

INGERLŐ ÉS GÁTLÓ SYNOPSISOK ULTRASTRUKTURÁLIS VIZSGÁLATA
PATKÁNY KISAGYKÉREGBEN

Halász Norbert

281 0

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

JATE Elektronmikroszkóp Laboratórium
Szeged, 1967.

B 189



Tartalomjegyzék

Bevezetés.....	1
Vizsgálati anyag és módszer.....	4
A cerebellum synaptológiája.....	6
Hemicholiniumos kezelés hatása néhány kisagykérgi synaptizáló terminálisra ozmiumos fixálás alkalmazásakor.....	20
A synapticus vesiculumok megoszlása kettős fixálást követően.....	26
Hemicholiniumos és tiosemicarbazidos kezelés eredménye kettős fixálás után.....	39
Tézisek.....	47
Irodalomjegyzék.....	49

B E V E Z E T É S

Az állati és emberi szervezet összefogásában, életfolyamatainak szabályozásában alapvető jelentőséggel bír az idegrendszer, mely bonyolult integratív tevékenysége révén alapja a külső és belső környezet ingerei felfogásának, azok feldolgozásának és a válaszadásnak. Ez a rendkívül összetett tevékenység lényegében két idegrendszeri alapfolyamaton, az ingerlés és gátlás jelenségen alapszik, melyekhez a rövidebb és hosszabb raktározódási időt felölelő memoria társul. A ma általánosan elfogadott nézetek szerint a magasabbrendű /elsősorban az emlős/ idegrendszerben az agytörzs és a törzsducok területét felölelő ascendáló aspecifikus aktiváló rendszer magas aktiválási /ingereltségi/ szintre "fűti fel" az idegrendszer egyes elemeit, melyet különböző gátló rendszerek modulálnak; az adott idegrendszeri tevékenységnek megfelelő ingerületi mintát mintegy kiformálják /ECCLES: "inhibitory sculpturing"/.

Az idegrendszer szerkezetének feltárása makroszkópos, majd fénymikroszkópos morfológiai vizsgálatokkal kezdődött. Az elektronmikroszkóp alkalmazása neurohisztológiai és cytológiai kutatásokban, a megbízható elektrofiziológiai módszerek kialakítása már olyan eredményekkel bír, hogy az idegrendszeri elemek kapcsolódására, e kontaktusok biokémiai és élettani alapjaira, az ingerlés és gátlás közel molekuláris szintű folyamataira is választ igyekszik adni. Az ingerület létrejötte, vezetése és továbbadása alapvető jelentőségű problémának tűnik, és ezekre a folyamatokra vonatkozóan napjainkban több, ultrastrukturálisan és elektrofiziológiailag is támogatható elmélet ismeretes. Vizsgálatainkban az ingerület, illetőleg gátlás egyik neuronról másikra történő áttevődésének ultrastrukturális alapjait kíséreltük meg értelmezni néhány kémiailag mediált központi idegrendszeri synapsis tanulmányozása útján. Az ingerület áttevődése magába foglalja a praesynapticus ingerületvezetést, átvitelét a postsynapticus terminálra, és annak ingerületbe hozását vagy gátlását. Az ingerületvezetés és -áttevődés bonyolult folyamatának GRUNDFEST /1957,1959/

és KOELLE /1962/ által értelmezett felfogása szerint az ingerület depolarizációs hullám tovaterjedése az axonon, amely a terminálban acetylcholint szabadít fel; ez az Ach mobilizálhat nagyobb mennyiségű ingerlő vagy gátló agenszt. Ezek a mediátorok a praesynapticus membránon és az intersynapticus hézagon áthaladva a postsynapticus membrán depolarizációját vagy hyperpolarizációját váltják ki.

A kémiai mediátorok -differenciálcentrifugálási vizsgálatok tanúsága szerint /GRAY és WHITTAKER 1960, DeROBERTIS és mtsai 1962/ - a synapticus vesiculumokhoz kötöttek. Kérdéses azonban, hogy belsejükben tartalmazzák-e a mediátort, vagy esetleg más módon lokalizálják./CSILLIK 1965, CSILLIK és JOÓ 1965 és 1967; nucleus caudatus és parietalis cortex/. Az acetylcholin praetransmitter-szerepének feltételezése még a bizonyítottan nem Ach-transmissióval működő ingerlő jellegű synapsisokban is feltételezi az Ach szerepét, a gátló jellegűekben ugyszintén; így mennyiségének befolyásolása feltehetően hatással lesz a synapticus vesiculumokra a fenti synapticus terminálisokban is.

Másrészt UCHIZONO és WALBERG 1965-ös vizsgálatai felvetik a kérdést, hogy ingerlő ill. gátló mediátorok más-más strukturális elemhez kapcsolódhatnak, amely kérdésre adott pozitív értelmű válasz módot nyújtana egyes synapticus kapcsolatok tisztán morfológiai identifikálására, azok ingerlő vagy gátló jellegét illetően. Végül, ha ez igaz, és a gátló transmittert is vesiculumhoz kötöttnek fogadjuk el, a kötődés mibenlétére vonatkozóan a gátló anyag szintézisének leállítását után észlelhető viszonyok tanulmányozása alapján adhatunk feleletet.

Fentiek alapján értekezésünkben a következő kérdéseket vetjük fel:

- 1/ Milyen hatással bír az acetylcholin-szintézis leállítása a kisagyi synapsisok axontermináljainak vesiculumpopulációjára a szokásos OsO_4 rögzítés alkalmazásakor?
- 2/ Mennyiben állja meg helyét az UCHIZONO-ék által megállapított strukturális-funkcionális korreláció, amely az ingerlő funkciót csak a kerek /spheroid/ vesiculumokkal töltött axonterminálokhoz köti, az ovoid vesiculumokat tartalmazó terminálisokat pedig kategorikusan gátlónak itéli?
- 3/ Milyen hatással bír az Ach-szintézis leállítása ingerlőnek feltételezett, és a gamma-aminovajsav szintézisének gátlása

inhibitor-jellegű terminálok vesiculumpopulációjára olyan vizsgálati anyagban, melyben egymástól jól megkülönböztethetők a sphericus és ovoid vesiculumok?

Az emlős központi idegrendszer ultrastrukturálisan és funkcionálisan talán legalaposabban feltárt területeinek egyike a kisagykéreg. Ennek alapján úgy véltük, hogy a cerebellum megfelelő modellként szolgálhat arra, hogy synapsisainak vizsgálata alapján a felvetett kérdéseket megközelítsük.

Vizsgálati anyag és módszer

Vizsgálatainkat 150-200 g súlyu ivarérett, azonos törzsből vett albino patkányokon végeztük. Állatainkat kb. 5 mg/kg desztillált vízben oldott barbitural-nátriummal altattuk. Osmiumtetroxidos rögzítés esetében a kipreparált cerebellum V. lebenyéből blokkokat vágunk, s azokat MILLONIG /1962/ szerint pufferelt 1%-os OsO_4 -oldatban imbibációs módszerrel 60 percig rögzítettük. Pufferes mosás után víztelenítés következett. Aldehydes fixálást az altatott patkány mellkasának felnyitása után intracardialisan 4°C -os Karnovsky-féle pufferelt formaldehid-glutaraldehid perfusiós oldattal végeztük. 60 perces perfusio után a kisagyat kipreparáltuk, és a kivágott blokkokat 4°C hőmérsékleten ugyanebben az oldatban további 30'-ig fixáltuk. Ezt 30 perces OsO_4 -rögzítés /Millonig-pufferben 1% OsO_4 / követte. Millonig-pufferes mosás után a szokásos víztelenítés következett, mindkét rögzítés esetén 30-50-70-90-96-abszolút alkohol sorozatán keresztül. 70%-os alkoholban 3-4% uranylacetátot oldottunk az anyagok kontrasztosságának növelése céljából. A víztelenítés után ethanol és 1,2-epoxy-propán vagy ethanol és aceton 1:1 arányu keverékébe, majd tiszta propylenoxidba ill. acetonba, ezt követően az előző oldatok és araldyt /durcupan FLUKA/ 1:1 arányu keverékébe helyeztük blokkjainkat, majd araldytban kapszuláztunk. Az araldyt polimerizációját 60 perces 37°C -os, majd 2 napos 56°C hőmérsékletű termosztálással biztosítottuk.

Ultravékony metszeteket LKB, Tesla, Reichert és Porter-Blum gyártmányu ultrotomokkal készítettünk, s amennyiben az szükségesnek látszott, metszeteinket REYNOLDS /1963/ -féle ólomcitráttal kontrasztoltuk. Elektronmikroszkópos felvételeink Tesla BS 242 D asztali elektronmikroszkópon készültek.

Hemicholiniummal és tiosemicarbaziddal kezelt patkányainkba injekció útján juttattuk a 10 ill. 5 mg/kg desztillált vízben oldott hatóanyagot, és az állatokat az injiciálás után 30 perccel megöltük, majd a már előbb leírt módon rögzítettük.

Az axonterminálok vesiculumpopulációjának értékelését a következő planimetriás módszerrel végeztük: az értékelés során felhasználandó képeket azonos mikroszkópfokozattal és azonos fotonagyítással készítettük, ugyanolyan minőségű fotopapírra másoltuk,

és a synaptizáló axonterminálok vesiculumait számoltuk meg vizsgálati anyagokként és synapsis-fajtánként 8-12 felvételen. A nagytérítés ismeretében meghatároztuk a másolópapíron $1 \mu\text{m}^2$ -nak megfelelő területet, valamint ennek súlyát. Ugyancsak meghatároztuk a felvételekből kivágott, szabálytalan körvonalu axonterminálok súlyát, és az előző súlyméréssel egybevetve, a vesiculumok számát $1 \mu\text{m}^2$ -nyi területre vonatkoztattuk. Az egyes synapticus terminálok adatait átlagoltuk, majd meghatároztuk a standard deviatiókat a

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_n - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \text{/HETÉNYI 1954/ képlet segítségével}$$

vel, ahol x_n az aritmetikai átlag; $\bar{x}$ az egyes axonterminálok vesiculumainak száma; n = a figyelembe vett axonterminálisok száma.

Aldehyddel fixált anyagaink felvételein a vesiculum-számlálással egyidejűleg disztíngváltunk sphericus és ovoid vesiculum között, és a kettő sphericusra vonatkoztatott arányát /Q/, valamint e specifikus quotiensek standard deviatióit adtuk meg.

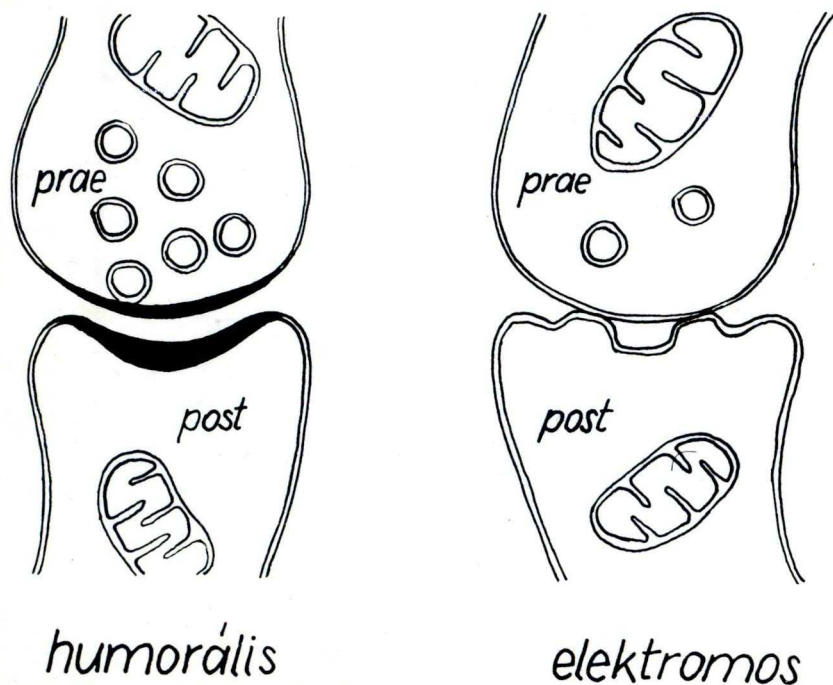


A cerebellum synaptológiája

A problémafelvetéssel kapcsolatos vizsgálatok, főleg az ovoid vesiculumok létére és lokalizációjára vonatkozóan, többféle központi idegrendszeri kapcsolatot ölelnek fel. Előzetes vizsgálatok alapján úgy találtuk, hogy a kisagy alkalmas terrénunként szolgálhat felvetett kérdéseink eldöntésére irányuló vizsgálatainkhoz. A strukturális és funkcionális kapcsolatok tárgyalása előtt célszerűnek látszik először is felvázolni a synapsisokról mai napig kialakult képet.

