mért távolság adja meg azt az értéket, mely a válaszreakció erősségét méri.

### **1. Táblázat**

*A viselkedési reakció értékelésére használt numerikus értékelő skála*

Pont	Megfigyelt viselkedés
0	nem reagál
1	pislog, de egyéb reakciót nem mutat
2	pislog és enyhén hátrahúzza a fejét
3	pislog és erőteljesen hátrahúzza a fejét
4	a teljes test hirtelen, erőteljes reakciója a stimulusra
5	az állat kezelhetetlenné válik

### 2.5 A reflexek kiváltása

A BR és TCR kiváltásához az infraorbitális vagy a supraorbitális ideg került transzkután stimulálásra öntapadós

elektrodpárok használatával (Ambu-700 05-J, Ambu A/S). Az elektródák helyét a foramen infraorbitale és supraorbitale fölött leborotváltam, és alkohollal zsírtalanítottam (Softasept N, B. Braun Medical). A stimulációs elektródák közül a katód az idegek koponyacsontokból való kilépésének helye fölé került, az anód tőle 20 mm-re dorzálisan.

#### 2.6 A reflexek mérése

A kísérletek egyszerűsítésének céljából, valamint hogy a kísérletben szereplő állatoknak a lehető legkevesebb kényelmetlenséget okozzuk, a reflexek mérését csak az elektrostimulációval megegyező oldalon végeztük. A BR mérése céljából a bal oldali szem külső oldalsó sarkára a m. orbicularis oculi fölé az előzetesen leborotvált és zsírtalanított bőrre öntapadós elektródák kerültek felhelyezésre. A TCR méréséhez erre a célra készített 7,5 cm hosszú, 0,35 mm átmérőjű rozsdamentes acél nem-izolált tű elektródákat alkalmaztunk. Ezeket egymástól 5 cm távolságra helyeztük bőr alá a m. splenius és a m. cleidomastoideus közepe fölé, a lehető legmerőlegesebben az izomrostokra. A földelő elektróda a mar bal oldalán az előzőleg benedvesített szőrre került felhelyezésre. Flexibilis vezetékeket csatlakoztattunk az elektródákhoz és ezeket a bőrhöz rögzítettük öntapadós szalagokkal, hogy megelőzzük szétcsatlakozásukat, és hogy kevésbé zavarják az állatokat. Az öntapadós elektródákat

öntapadós kötszer segítségével rögzítettük a bőrhöz, hogy könnyebben helyükön maradjanak. Az elektródák és a fül bázisa közötti távolságot lemértük, hogy ennek segítségével megbecsülhessük az idegek vezetési sebességét. A stimulációs elektródák közötti ellenállás értékét minden esetben ellenőriztük és 5 k $\Omega$  érték alatt tartottuk.

## 2.7 Elektrostimuláció

2.7.1 Szimpla stimuláció (single stimulus - SS) a TCR reflex küszöbintenzitásának meghatározására és az inger-válasz funkció vizsgálatára

Az elektrostimulátort manuálisan aktiváltuk, amikor az állatok testhelyzetét megfelelőnek ítéltük meg, azaz nem mozogtak, nyakuk egyenes volt és a splenius izom háttéraktivitása minimális volt. A vizsgált izmok EMG aktivitását rögzítettük a stimulációt megelőző 100 ms, és az azt követő 400 ms időtartamban. A stimulusok között eltelt időt 30-60 másodperc között random módon változtattuk, hogy az állatok ne tudjanak hozzászokni. Az általunk alkalmazott standard stimulus 5 egymást követő 1 ms időtartamú, egyenáramú, 200 Hz frekvenciájú négyzetes impulzusból állt (1ms train-of-five constant current square wave pulses; 200 Hz). A stimulációt mindig 1 mA intenzitással kezdtük, majd a trigemino-cervikális reflexküszöb meghatározásához az áramerősséget 0,5

milliamperes egységekkel emeltük, amíg az állatok hátra nem húzták a fejüket, mely a numerikus értékelő skálán 3 pontnak felelt meg. A küszöbértéket finomítottuk az utolsó küszöb alatti értéktől való 0,1 milliamperes intenzitás növelésekkel. Ahhoz, hogy az adott intenzitást elfogadjuk a reflex küszöbintenzitásának ( $T_{SS}$ ), a reflex nyakizmokon mért mérete a háttéraktivitás minimum háromszorosát kellett, hogy elérje. Egy ismételt azonos intenzitású stimulációval igazoltuk a küszöbérték ( $T_{SS}$ ) elérésének reprodukálhatóságát. A küszöbérték elérése után 0,9; 1; 1,1; 1,2; 1,3; 1,4 és 1,5 x  $T_{SS}$  intenzitású stimulációt hajtottunk végre minimum 30 másodperces időközökkel a stimulus-válasz (stimulus-response) görbe vizsgálatához. Az elektrostimulációt megszakítottuk, amennyiben az állatok 4 pontot értek el a numerikus értékelő skálán.