Két neuron ingerületáttevődésének helyére először SHERRINGTON /1897/ alkalmazta a "synapsis" kifejezést, mely fogalom mind a mai napig használatos. A morfológiai és fiziológiai vizsgálatok fokozatosan határozták meg kritériumait, melyek különösen az elektronmikroszkópos vizsgáló módszerek kellő tökéletesedését és neurohisztológiai vizsgálatokra történő alkalmazását követően váltak egzakttá. Ultrastrukturális elemeit REGER, ROBERTSON, PALADE és PALAY uttörő vizsgálatai tárták fel, akik megkülönböztették egymástól az ingerületáttevődésben szereplő két idegvégződést, és ezek jellegzetességeit is közölték. A praesynaptic terminálisban /axon/ synapticus vesiculumokra leltek, a post-synapticus /dendrit v. soma/ membrán pedig a szokott 75 Å vastagságnál lényegesen szélesebbnek mutatkozott. A két terminálist egymástól 2-300 Å szélességű rés, a synapticus hézag választotta el, amelyben később egyes synapsisok esetében jól látható sötét vonalat, köztes elektronrendez anyagot fedeztek fel. A synapsisokra vonatkozó elektronmikroszkópos vizsgálatok sokasodása, melyek PALADE, ROBERTSON, DeROBERTIS, FERNÁNDEZ-MORÁN, YOUNG, SJÖSTRAND, PALAY, GRAY, WHITTAKER, BODIAN, ECCLES, CURTIS, SZENTÁGOTHAI, HÁMORI, CSILLIK és még sokak nevéhez fűződnek, nagyszámu synapsis elemzése után a synapsisok és alkotóelemeik osztályozására is módot nyújtott. A synapticus vesiculumok típusairól később szönlünk, itt csak a napjainkban elfogadottnak tekinthető synapsistípusokra kívánjuk felhívni a figyelmet. A vesiculumok jelenléte, valamint a synapticus hézag kémiaiilag mediált synapsist tételez fel; a membránfusio pedig elektromos ingerületáttevődésre enged következtetni. /1. ábra/. Bennünket a kisagyi synapsisok vizsgálata

esetében csak a humorális mediációval működő synapsisok foglal-



1. ábra. Humorális és elektromos mediációval működő synapsis vázlata. prae- praesynapticus terminál, post- postsynapticus elem.

hézag csupán 200 Å,

b/ köztes anyag nincs jelen, vagy nem identifikálható világosan,

c/ a prae- és postsynapticus membrán megvastagodása kb. azonos mértékű,

d/ a membránmegvastagodások nem feltűnőek, összehasonlítva a synapticus zónától távolabb eső membránnal. -Több synapsis esetében teljesülnek ezek a feltételek, mások esetében a fenti kritériumok csak hiányosan vannak meg, és a "besorolás" kétséges.

A cerebellumra vonatkozó vizsgálatainkban nem tartjuk döntőnek ezeket a strukturális jellegzetességeket, így a synapsisok ismertetésénél eltekintünk GRAY osztályozásától.

A kisagykéreg, amint azt az előzőekben már említettük, az emlős központi idegrendszer viszonylag jólismert területe. Strukturális és funkcionális viszonyainak ismertetésében főleg CAJAL, GRAY, SZENTÁGOTHAJ, HÁMORI, HERNDON, valamint ECCLES és CURTIS vizsgálataira támaszkodunk. Az idevonatkozó alapvető fénymikroszkó-

koztatnak. GRAY /1959/

ezek esetében morfológiai alapokon kétféle típust különböztet meg. 1. típusu synapsisának postsynapticus terminálja dendrit-törzs vagy dendritikus túske, és jellemzői, hogy

a/ a synapticus rés 300 Å
b/a részben jól kivehető,

sötét köztes anyag foglal helyet,

c/ a postsynapticus membrán sokkal vastagabb, mint a praesynapticus,

d/ a membránmegvastagodások feltűnőek.

2. számmal jelölt synapsis-típusát axon és dendrit-törzs, vagy axon és sejtest létesíti, és ennek esetében a/ a synapticus

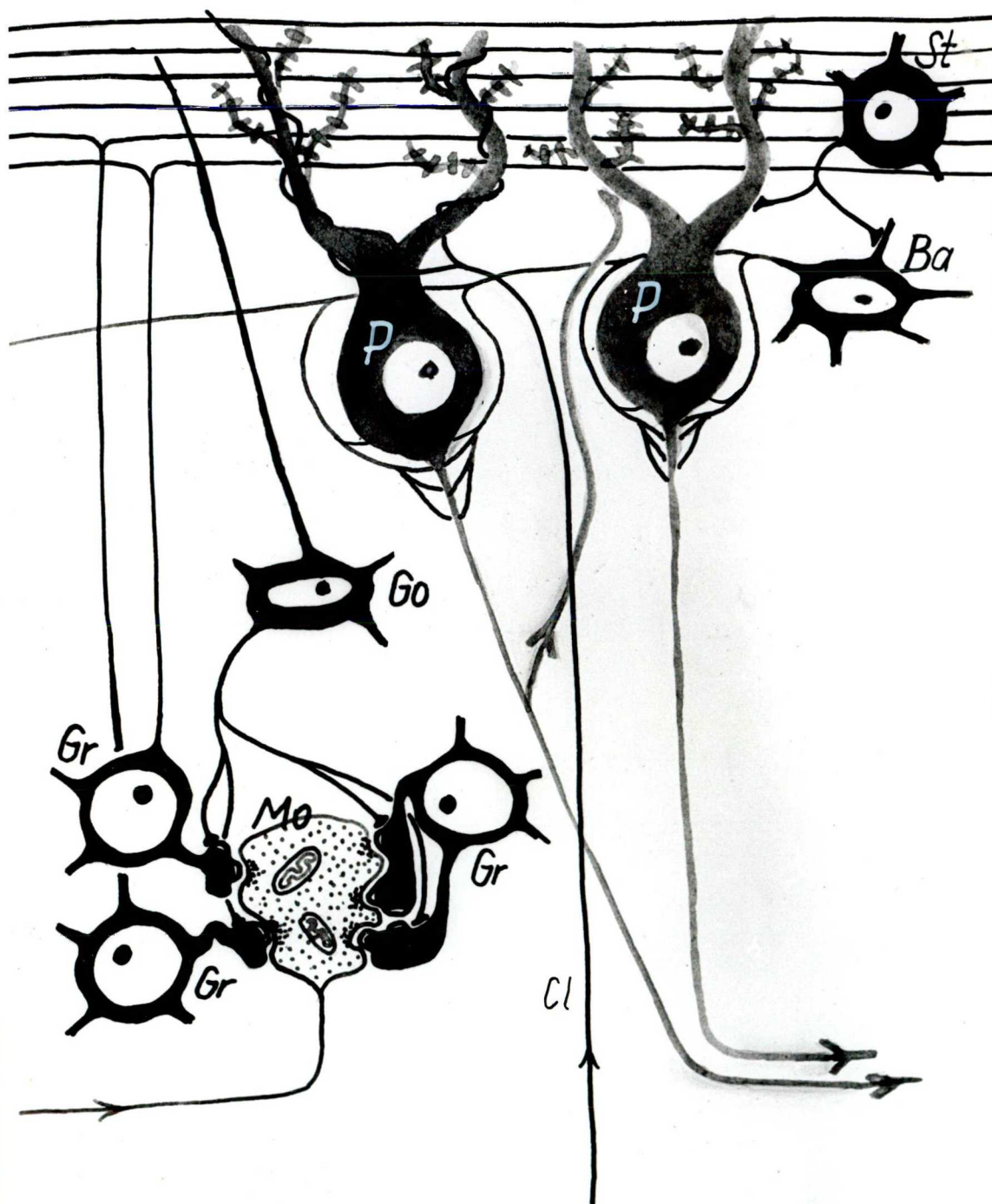
pos vizsgálatokat RAMÓN Y CAJAL végezte a múlt század végén; szubmikroszkópos szerkezetének felderítésében, annak funkcionális értelmezésében pedig elsősorban az előbbieken felsorolt többi szerző jeleskedett. Munkáik alapján nyilvánvaló, hogy bonyolult multisynapticus apparátussal van dolgunk, amelyben többféle idegsejt, gliasejt és rostféleség játszik szerepet. 3 rétegre szokás tagolni, melyek a kéreg alsó részét elfoglaló str. granulare, a középső str. gangliosum /a Purkinje-sejtek zónája/, és a felül /kívül/ elhelyezkedő str. moleculare.

A kisagykéreg központi jelentőségű, egyben egyetlen efferens eleme a Purkinje-sejt. /2. ábra/. Kiterjedt sejttesttel és nagy maggal rendelkezik. Citoplazmája elektronmikroszkópos képeken sötétén válik ki a környező ideg- és gliaelemek közül: igen gazdag ribosomákban, melyek szabad rozettákban vagy a dus endoplasmaticus reticulum falához kötődötten találhatók. Jellegzetes a reticulum csatornáinak "lamellar body" formájában történő elrendeződése. Golgi-apparátusa szintén erősen fejlett; sok a mitochondrium, és gyakoriak a lysosomák. Axonja a granuláris rétegen áthaladva a fehérállományban folytatja útját, miközben rekurrens kollateralis válik le róla. Dendrittörzse többszörös elágazás után sima felszínű secunder és tüskés terciér ágakra oszlik, mely ágak behálózzák a molekuláris réteget.

A granuláris réteg a szemcsesejtekről kapta nevét. Szokványos szövettani metszeteken ebben a rétegben csak egymás mellett szorosan elhelyezkedő magvaik tűnnek fel, a magcsoportok között pedig sejtmentes területek láthatók, u.n. "parenchyma-szigetek", melyek később a glomerulus cerebellaris nevet kapták /HELD/. A szemcsesejtek citoplazmája igen keskeny, és így valóban közel kerülnek egymáshoz a szabályosan kerek sejtmagok. A plazma organelumokban szegény, endoplasmaticus reticulum csak ritkán figyelhető meg; a ribosomák általában szabadok, mitochondriummal alig találkozunk. Dendritjeik a később tárgyalandó moharostokhoz és Golgi-axonokhoz kapcsolódnak, neuritjeik pedig felszállnak a molekuláris rétegbe.

A Golgi-sejtek /cellulae axiramificatae/ közel fekszenek a Purkinje-sejtekhez. Sejtformájuk polygonalis, plazmájuk sokkal vastagabb a szemcsesejteknél, és gazdag ergastoplazma jellemzi, mely elszórtan helyezkedik el. Ribosomák szabadon és a reticulum falához kötődötten egyaránt megfigyelhetők. Axonjaik a szemcsesejt-





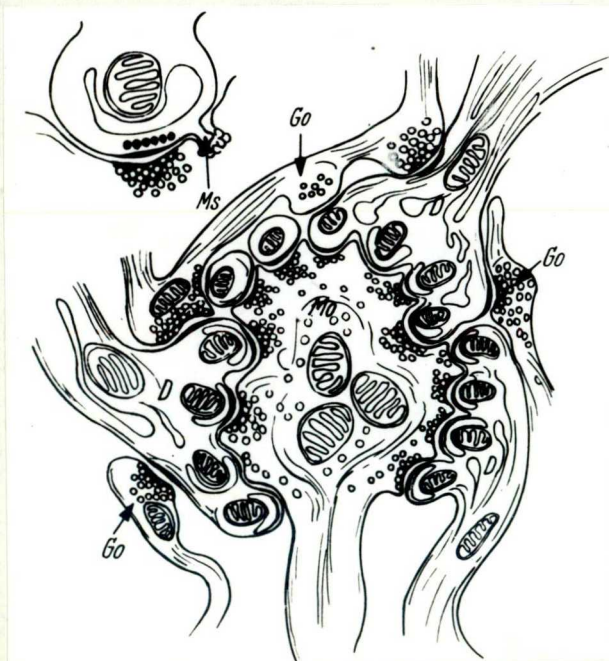
2. ábra. A kisagykéreg idegsejtjei és synapsisai vázlatosan /GRAY és HÁMORI nyomán/. MO- moharost-végződés, Cl- kuszórost, Gr- szemcsesejt, Go- Golgi-sejt, P- Purkinje-sejt, Ba- kosársejt, St- /külső/ csillagsejt.

dendritekhez kapcsolódnak, dendritjeik nagyrészt a str. moleculareba szállnak fel.

A Purkinje-sejtek sora felett találjuk a szabálytalan körvonalu kosársejteket, melyeknek magja is karélyos. A sejt és nyulványai egyaránt magas denzitásukkal tűnnek ki, amelyet a keskeny citoplazmában a nagyszámu ribosomának, fejlett endoplasmaticus reticulumnak és nagy Golgi-apparátusnak tulajdonithatunk, de a vékony dendritek is bőségesen el vannak látva endoplazmás zsákokkal és hatalmas mitochondriumokkal. Dendritágaira az igen hosszú és többszörösen görbült tüskék jellemzőek; axonja a plexus supraganglionarisban fut.

A str. moleculare legmagasabban elhelyezkedő sejtjei a külső csillagsejtek, melyeknek mérete a kosársejtekéhez áll közel, de magjuk szabályosabb, plazmájuk sokkal világosabb; kevés benne az endoplasmaticus reticulum, mitochondrium és ribosoma.

A kisagykéreg gliasejtjeivel itt nem kívánunk foglalkozni, csak HÁMORI /1965/ vizsgálataira utalunk, aki makroglia /Bergmann-gliasejtek, Fananas-gliasejtek, astrocyta sejtek/, oligodendroglia és mikroglia-sejteket ír le. Nyulványaik lehetnek filamentárisak, vagy filamentummentesek / a rostos glia főként degeneráció alkalmával szaporodik fel, és az elpusztult idegelemek helyébe lép/. Több helyütt glycogen-szemcsészettség látható.



A kisagykéreg synapticus kapcsolatai közül részletebben csak az általunk is identifikált, és vizsgálatainkban elemzett synapsisokat emeljük ki.

A granularis réteg "komplex synapsisának" /SZENTÁGOTHAI 1965, 3. ábra/ afferens eleme a moharostvégződés, amely spinocerebellaris, pontocerebellaris és vestibulocerebellaris pályák terminálisainak tekinthető. Alakja szabálytalan, átmérője elérheti a 20 μ m-t is. Belsejét 3-500 Å átmérőjű synapticus vesicu-

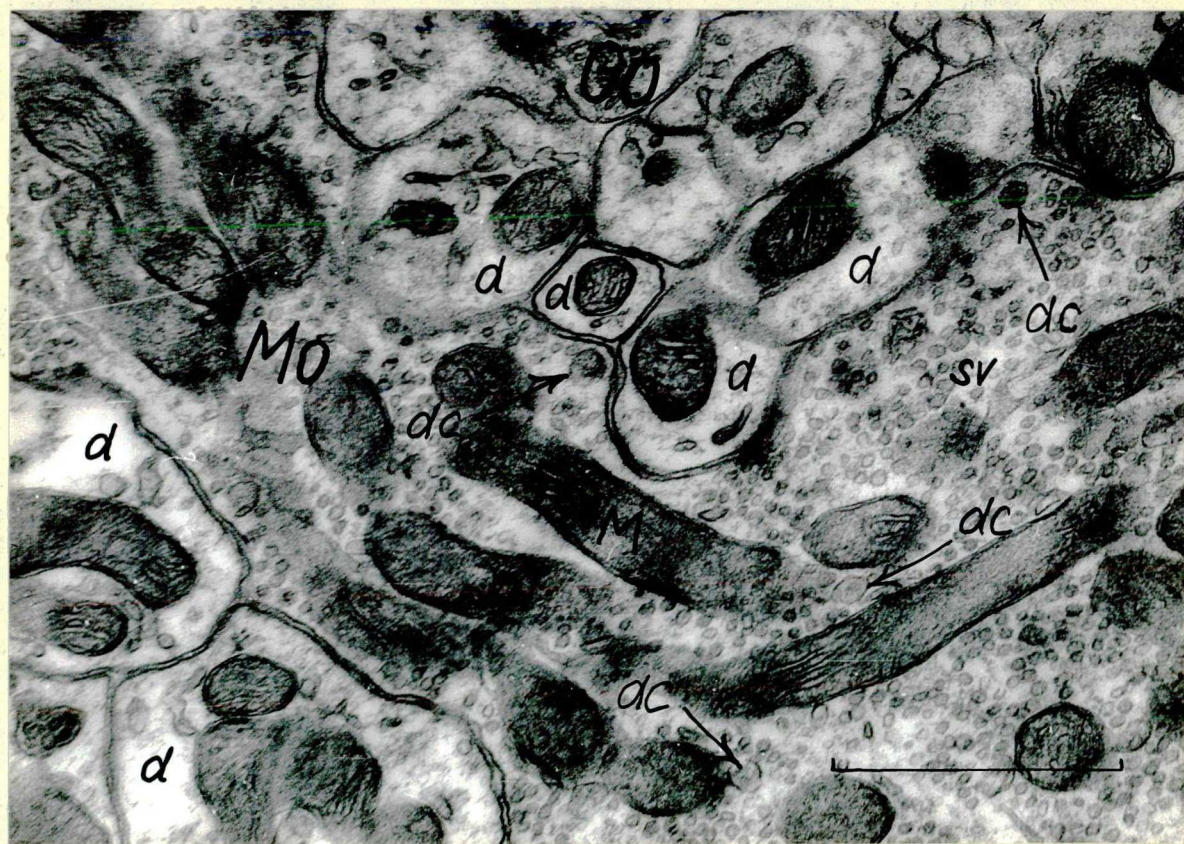
3. ábra. Glomerulus cerebellaris vázlata /SZENTÁGOTHAI 1965/. Mo- moharostvégződés, Go- Golgi-axon, D- szemcsesejt-dendrit, Ms-microspine

lumok, valamint nagyszámu mitochondrium tölti ki./1-3. kép/. szabálytalan alakját a felületébe benyomuló sok dendritprotrusio hozza létre, amely dendritek bizonyítottan a szemcsesejtek nyulványai. Feltételezik a leszálló Golgi-dendritek jelenlétét is /HÁMORI 1965/. Az előbbi vesiculumok között helyenként dense-core vesiculum is található. Synapticus helyeken membránmegvastagodás látható. A dendritekben általában egy mitochondrium van, néhol dendritikus tubulusok.



1.kép. Glomerulus cerebellaris: moharost és szemcsesejt-dendritek synapsisa. A synapticus hézagban "intersynaptic fonalak".
Mo- moharostvégződés, M- mitochondrium, d- dendrit, Sy- synapsis, sv- synapticus vesiculumok. A kép jobboldalán alul az 1 μ -nak megfelelő hosszúság.

Szintén szemcsesejt-dendritekkel létesít synapticus kapcsolatot a "komplex synapsis" másik praesynapticus eleme, a Golgi-axon /2. és 3. kép/. Nem ritka az olyan felvétel, melyen ugyanaz a dendrit egyik oldalon moharosttal, másik oldalán pedig Golgi-axonnal synaptizál. A Golgi-axonok identifikálását izolált kéregben végezték, és ezek szerint ezek az axonok a glomerulus periferáján helyezkednek el; viszonylag vékonyak, és kevesebb bennük a



2-3. kép. Glomerulus cerebellaris: moharostok, Golgi-axonok és szemcseséjt-dendritek. Mo- moharostvégződés, Go- Golgi-axon, d- dendritek, M- mitochondrium, sv- synapticus vesiculumok, dc- dense-core vesiculum.

vesiculum, mint a moharostvégződésben.

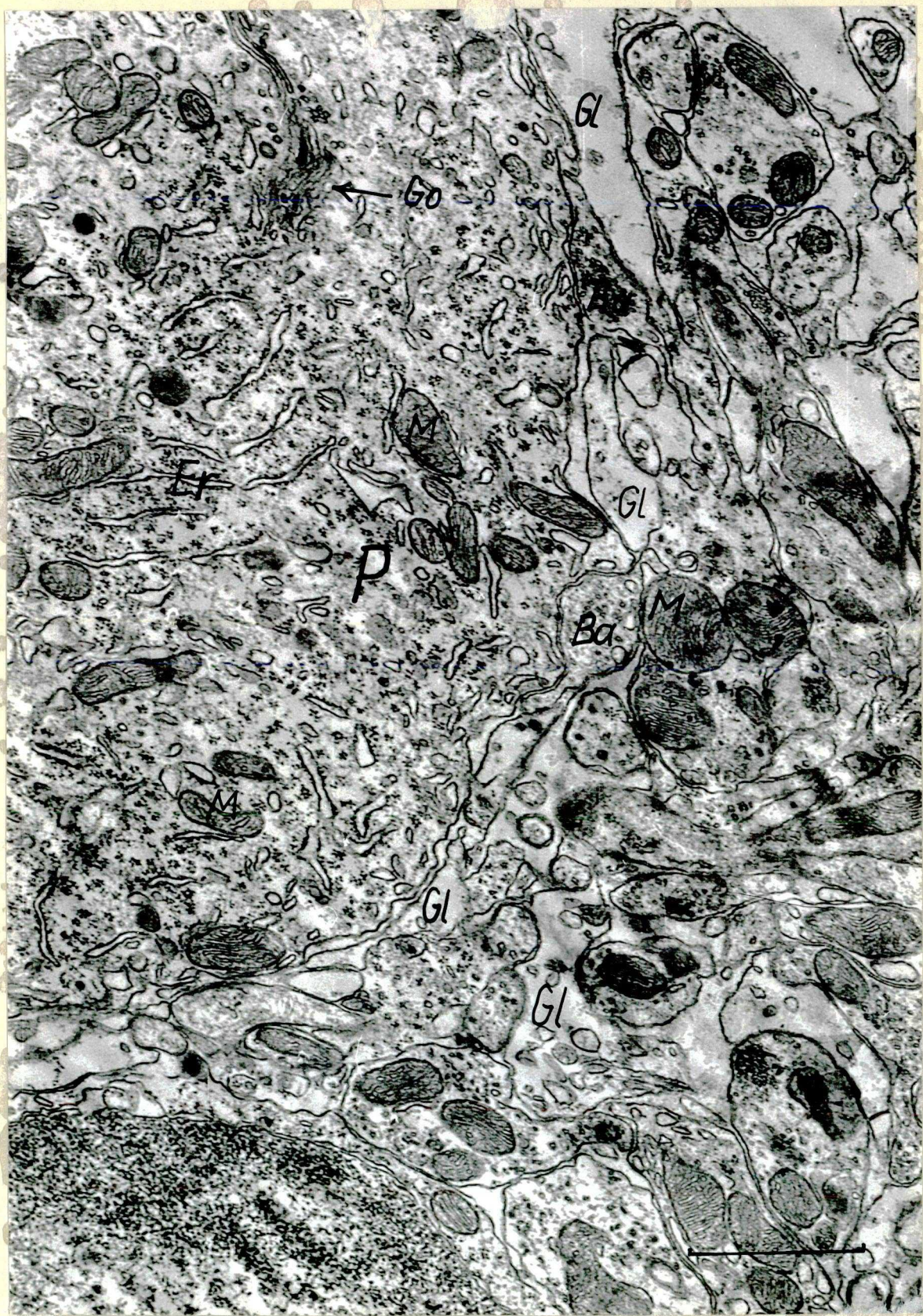
A Purkinje-sejt és nyulványai többféle leírt és feltételezett synapsisban vesznek részt. Ezek közül több kutató figyelmét vonta magára /SZENTÁGOTHAÏ, HÁMORI, ECCLES, UCHIZONO/ az axoneredési zóna közelében synapticus kapcsolatot létesítő, kosársejt-axonokból álló fonadék, a Purkinje-kosár /4.ábra/. Az elektronmikroszkópos

vizsgálatok itt axo-somaticus synapsisokról számolnak be. Felvételeink is szemléltetik az itt uralkodó viszonyokat /4-6.kép/. A gazdag citoplazmájú sejttestet hosszú szakaszon világos glianyulványok övezik, és azt helyenként áttörik a kosáraxonok, majd hozzásimulnak a Purkinje-sejthez. Vesiculumtartalmuk, a vesiculumok elrendeződése, valamint a kissé vastagodott membrán synaptikus kapcsolatra mutat. Később bemutatott /22. kép/ felvételünkön egy hosszában metszett kosáraxonon annak filamentáris szerkezete figyelhető meg.