#### 2.7.2 Ismétlődő stimuláció (repeated stimulation - RS) a temporális szummáció vizsgálatához

Az ismétlődő stimuláció (RS) kivitelezéséhez az előzőekben a TCR küszöbérték ( $T_{SS}$ ) meghatározásához használt standard szimpla stimulációt (1ms train-of-five, 200Hz) alkalmaztuk tízszer egymás után 5 Hz frekvenciával, összesen 2 másodperc időtartamban. A RS intenzitását fokozatosan emelve az adott lóra előzetesen meghatározott  $T_{SS}$  intenzitás 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0; 1,1; 1,2 és 1,3-szoros értékét

alkalmaztuk. A reflex küszöbértékének változását megelőzendő, a RS-t nem sokkal a  $T_{SS}$  meghatározása után végeztük. A hozzászokás elkerülésére minimum 30 másodperc telt el minden RS között.

## 2.8 A változók definíciója és a szignálanalízis

### 2.8.1 Szimpla stimuláció

A reflexek vagy egyes komponenseiknek látenciája (latency) az elektrostimuláció kezdetétől az izomválasz kezdetéig tartó idő. A reflexek vagy egyes komponenseiknek időtartama (duration) az az időintervallum, ami az első letöréstől az alapvonalhoz való visszatérésig tart. A peak-to-peak (PTP) amplitúdó a rögzített EMG szignál legmagasabb és legmélyebb pontja közti különbség. Továbbá az EMG aktivitás root mean square (RMS) amplitúdóját is mértük a stimulus előtti 100 millisecondumos időtartamra (alapérték - baseline) és a reflexek vagy egyes komponenseik időtartamára.

### 2.8.2 Ismétlődő stimuláció

A teljes elektromiográfias (EMG) mérési idő 4000 ms volt, mely magába foglalt 500 ms-ot a stimulációt megelőzően. Az 500 és 2500 ms közötti időintervallum került analízisra az RS során, ezt 200 ms-os szakaszokra bontva vizsgáltuk az egyes stimulációkra adott választ külön-külön. A reflex

komponensek látenciájára jellemző „ablakok” a szimpla stimuláció (SS) eredményei alapján kerültek meghatározásra: (1) minden stimulust követő 10–40 ms és 40–140 ms intervallum került vizsgálatra a BR korai (BR early) és késői (BR late) komponenseinek elemzésére; és (2) a stimulust követő 50–200 ms intervallumban vizsgáltuk a TCR jelenlétét (TCR SPL – splenius; és TCR CM - cleidomastoideus). A fenti szakaszok RMS amplitúdója határozta meg az elektromiográfias válasz méretét. Az egyedek közötti variabilitás csökkentésére a reflex mérete normalizálásra került az adott izom háttéraktivitásához képest. A poszt-stimulációs aktivitás a 2500–4000 ms közötti intervallumban került rögzítésre. A reflex küszöbértékét akként határoztuk meg, hogy az adott SS kiváltotta-e az alap izomaktivitás minimum háromszorosát elektromiográfiával mérve, valamint a viselkedési pontok elérték-e a reflex definíciójához szükséges értéket (BR = 1 és TCR = 3). A reflexek küszöbértéke ( $T_{RS}$ ) az egyes izmokon mérve (TCR SPL, TCR CM, BR early és BR late) mindkét ideg esetében meghatározásra került és az intenzitás értékeit a szimpla stimuláció küszöbértékére ( $T_{SS}$ ) normalizáltuk. Továbbá vizsgáltuk azt, hogy melyik ismétlődő stimulus a tíz közül váltja ki az első, és melyik a maximális méretű reflexet.