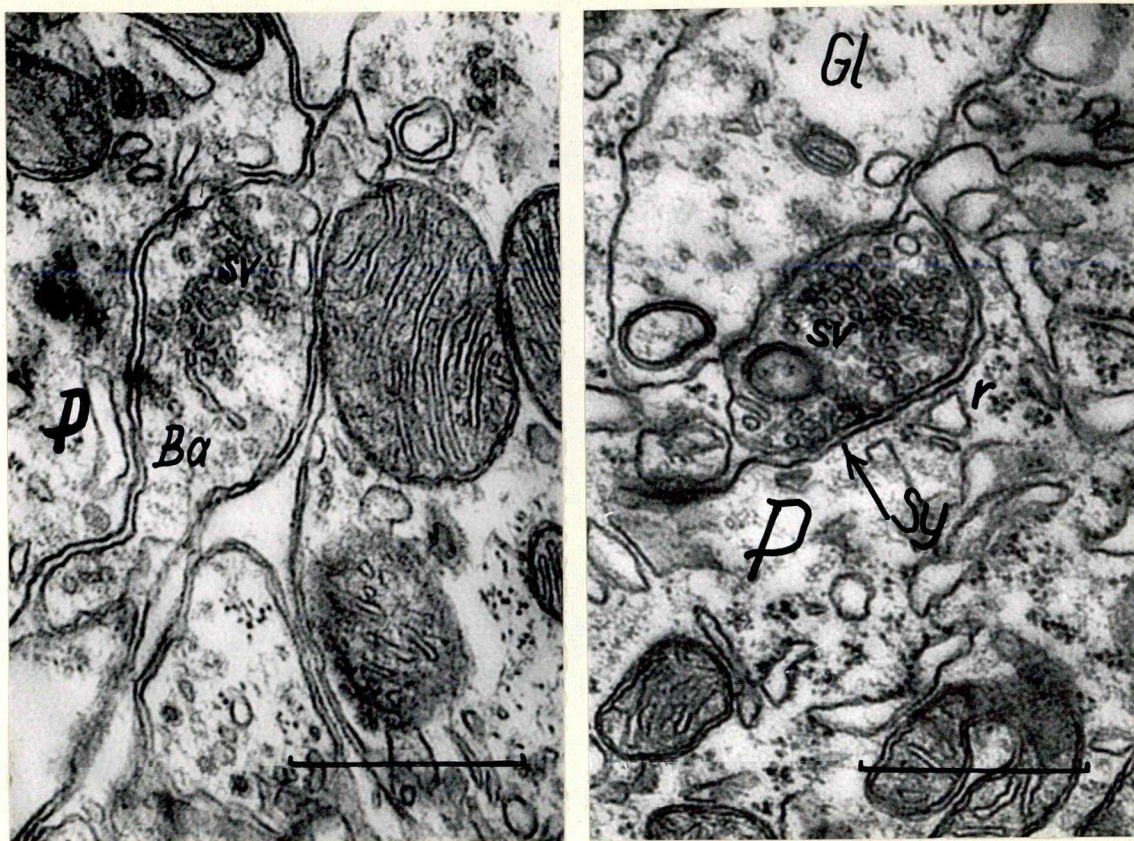
A tercier Purkinje-dendritek tuskéi a molekuláris rétegben az u.n. parallel rostokkal synaptizálnak. A szem-

4.ábra. Purkinje-kosár vázlata /HÁMORI és SZENTÁGOTHAÏ 1965/. P- Purkinje-sejt, G - gliá, Ba- kosáraxon, Ax- Purkinje-axon, OBN- kosáraxonok synapsisai az eredő axonon

csesejtek neuritjei /2.ábra/ felszállnak a molekuláris rétegbe, és ott dichotomizáló oszlással két részre szakadnak. Az így oszlott "fél-axonok" a kéreggel azonos síkban, egymással párhuzamosan



4.kép. Purkinje-kosár részlete. A hatalmas sejttesthez két helyen kapcsolódik kosár-axon. Baloldalt alul szemcsesejt részlete. P- Purkinje-sejt, Gr-szemcsesejt, Gl- glia, Ba kosársejt-axon, M- mitochondrium, Er-endoplasmaticus reticulum, Go- Golgi-apparátus

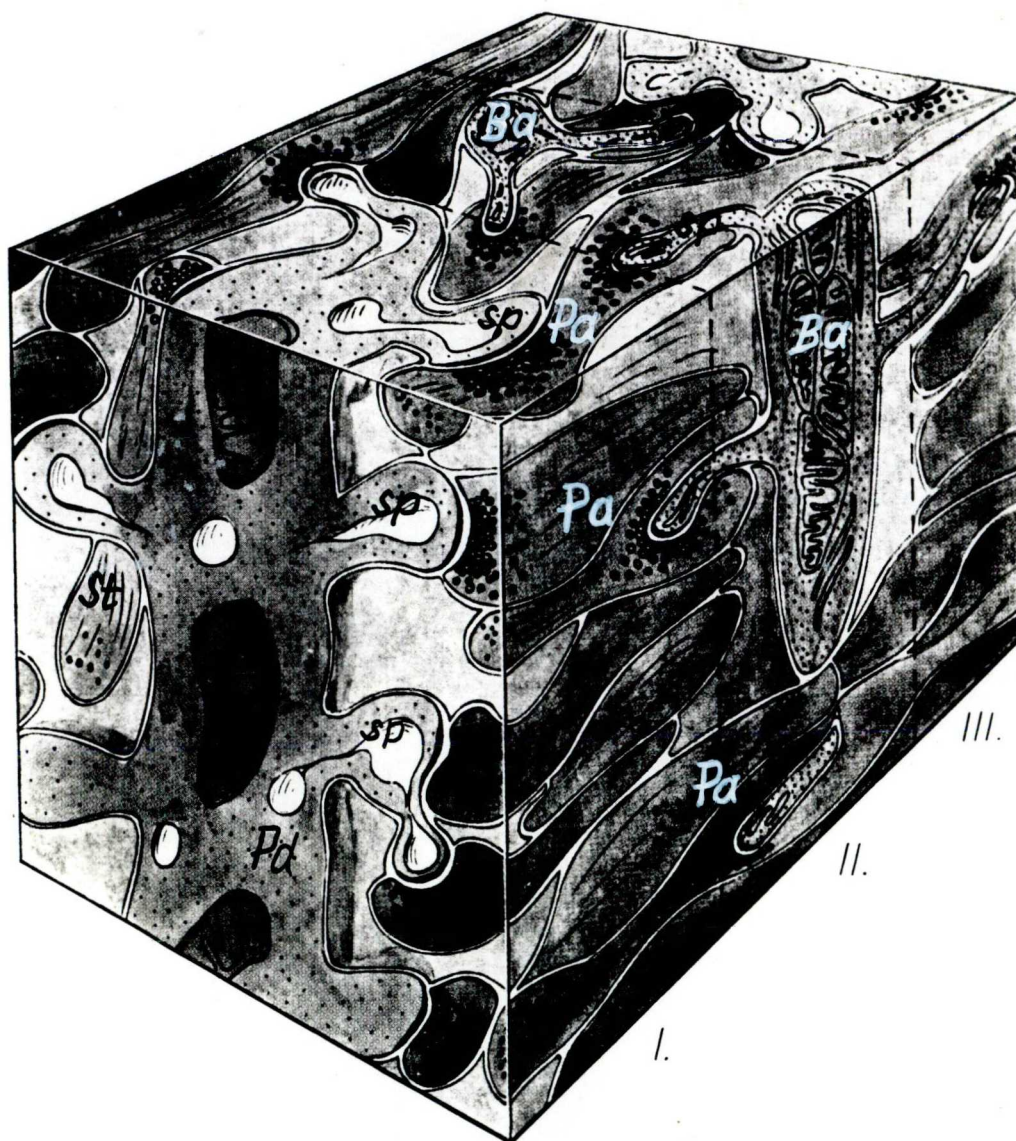


5-6.kép. Purkinje-kosár nagy nagyítású részletei. P- Purkinje-sejt, Ba- kosáraxon, Gl- glia, Sy- synapsis, sv-synapticus vesiculum.

futnak, innen a parallel-rost elnevezés /5.ábra/. 7.képünkön egy tercier Purkinje-dendrit hosszmetstetét mutatjuk be. A dendrit mitochondriumokkal és tágult dendritikus tubulusokkal töltött, belőle kétoldalt tüskék erednek; ezek synaptizálnak a parallel axonok megvastagodott nyulványaival. A megvastagodás különösen szemléletes a 8. képen. -A dendrittüskék mitochondriumokat már nem, csak tubulusokat tartalmaznak, és esetenként mélyen benyomulnak, "invaginálódnak" a parallel rostba /9, 13-16 kép/.

A Purkinje-dendritek sima felszínén többféle synaptizáló axonterminált irtak le: filamentáris kuszórostot, amely SZENTÁGOTHAJ és RAJKOVITS /1959/ vizsgálatai szerint olivocerebelláris pályának tekinthető; a szintén filamentáris szerkezetű csillagsejt-axon feltételezett synapsisát, valamint a rekurrens Purkinje axon-kollaterálisokat /10. kép/. Az axon-kollateralisok a szomszédos Purkinje-sejtek, ill. távolabbi lebenyek /FREZIK 1961/ Purkinje-sejtjeinek dendritjeihez vezetnek. Synapticus termináljaikban filamentumok nem figyelhetők meg /HÁMORI 1965/.

A felsorolt és bemutatott synapsis-fajtákon kívül ismeretes ill. valószínűsített még több kisagykérgi kapcsolat is, amelyek

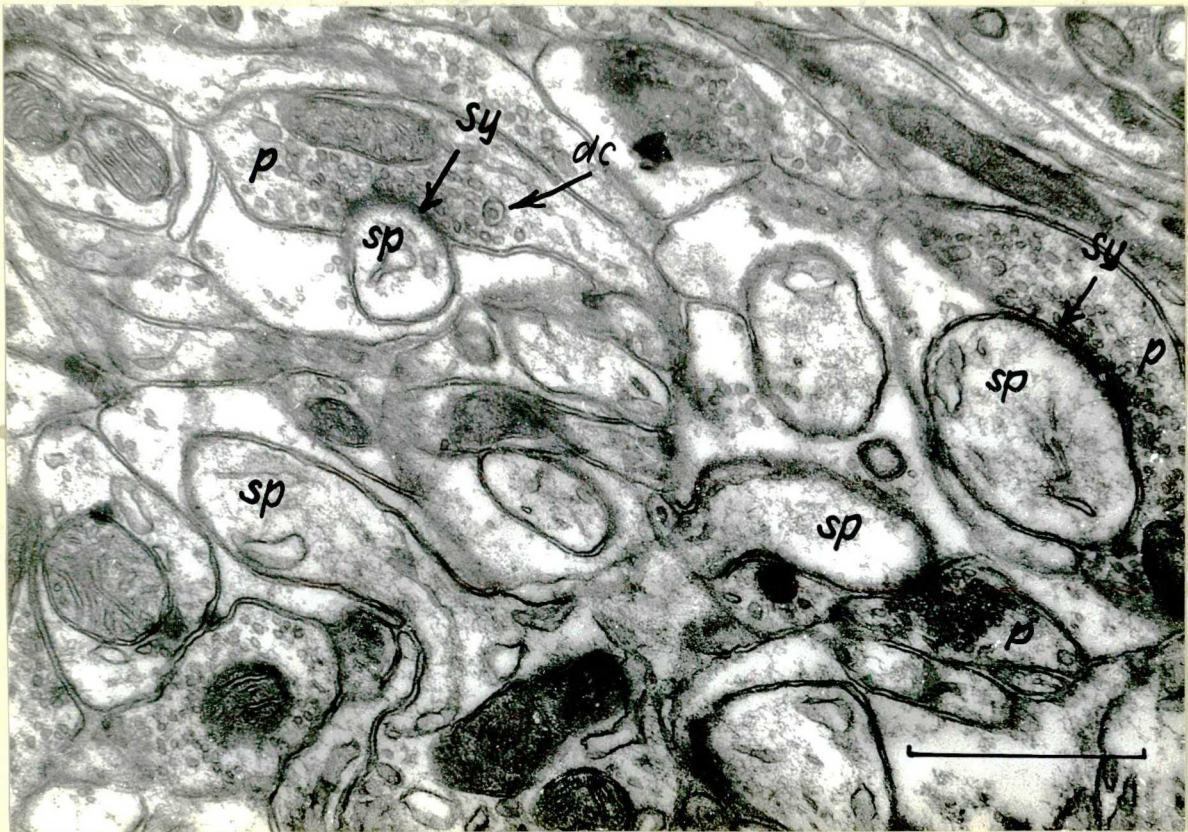
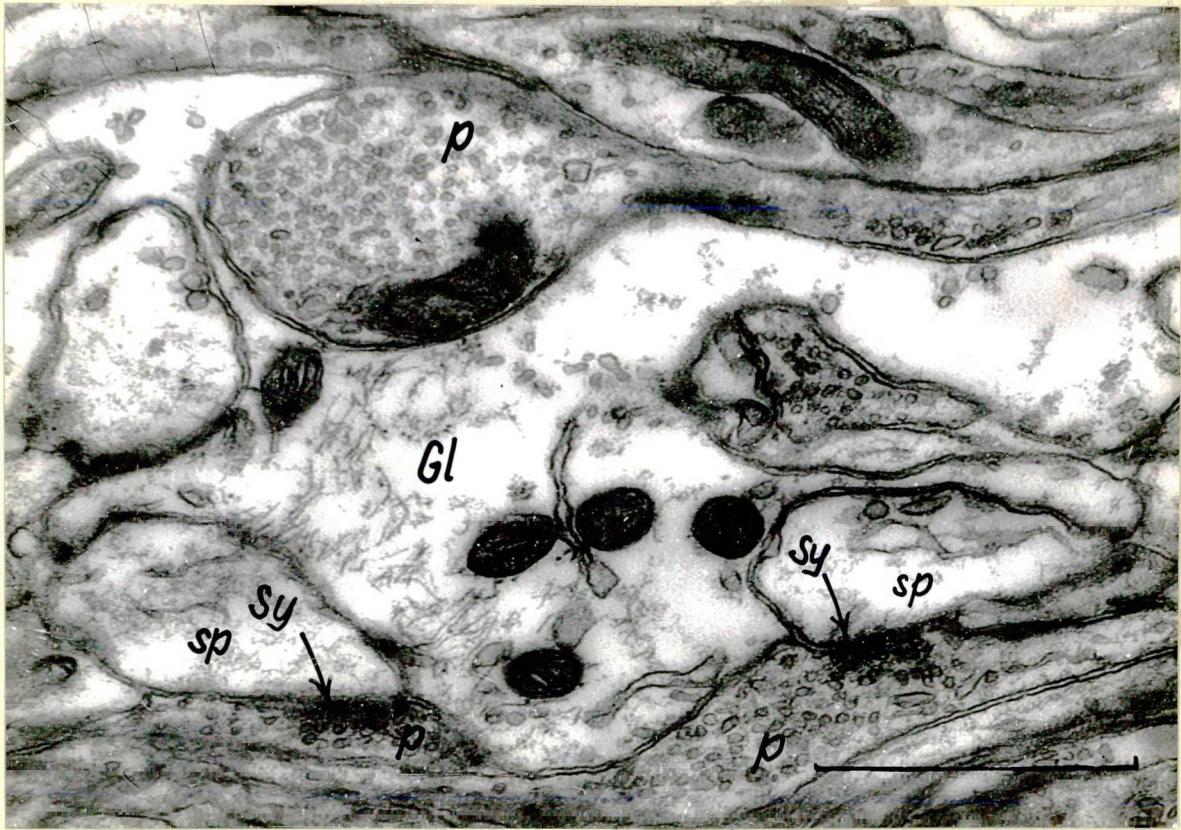


5. ábra. A molekuláris réteg néhány synapsisának térbeli vázlete /HÁMORI és SZENTÁGOTHAJ 1964/. Pd-Purkinje-dendrit, sp-dendrit-tüske, Ba-kosársejt dendrit, Pa-parallel rost, St-csillagsejt axon.

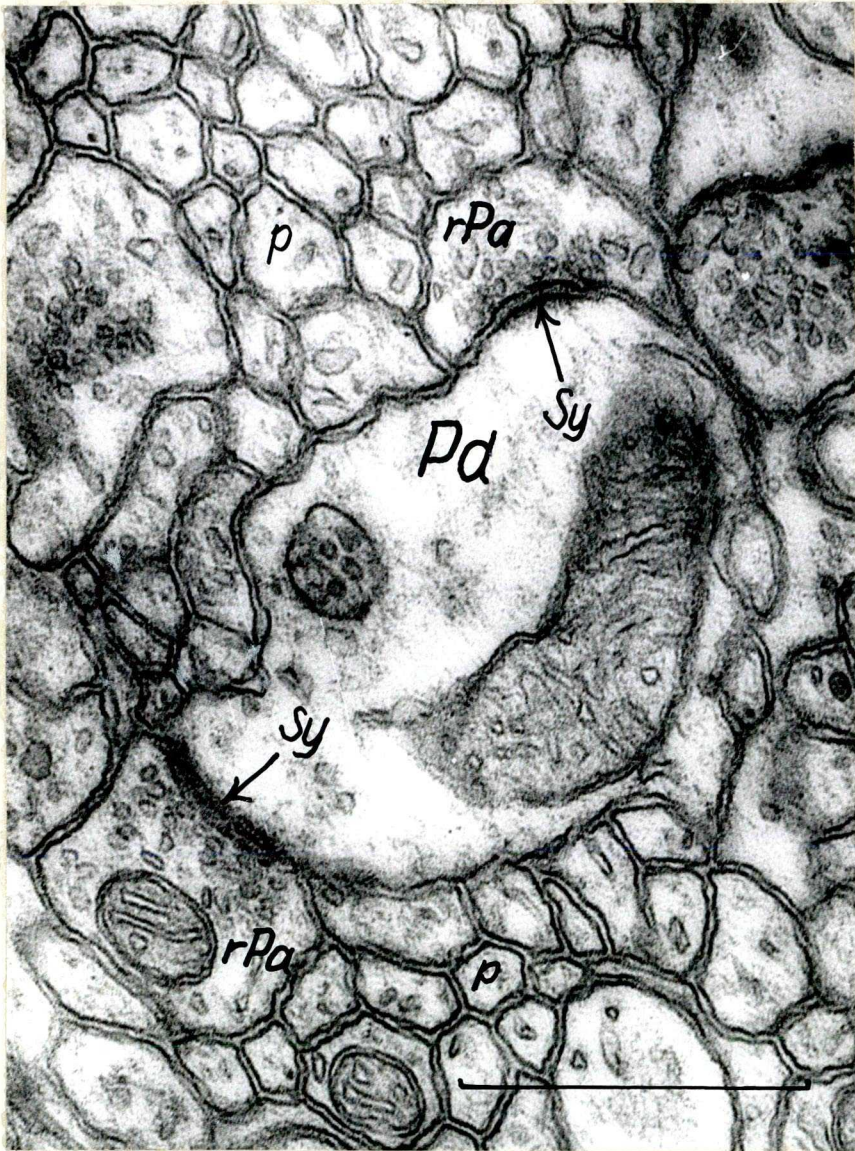
nem kerültek elő vizsgálataink során, vagy identifikálásuk nehézségekbe ütközött. Ezeket a kapcsolatokat is feltünteti 2. táblázatunk.



7.kép. Tercier Purkinje-dendrit hosszmetzeti képe. Pd- Purkinje-dendrit, sp- dendrittüske, p- parallel rost, Gl- glia.



8-9. kép. Parallel rostok és Purkinje-dendrittüskék synapsisai.
 p- parallel rost, sp- dendrittüske, Sy- synapsis, Gl- glia,
 dc- dense-core vesiculum

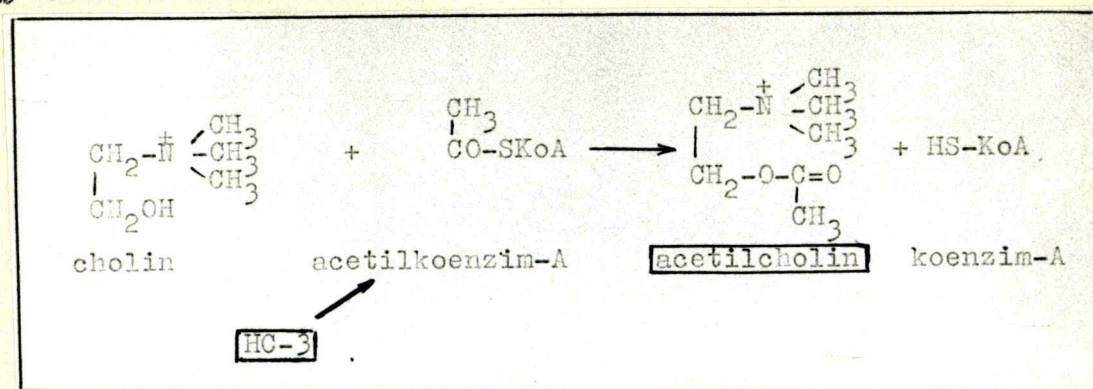


10. kép. Rekurrens Purkinje axon-kollateralis synapsisa Purkinje-dendrittel. Pd- Purkinje dendrit, rPa-rekurrens Purkinje axon-kollateralis, p- parallel rost, Sy-synapsis

Hemicholiniumos kezelés hatása néhány kisagykérgei
synaptizáló terminálisra ozmiumos fixálás alkalmazásakor

A synapticus vesiculumok szerepére vonatkozó feltételezések már a vesiculumok felfedezésekor megszülettek, és a vesiculumokat a kémiai mediátorokkal hozták összefüggésbe. A mediátort a synapticus vesiculumok belsőjében tételezték fel, a vesiculumokat pedig illetéknéppen mediátor-kvantumokkal azonosították./DEL CASTILLO és KATZ, 1956/. Az acetylcholin-kvantum kb. 400 molekulából áll; ez esetben az intravesicularis Ach-koncentráció 0,11 M. KRNJEVIC és MITCHELL /1963, cit.HEBB/ szerint azonban a kvantum ennél sokkal nagyobb /8000-20000 molekula/, ami extrém Ach-koncentrációt jelentene egy-egy vesiculumon belül.

A probléma megoldására nucleus caudatuson és parietalis cortexen CSILLIK és JOÓ 1965-ben végzett vizsgálatokat, amikor is hemicholiniummal /HC-3/ kezelték állataikat. Amint azt McINTOSH /1959/ és GARDINER 1961-es vizsgálatai bizonyították, a HC-3 az ACH szintézisét gátolja, agyban kimutatható mennyiségét 70-80 százalékkal csökkenti. A gátlás GARDINER előbb említett vizsgálatai alapján kompetetivnek tekinthető, u.i. a HC-3 az acetilkoenzim-A és cholin kapcsolódását megelőzően a cholin helyére lép, és így leköti a koenzimet.



6. ábra. Az acetylcholin-szintézis utolsó lépése és a hemicholinium támadási pontja.

HEBB és mtsai vizsgálatai szerint a nucleus caudatus Ach-tartalma HC-3 kezelés hatására 90%-kal csökkent. Ugyanakkor CSILLIK és JOÓ nem tapasztalt ezzel arányban álló vesiculumszám-csökkenést,

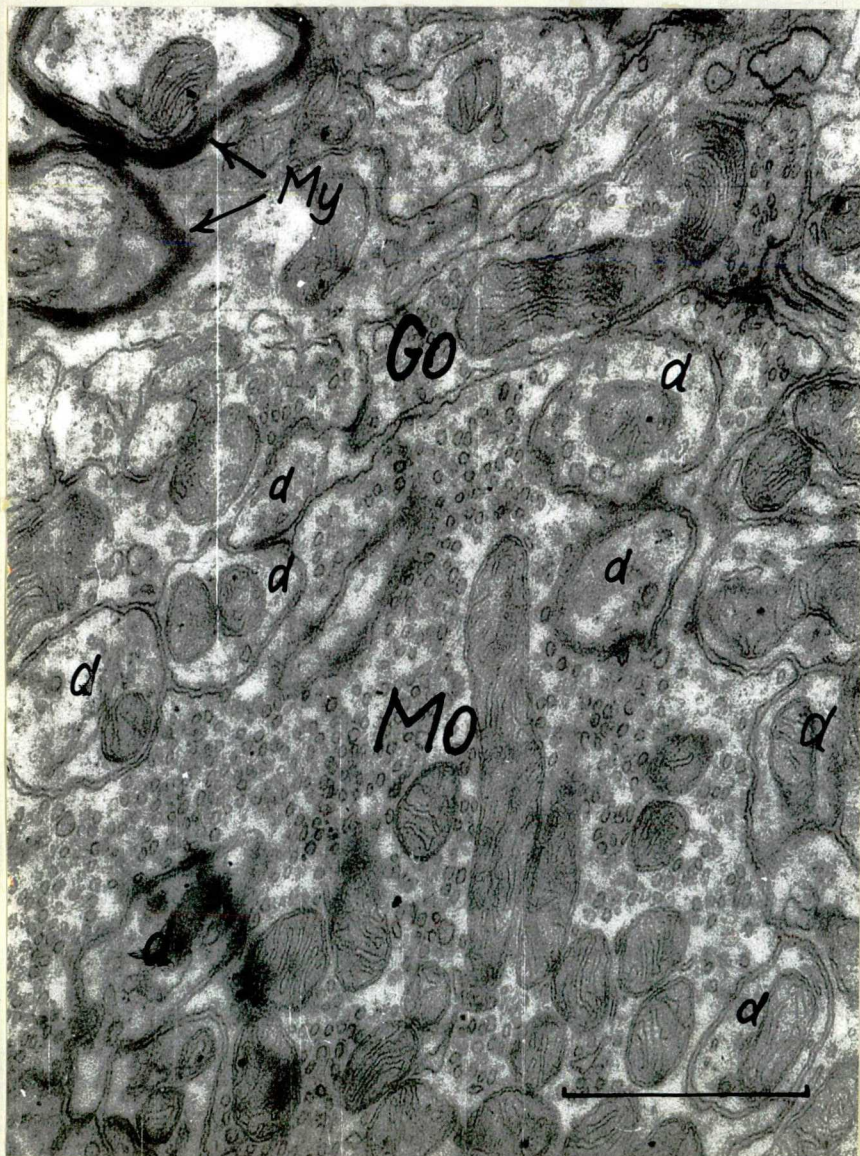
amiből levont következtetésük szerint a synapticus vesiculumok jelenléte nem tekinthető a transmitter-anyag jelenléte bizonyítékának. Emellett a vesiculumok feltehetően nem üregükben, hanem felszínükhöz kötve tartalmazzák a transmittert. Kérdéses azonban, hogy ezek a vizsgálati eredmények megállják-e helyüket a központi idegrendszer más részeiben is. -Ilyen indítékokkal fogtunk hozzá a kisagyi synapticus terminálok HC-3-os kezelés utáni vizsgálatához.