## 2.9 Az adatok vizsgálata

### 2.9.1 Szimpla stimuláció

A reflex tulajdonságainak leírásához a reflex küszöbintenzitásán ( $T_{SS}$ ) a látencia, az időtartam, a PTP és RMS amplitúdó, NRS és VAS skála középértékeit és interkvartilis tartományát (median and interquartile range - IQR) határoztuk meg. A három küszöbintenzitású stimuláció lovanként adta meg a számítás alapját mind az ION, mind a SON esetében. Wilcoxon Signed Rank tesztet használtunk a különbség elbírálására a két ideg (ION és SON) stimulációja között a két nyaki izomra (SPL és CM) nézve, valamint a két nyaki izom között a két ideg stimulációjára nézve. A stimulus-válasz görbe vizsgálatához Friedman Repeated Measures Analysis of Variance on Ranks tesztet használtunk, az egyes paraméterek közötti korreláció megállapításához pedig a Spearman Rank Order Correlation tesztet.

### 2.9.2 Ismétlődő stimuláció

Az adatok statisztikai analíziséhez non-parametrikus tesztek alkalmaztunk. Leíró statisztikával határoztuk meg az individuális reflex küszöbértékeket ismétlődő stimuláció esetén. One sided exact Wilcoxon Signed Rank tesztet használtunk, hogy elbíráljuk az ismétlődő stimuláció hatását a küszöbintenzításra nézve. A Brunner–Langer modellt

alkalmaztuk a különböző stimuláció intenzitások hatásának elbírálására az ismétlődő stimulációval kiváltott trigeminális reflexekre nézve. A Mann–Whitney Rank Sum tesztet használtuk a két ideg elektrofiziológiai tulajdonságainak összehasonlítására.



### 3. Eredmények

Az összes ló könnyedén és diszkomfort nélkül tolerálta a kísérleti procedúrát. A stimuláció helyeit rendszeresen ellenőriztük, de bőrpírt vagy sérülésre utaló jelet nem tapasztaltunk.

#### 3.1 Reflexek $T_{SS}$ intenzitáson, szimla stimulációt követően

A trigeminális afferensek (ION vagy SON) felületes elektrostimulációja egyértelmű elektromiográfiás válaszreakciót váltott ki az OO, SPL és CM izmokban. A lovak diszkomfort és szedáció nélkül viselték a stimulációt a  $T_{SS}$  intenzitás eléréséig. Technikai problémák miatt ( a számítógép nem rögzítette a mérést) a három küszöbértéken végzett stimulációból egynél elveszett az EMG mérés egy-egy ló esetében az ION és a SON stimulációját követően, így csak 29 komplett mérés állt rendelkezésünkre idegenként a vizsgálatokhoz  $T_{SS}$  intenzitáson. A különböző BR komponensek (Anor et al., 1996) jelenléte nem volt mindig megfigyelhető  $T_{SS}$  intenzitáson. Az R1 komponens (BR early) 14 esetben (48%) volt megfigyelhető SON stimulációt követően és 20 esetben (69%) ION stimulációt követően. Az R2 és R3 komponensek (BR late) 19 (66%) és 25 (86%) esetben voltak megfigyelhetőek SON stimuláció után, és 19 (66%) és 27 (93%) esetben ION stimulációt követően. Az ION

vagy SON stimulációjával kiváltott BR hasonló PTP és RMS amplitúdóval, látenciával és időtartammal rendelkezett.

A TCR küszöbintenzitása magasabb volt ION stimulációt követően összehasonlítva a SON stimulációval ( $P < 0,001$ ), de hasonló VAS és NRS pontok jellemezték mindkét ideg  $T_{SS}$  értékét. Nem tapasztaltunk szignifikáns eltérést a TCR látenciája, időtartama és mérete között a két ideget összehasonlítva, csak a reflex időtartama volt hosszabb a CM-en mérve az ION stimulációját követően ( $P = 0,018$ ). A stimulust követő első 30 ms-ban, ahol a C1 és C2-es reflex komponensek jelenléte volt várható, nem volt megfigyelhető reflex aktivitás, mely arra enged következtetni, hogy az általunk kiváltott TCR a humán C3 komponensnek felel meg. Az SPL-en mért SON stimulációjával kiváltott izompotenciálok hasonlóak a CM-en mértekkel a látencia és időtartam tekintetében. Ugyanakkor a reflex amplitúdója szignifikánsan különbözik a két izmon mérve; az SPL-en mért értékek kétszeres RMS és háromszoros PTP amplitúdóval rendelkeztek a CM-en mért értékekhez képest ( $P < 0,001$  mindkét paraméter esetében). Az ION stimulációjával hasonló eredményeket tapasztaltunk. Részleteiben nézve, mind az RMS, mind a PTP amplitúdó magasabb volt az SPL-en mérve, mint a CM-en ( $P = 0,001$  és  $P = 0,004$ ). Az SPL

háttéraktivitásának amplitúdója szintén magasabb volt a CM-énél mindkét ideg stimulációja esetén ( $P < 0,001$ ).