A cerebellum a központi idegrendszer viszonylag alacsony Ach-tartalma részének számít, és a legtöbb kisagyi synapsis vonatkozásában kevés a valószínűsége az Ach, mint transmitter-anyag jelenlétének. Ha viszont elfogadjuk az Ach praetransmitter-funkcióját, szintézisének gátlása hatással kell legyen a közvetlenül nem acetylcholin-transmissióval működő synapticus terminálok vesiculu-

maira is. Hozzá tartozik ehhez a megfontoláshoz az is, hogy a praetransmitter Ach-t is valamilyen módon vesiculumhoz kötöttnek tételezzük fel.

Felvételeink kivétel nélkül bizonyítják, hogy a synapticus vesiculumok HC-3-os kezelés után a kisagykéregben sem tűnnek el, és morfológiai károsodást sem szenvednek, hasonlóan a nucl. caudatuson és a parietalis cortexen végzett vizsgálatok eredményeihez.

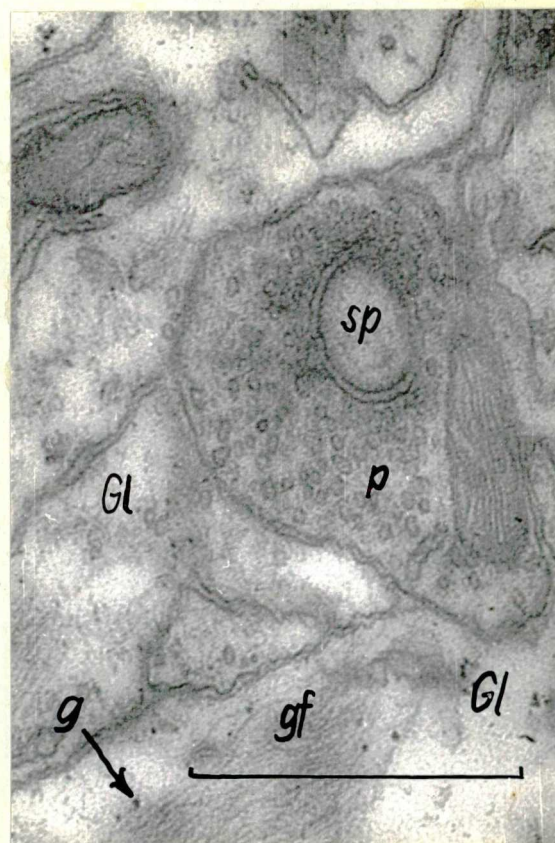
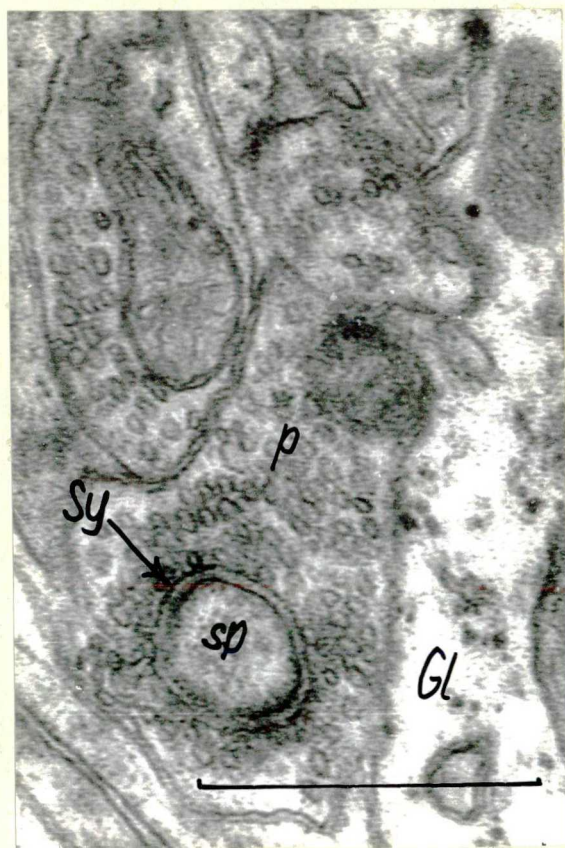
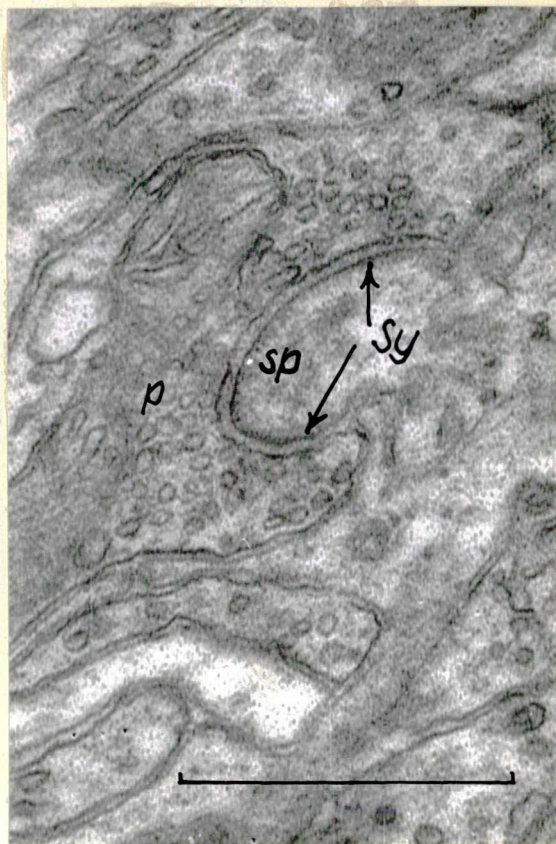
11. képünk glomerulus cerebellaris részlete HC-3-mal kezelt anyagból. A synapticus vesiculumok mind a moharostvégződésben, mind a Golgi-axon terminálisán a szokott viszonyokat tükrözik.



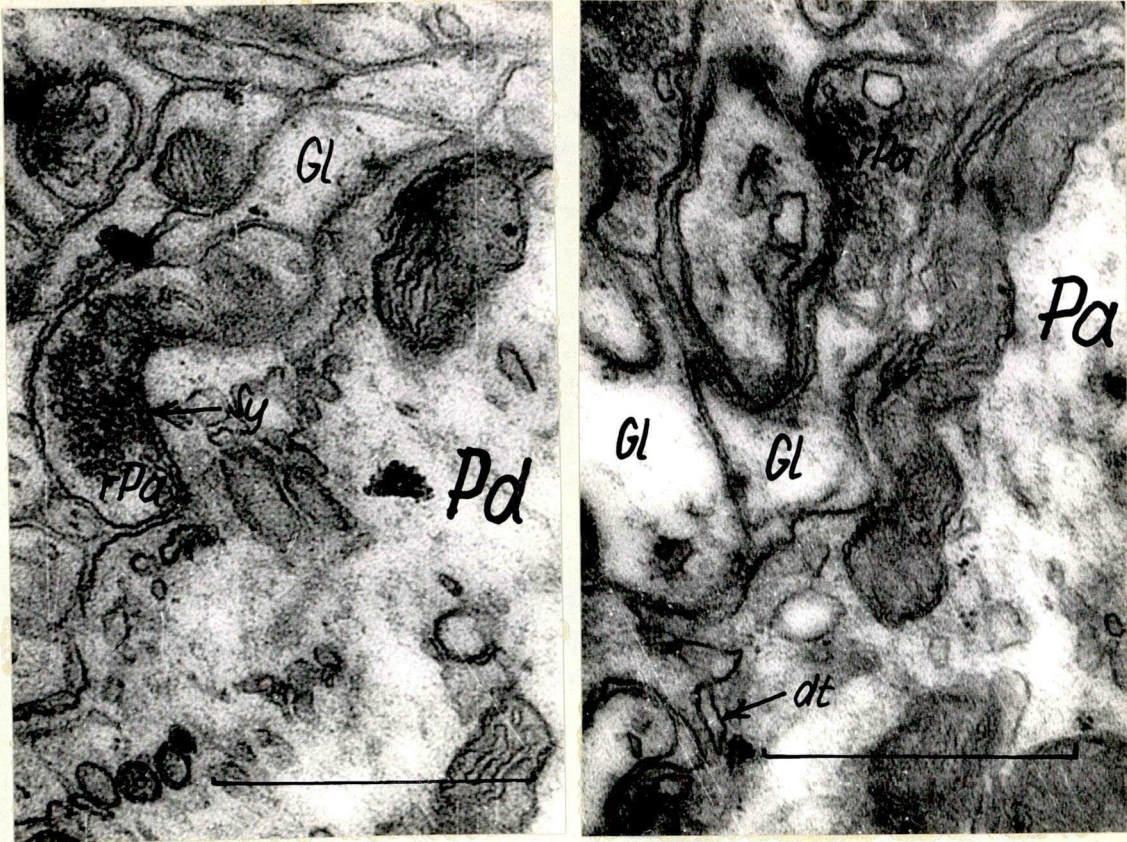
11.kép. Glomerulus cerebellaris részlete.
Mo- moharost, Go- Golgi-axon, d- dendrit,
My- velőhüvely.



12.kép. Purkinje-sejt és kosáráxon. P- Purkinje-sejt, Ba- kosár-sejt-axon, N- sejtmag, Er- endoplasmaticus reticulum, Gl- glia.



13-16. kép. Parallel rostok és Purkinje terciér dendrit-tüskék synapsisai. Erőteljes az "invagináció". p- parallel rost, sp- dendrittüske, Sy- synapsis, Gl- glia, gf- gliafilamentum, g- glycogen.



17-18. kép. Purkinje dendrit és rekurrens Purkinje-axon. Pd- Purkinje-dendrit, rPa- rekurrens Purkinje axon-kollaterális, Sy- synapsis, Gl- glia, dt- dendritikus tubulus.

12. képünk Purkinje-kosár esetében bizonyítja ugyanezt; a kosár-axonok is tartalmaznak vesiculumot. 13-16. képeink parallel rostok és helyenként mélyen "invaginált" Purkinje-dendrittűskék ép synapsisairól készültek, és 17-18. képeink tanúsága szerint a rekurrens Purkinje axon-kollateralisok vesiculumait sem érte károsodás.

Ami a vesiculumok számának a kontrollanyag ugyanolyan synapticus terminálisaiban mért vesiculumai számához való arányát illeti, 1. sz. táblázatunkon szemléltetjük. A vesiculumok számának változása nem szignifikáns.