### 3.2 Az inger-válasz görbe a szimpla stimulációt követően

Az inger-válasz görbe vizsgálata során küszöbintenzitási érték felett stimulálva 2 ló NRS pontjai elérték a 4-es pontszámot a SON-t stimulálva, mely a kísérlet megszakítását vonta maga után. Hasonlóképp, 3 ló  $1,3 \times T_{SS}$  intenzitáson, míg további 2 ló  $1,4 \times T_{SS}$  intenzitáson kapott 4 pontot az ION stimulációja során. A BR nem volt kiváltható  $0,9 \times T_{SS}$  intenzitáson 5 lónál a SON-t, és 3 lónál az ION-t stimulálva. A mért paraméterek egyike sem változott a stimulus intenzitásának erősségével. Szignifikáns negatív korrelációt találtunk az R1 látenciája és a SON stimulációjának intenzitása között ( $r = 0,29$ ;  $P = 0,041$ ).

A hiányzó adatok miatt (6/10 ló adatai  $0,9 \times T_{SS}$  és 5/10 ló adatai  $1,5 \times T_{SS}$  intenzitáson az ION stimulációja során és 8/10 ló adatai  $0,9 \times T_{SS}$  intenzitáson a SON stimulációja során), a TCR inger-válasz görbéjének statisztikai analízise csak  $1-1,4 \times T_{SS}$  intenzitás között került vizsgálatra az ION stimulációját követően, és  $1-1,5 \times T_{SS}$  intenzitás között a SON stimulációját követően. A stimulus intenzitásának növelésével a TCR látenciája csökkent mind a SPL (SON:  $P < 0,001$ ; ION:  $P = 0,008$ ), mind a CM izmokon (SON:  $P = 0,007$ ; ION:  $P = 0,002$ ).

Ezt alátámasztja a szignifikáns negatív korreláció, amelyet az intenzitás és látencia között tapasztaltunk (SON:  $r = 0,57$ ;  $P < 0,001$  [SPL] és  $r = 0,47$ ;  $P < 0,001$  [CM]; ION:  $r = 0,32$ ;  $P = 0,02$  [SPL] és  $r = 0,33$ ;  $P = 0,01$  [CM]). Eközben a PTP (SON:  $P = 0,005$  [SPL],  $P = 0,026$  [CM]; ION:  $P = 0,036$  [SPL],  $P = 0,036$  [CM]) és RMS (SON:  $P = 0,001$  [SPL],  $P = 0,017$  [CM]; ION:  $P = 0,015$  [SPL],  $P = 0,013$  [CM]) amplitúdó a stimuláció intenzitásával párhuzamosan növekedett.

Az utóbbi eredményeket megerősíti a pozitív korreláció, melyet az amplitúdó és az intenzitás között tapasztaltunk (SON:  $r = 0,47$ ;  $P < 0,001$  - RMS,  $r = 0,49$ ;  $P < 0,001$  - PTP [SPL],  $r = 0,39$ ;  $P = 0,003$  - RMS,  $r = 0,45$ ;  $P < 0,001$  - PTP [CM]; ION:  $r = 0,45$ ;  $P < 0,001$  - RMS,  $r = 0,42$ ;  $P = 0,001$  - PTP [SPL],  $r = 0,48$ ;  $P < 0,001$  - RMS,  $r = 0,49$ ;  $P < 0,001$  - PTP [CM]).

A reflex időtartama nem változott szignifikánsan a stimulus intenzitásának növelésével, habár köztük többnyire pozitív korrelációt tapasztaltunk (SON:  $r = 0,28$ ;  $P = 0,03$  [SPL]; ION:  $r = 0,33$ ;  $P = 0,01$  [SPL];  $r = 0,29$ ;  $P = 0,03$  [CM]). A VAS szignifikánsan növekvő viselkedési pontértékeket mutatott a stimuláció intenzitásának növekedésével (SON:  $P < 0,001$ , ION:  $P = 0,002$ ) erős pozitív korreláció mellett (SON:  $r = 0,73$ ;  $P < 0,001$ , ION  $r = 0,81$ ;  $P < 0,001$ ). Az NRS pontok nem változtak szignifikánsan az intenzitással a köztük lévő erős

pozitív korreláció ellenére sem (SON:  $r = 0,74$ ;  $P < 0,001$ , ION:  $r = 0,75$ ;  $P < 0,001$ ).

### 3.3 Ismétlődő stimuláció

A TCR nem volt kiváltható a küszöbintenzitás alatti RS-val, ennek következményeképpen a trigeminális afferensek temporális szummációja nem volt megfigyelhető ( $P = 0,5$ ). Az első és legnagyobb amplitúdójú reflexet kiváltó stimulus sorszáma feljegyzésre került, hogy megítélhessük a temporális szummáció jelenségét.

Adataink egyértelműen azt mutatták, hogy az első reflexet a legelső stimulus váltotta ki a sorozatban, és ennek a reflexnek volt a legnagyobb az RMS amplitúdója is. Csak a korai, non-nociceptív BR komponens mutatott növekvő tendenciát a stimulusok számának növekedésével az RS során.

A tíz ló medián RMS amplitúdója csökkenő tendenciát mutatott az ismétlődő stimuláció szekvenciája során.

A reflex aktivitás szignifikánsan növekedett a stimulus intenzitásának növekedésével (ION BR,  $P < 0,001$ ; SON BR,  $P = 0,039$ ; ION SPL,  $P = 0,024$ ; SON SPL,  $P < 0,001$ ; ION CM,  $P < 0,001$ ; SON CM,  $P = 0,002$ ). Hogy kizárjuk a RS hosszú távú hatását az izmok funkciójára, az izmok háttéraktivitását minden esetben vizsgáltuk és változatlanak

találtak a növekvő stimulus intenzitás ellenére (ION BR,  $P = 0,721$ ; SON BR,  $P = 0,07$ ; ION SPL,  $P = 0,926$ ; SON SPL,  $P = 0,744$ ; ION CM,  $P = 0,635$ ; SON CM,  $P = 0,591$ ). A viselkedési pontok szignifikánsan emelkedtek ( $P < 0,001$ ) a stimulus intenzitásának növekedésével. A reflex küszöbintenzitás értékén a lovak viselkedésére az eredeti kritériumnak megfelelően a 3 NRS pont volt jellemző.

#### **4. Új tudományos eredmények**

I. Vizsgálataink alapján az infraorbitális és supraorbitális idegek felületi elektromos stimulációja reprodukálható reflex tevékenységet vált ki, mely elektromiográfiával rögzíthető a nyak izmairól mint trigemino-cervikális reflex (TCR) .

II. Azt tapasztaltuk vizsgálataink során, hogy nagyobb intenzitású stimuláció szükséges a TCR kiváltásához az ION stimulációja során a SON-nal összehasonlítva.

III. Úgy tapasztaltuk, hogy a SON vagy ION stimulációjával kiváltott TCR hasonló tulajdonságokat mutat tekintet nélkül arra, hogy melyik ideget stimuláljuk.

IV. A növekvő intenzitású stimulációval kiváltott reflexek amplitúdója növekszik, míg látenciájuk csökken, valamint a viselkedési reakciók erősebbek lesznek, melyek együttesen a TCR nociceptív természetét igazolják.

V. Az SPL-en rögzített reflexek amplitúdóját szignifikánsan nagyobbak találtuk a CM-en rögzítettekénél, mely feltehetően az elhúzódó mozdulatsorban betöltött különböző funkciójuknak tudható be vagy az SPL magasabb háttéraktivitása idézi elő, melynek köszönhetően az antigravitációs funkció elősegíti a reflex aktivitást.

VI. Vizsgálataink során hasonló pszichofizikális (viselkedési mutatók) és elektrofiziológiai küszöbértékeket tapasztaltunk.

VII. Vizsgálataink alapján a BR nociceptív késői komponense és a TCR nem váltható ki küszöbintenzitás alatti ismétlődő transzcután elektrostimulációval, tehát a trigeminális afferensek esetében temporális szummáció nem figyelhető meg. Ezáltal megállapítható, hogy az A $\delta$  rostok stimulációjával kiváltható trigeminális nociceptív folyamatok különböznek a hasonló ingerek gerincvelői feldolgozásától, mert inkább gátló, mint stimuláló hatást mutatnak.