A HC-3-os kezelés várhatóan a kisagyban is az Ach-tartalom minimálisra való csökkenését eredményezi, ami a kisagykéreg fenti synapsisaiban sem áll arányban a vesiculumok számának kismérvű változásával. Ezen az alapon CSILLIK és JOÓ eredményeihez hasonlóan fel kell tételeznünk, hogy az Ach nem szükségszerűen a vesiculumok belsejében lokalizált, hiszen azok túlélték hiányát. Lehetőséges, hogy létük nem kötött tartalmukhoz, azaz csak mintegy "készletként" tartályokként vannak jelen; de az sem zárható ki, hogy felületükön tartalmazzák az Ach-t.

synapsis	kontroll		HC-3		HC-3 ves. a kontroll %-ában
	ves.	s	ves.	s	
<u>Moharost-szemcsesejt dendrit</u>	129	44	95,4	25,1	73,9
<u>Golgi axon-szemcsesejt dendrit</u>	159	53,5	139	52,7	87,4
<u>Kosáráxon-Purkinje sejt</u>	81,8	45,6	80,9	36	98,8
<u>Parallel rost-Purk.dendrittüske</u>	109	29,8	110	38,1	100,9
<u>Rekurrens Purkinje axon-Purkinje dendrit</u>	85,5	25,1	100	37,1	116

1.táblázat. Synapticus terminálok vesiculumszámának változása HC-3 kezelés hatására. Az egyes terminálokon mérhető változás különböző mérvű, de nem₂szignifikáns.-A vesiculumok számát /II. és IV. oszlop/ lum²-ra vonatkoztatva adjuk meg, az "s" oszlopokban ezen vesiculumszámok standard deviatiói vannak feltüntetve.



A synapticus vesiculumok megoszlása kettős fixálást követően

Az elektronmikroszkópos neurocitológiai vizsgálatok egészen a legutóbbi időig majdnem kizárólag csak OsO_4 -dal rögzített anyagokkal értek el eredményt. Ozmiumtetroxidos rögzítés után a synaptikus vesiculumok két típusa különböztethető meg. Egyik a céltáblaszerű, sötét "maggal" rendelkező u.n. "dense-core" vesiculum. Ezen belül 3 típus különíthető el /CSILLIK 1967/:

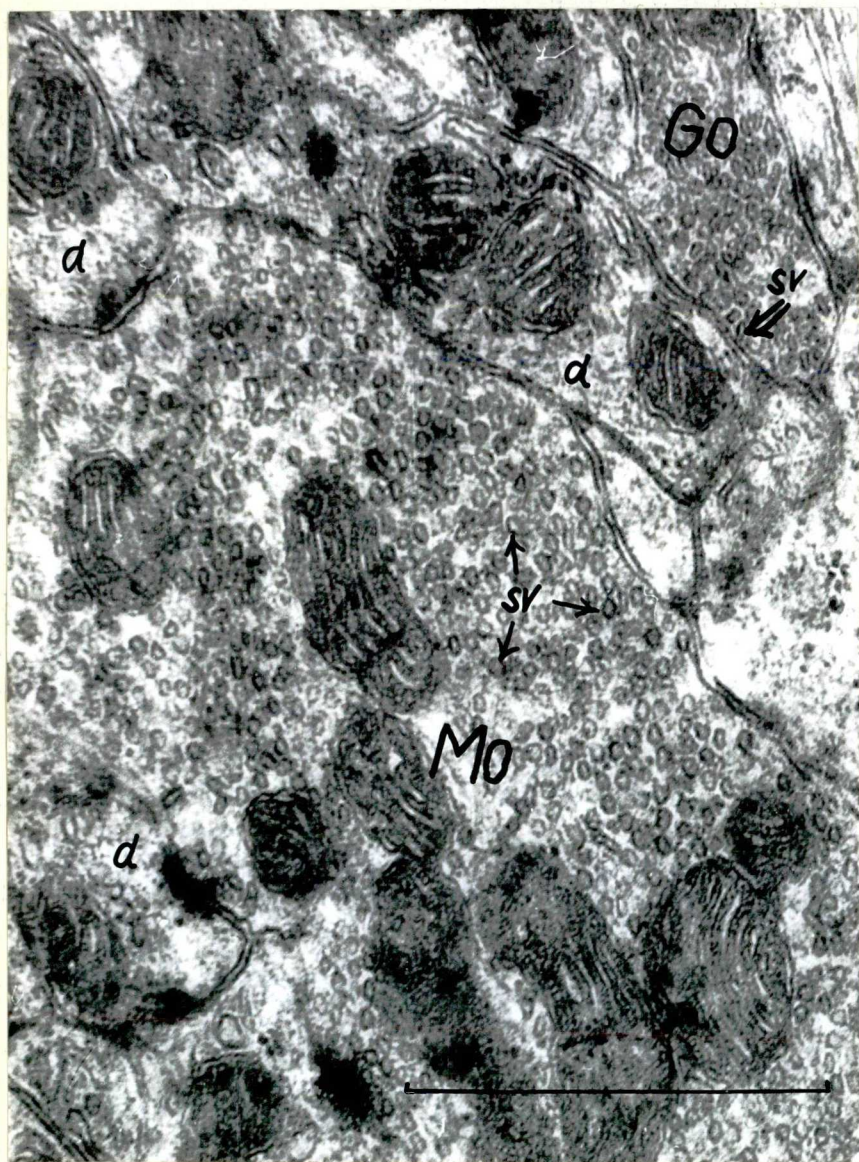
a/ átmérője 2000 Å, a mellékvese velőállományában fordul elő, és adrenalinna, valamint noradrenalinna azonosítható;
b/ mérete 850 Å, az idegrendszer legkülönbözőbb helyein megtalálható;

c/ átmérője kb. 450 Å, és kimutatták catecholamin-tartalmát. A dense-core vesiculumok mellett talált másik vesiculumfajta kb. 400 Å átmérőjű, keresztmetszete kerek, és minden humorálisan mediált synapsisban fellelhető. Ezek a "közönséges" synapticus vesiculumok tehát mind ingerlő, mind bizonyítottan gátló terminálokban előfordultak, és ezért nem voltak azonosíthatók egyetlen jól definiált kémiai mediátorral sem.

1965-ben UCHIZONO, majd WALBERG beszámolt arról, hogy aldehydes rögzítés után ezen "közönséges" vesiculumoknak két, egymástól morfológiailag jól differenciálható típusa figyelhető meg. Az egyik kerek, forma és méret tekintetében megegyezik a régebben "közönséges" vesiculumnak nevezett organellum jellemzőivel. A másik típus viszont kisebb méretű, kb. 2-300 x 3-500 Å átmérőkkel rendelkezik, és lapított tojásforma. Ilyen "ovoid" vesiculumokat írt le UCHIZONO 1965-ben a macska kisagy molekuláris rétegéből, macska gerincvelő elülső szarvából, valamint a folyami rák egyik idegének /"stretch receptor neuron"/ dendritikus zónájából; BODIAN /1965/ szintén macska gerincvelőből; UCHIZONO 1966-ban a kisagy Purkinje-kosáráxonaiból, HIRATA /1966/ pedig az emlős központi idegrendszer több helyéről. Ugyanakkor ECCLES és mtsai /1964/ a koaxiális mikroelektródokkal végzett intracellularis elvezetés módszerével kimutatták, hogy a Purkinje-kosár gátló potenciállal rendelkezik; KUFFLER és mtsai /1955/ pedig megállapították, hogy a rák fent említett neuronja kizárólag gátló

végződésekkal van ellátva. Kézenfekvő volt ezek után, hogy UCHIZONO, majd az ő nyomán BODIAN és mások az ovoid vesiculumokat tartalmazó axonterminálakat a gátló végzódések morfológiai megfelelőjének tekintsék.

Véleményünk szerint azonban ez a két koincidencia nem elegendő ilyen alapvető jelentőségű következtetéshez, s ezért szükségesnek láttuk, hogy a vesiculumok strukturális sajátosságait az előzőekben említett szerzők által alkalmazott kísérleti körülmények között a központi idegrendszer egyik aránylag jól ismert területén, a kisagyon tanulmányozzuk.



19.kép. Glomerulus cerebellaris részlete. Mo- mohanost, Go- Golgi-axon, d- dendrit, sv- synapticus vesiculum: egyes nyíllal a sphericus, kettős nyíllal az ovoid vesiculumokat jelöljük /a továbbiakban is/.

19. felvételünk glomerulus cerebelli részlet, rajta az ismert alkotórészek felismerhetők: hatalmas mohanostvégződés, benne nagytömegű vesiculum és sok mitochondrium. Vesiculumai formájuk és méretük alapján a gömbölyű, sphericus csoportba sorolhatók. Különösen szembetűnő ez, ha a dendritekkel szintén synaptizáló Golgi-axonok keresztmetszetét tekintjük meg: a vesiculumok kisebbek és lapítottak, ovoid vesiculumok. A mohanostvégződés funkcionálisan excitatorikusnak ismert, a Golgi-axon pedig gátlónak. Vesiculumtartalmuk megfelel az UCHIZONO-féle feltételezésnek.

20-22. képünk Purkinje-sejtkosárról

készült. A gliasövetet áttörő kosáráxonok tartalmát nagy nagyítási képen vizsgálva a vesiculák ovoidnak bizonyulnak. Mint már említettük, a Purkinje-kosár gátló volta korábban elektrofiziológiailag beigazolódott, így a synapsis alapján is támogatható az "ovoid-gátló" elmélet.

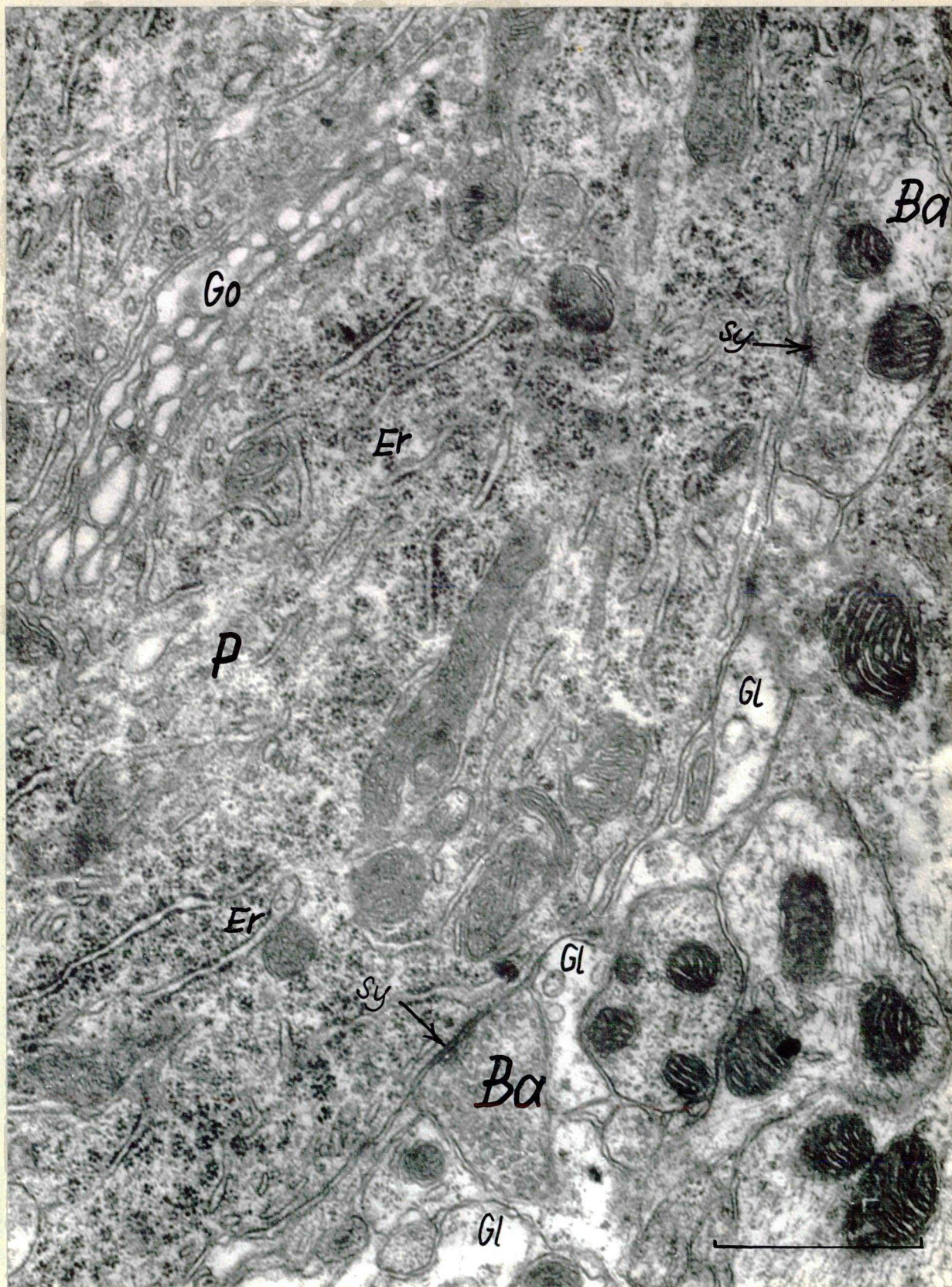
Alátámasztja a strukturális-funkcionális korrelációt az ingerlőnek ismert parallel rostok sphericus vesiculákállománya is./23. kép/