## 5. Következtetések

A fájdalom mértékének nem megfelelő felismerése vagy túlzott gyógyszerhasználathoz vezet azok minden mellékhatásával, vagy az állatok szenvedéséhez. Sajnos jelenleg nem létezik mértékadó módszer a fájdalom értékelésére lovakon sem klinikai, sem kísérleti körülmények között. Minden módszer rendelkezik előnyökkel és hátrányokkal, többnyire mivel a fájdalom egy dinamikusan változó folyamat. Egyetlen viselkedési mutató vizsgálata sem adhat pontos becslést arról, hogy milyen mértékű fájdalmat érez az állat, az élettani paramétereket pedig szintén nem találták megbízható indikátornak. Ezidáig a különböző típusú fájdalomának elbírálására létrehozott, szenzitív és specifikus viselkedési mutatókat magukba foglaló fájdalompont-rendszerek bizonyultak a legalkalmasabbnak a fájdalom gyors és könnyű elbírálására klinikai betegek esetében. Továbbá a többnyire kísérleti körülmények között alkalmazott kvantitatív szenzoros tesztek szintén értékes eszközök a fájdalom mérésére lovakon.

Következtetésképpen megállapítható, hogy a vizsgálataink során nociceptív elektrostimulációval kiváltott trigeminális válaszreakciók egyértelműen reflex interakciónak tekinthetőek a trigeminális afferensek, valamint az agytörzsi motoros

központok és a nyaki gerincvelő motoros idegsejtjei között. Eredményeink az egészséges, nem szedált lovak TCR-nek referenciaértékeiként szolgálhatnak, ezáltal ez a reflex mint új diagnosztikai eszköz alkalmazható a trigeminális rendszer diszfunkciójának vizsgálatára lovakon.

Vizsgálataink azt mutatták, hogy a trigeminális afferensek ismétlődő elektrostimulációja nem vált ki temporális szummációt lovakon. A TCR regenerációs görbéje szignifikánsan gyorsabb a migrénben szenvedő embereken, valamint a diffúz noxious inhibíciós kontroll (diffuse noxious inhibitory control - DNIC) deficienciája társul néhány krónikus trigeminális fájdalom szindrómához, úgymint migrén, tenziós fejfájás és temporomandibuláris elváltozások (Proietti et al., 2003; Williams and Rhudy, 2009). Hasonlóan, a trigeminális rendszer kóros elváltozásában szenvedő lovak esetében is feltehetően a megváltozott nociceptív moduláció és a DNIC deficienciája módosítja az egészséges egyedeknél tapasztalt neurofiziológiai profilt. Így módszerünk új, non-invazív eszköz lehet a hasonló betegségek mechanizmuson alapuló diagnózisához.

## **6. A doktori kutatás eredményének közlései**

### 6.1 Lektorált, impakt faktossal bíró tudományos folyóiratban megjelent publikációk

**Veres-Nyéki, K.O.,** Spadavecchia, C.: A fájdalom felismerése és elbírálása lovon. Recognition and assessment of pain in horses. Magyar Állatorvosok Lapja (Hungarian Veterinary Journal) 2014 Jan; 136(1): 9-20.

**Veres-Nyéki, K.O.,** Leandri M., Spadavecchia, C.: Assessment of the wind-up phenomenon in the equine nociceptive trigeminal system. Vet J. 2013 Oct; **198**(1): 81-7.

**Veres-Nyéki, K.O.,** Leandri, M., Spadavecchia, C.: Nociceptive trigeminal reflexes in non-sedated horses. Vet J. 2012 Jan; 191(1):101-7.

### 6.2 Konferencia prezentációk

**Veres-Nyéki, K.O.,** Leandri, M., Spadavecchia, C.: Nociceptive trigemino-cervical reflex evoked by repeated transcutaneous electrical stimulation in non-sedated horses: is temporal summation occurring? In: Proceedings of 11th WCVA Congress, Cape Town 2012

**Veres-Nyéki, K.O:** Nociceptive trigeminal reflexes in horses.  
Pain Symposium, Bern, 2011

**Veres, K.O., Spadavecchia, C.:** The trigemino-cervical reflex  
in awake horses: preliminary results. In: Proceedings of 10th  
WCVA Congress, Glasgow 2009

**Veres, K.O., Spadavecchia, C.:** The trigemino-cervical reflex  
in horses. Budapest-Wien-Brno ECVIM rezidens találkozó,  
Üllő