Az eddigiekben bemutatott synapsis-féleségek alapján egyértelműen úgy látszik, hogy az ingerlő jellegű synapsisok spheroid, a gátló jellegűek pedig ovoid vesiculákat tartalmaznak. A cerebellum másik nagy afferens rendszere, a kuszórostok vonatkozásában azonban a kérdés távolról sem ilyen egyszerű. A kuszórostok, amint azt SZENTÁGOTHAJ és RAJKOVITS/1959/ közölték, olivocerebellaris rendszert képviselnek; ECCLES és mtsainak 1964-es vizsgálatai szerint az összes kisagyi pályák közül a legerősebb excitatív hatással bírnak. HÁMORI /1965/ szerint a kuszórostok legfőbb ultrastrukturális jellegzetessége azok fibrilláris szerkezete; valamint az, hogy nem dendrittüskékkel, hanem a Purkinje-dendritek sima felszínével synaptizálnak. Az ezeknek a kritériumoknak eleget tevő rostok azonban csaknem kizárólag ovoid vesiculákat tartalmaznak, spheroid alig 1-2 akad egy terminálban./24. és 25. kép/

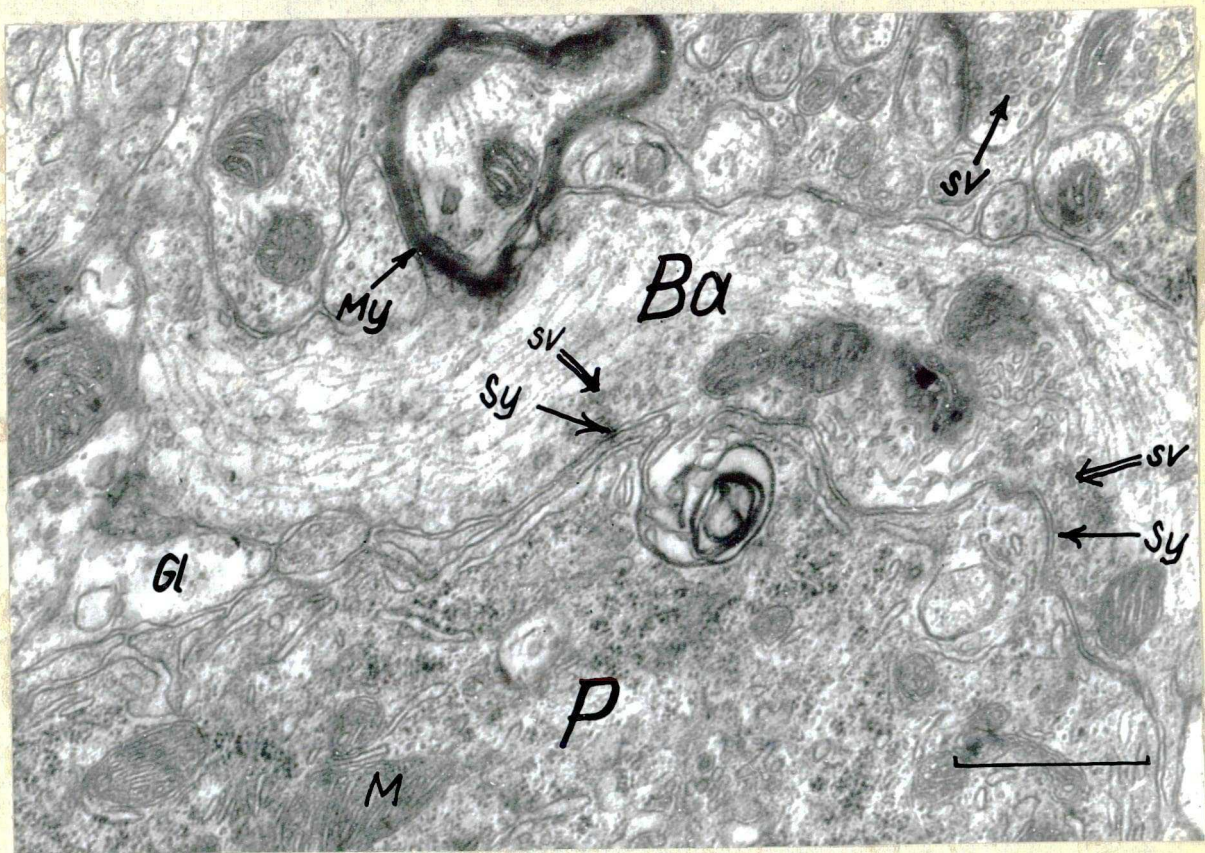
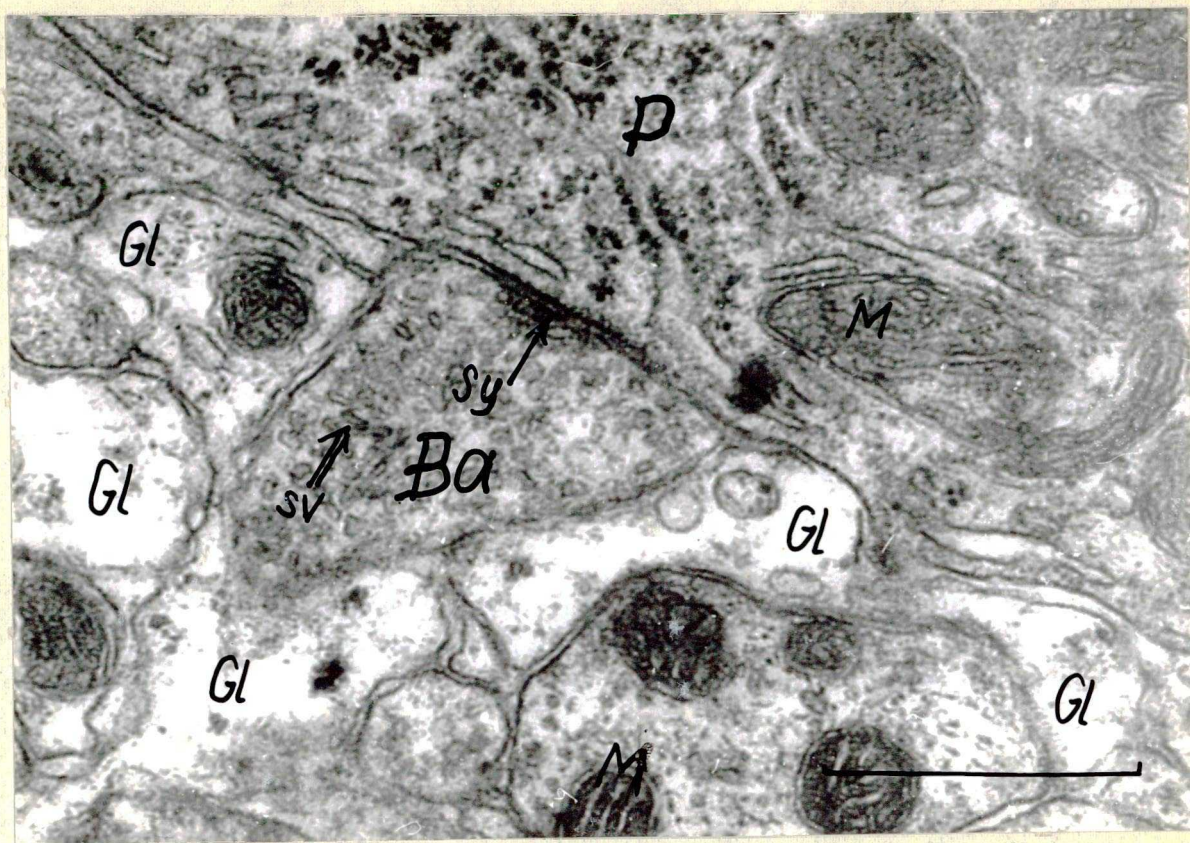
Ezek, valamint a Purkinje axon-kollateralisokkal kapcsolatos, következőkben részletezendő megfigyelések szöges ellentétben állnak az UCHIZONO-féle hipotézis alapján várható viszonyokkal.

A Purkinje-dendriteken végződő nem-filamentaris /"vesicularis típus", HÁMORI 1965/ axonterminális rekurrens Purkinje axon-kollateralisnak tekinthető. Ezen terminálok metszeteiben több esetben ovoid vesiculákat találtunk /26. és 27. kép/. A Purkinje-sejt egészében véve gátló struktúra; így várható, hogy nemcsak axonja, hanem axon-kollateralisa is "gátló" morfológiai sajátosságokkal bír. Emellett azonban nagy számban találtunk kerek vesiculákat tartalmazó nem-filamentaris terminálokat is Purkinje-dendriten, amelyek morfológiai sajátosságaik alapján szintén Purkinje axon-kollateralisoknak felelnek meg /27. és 36. kép/.

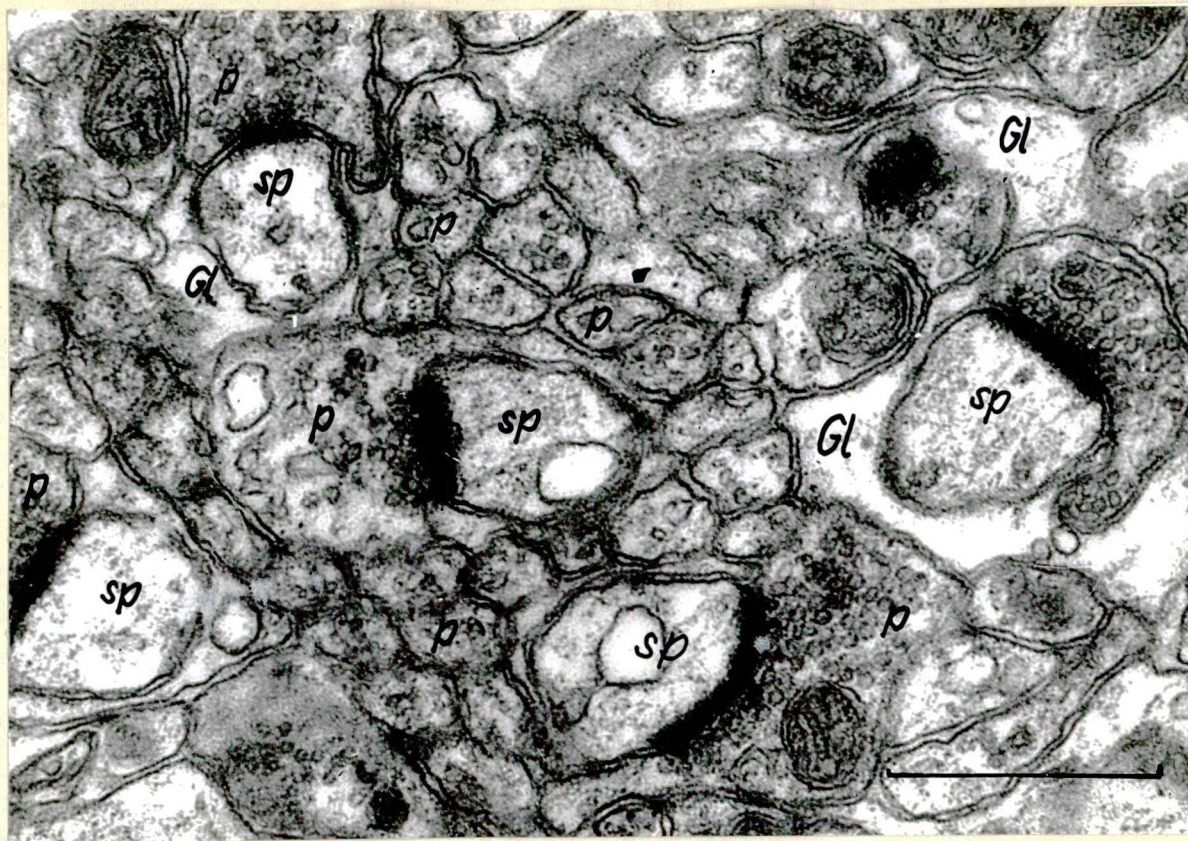
A kuszórostokkal/és a Purkinje axon-kollateralisokkal/ kapcsolatos ellentmondásnak elméletileg három lehetséges megoldása lehetséges.



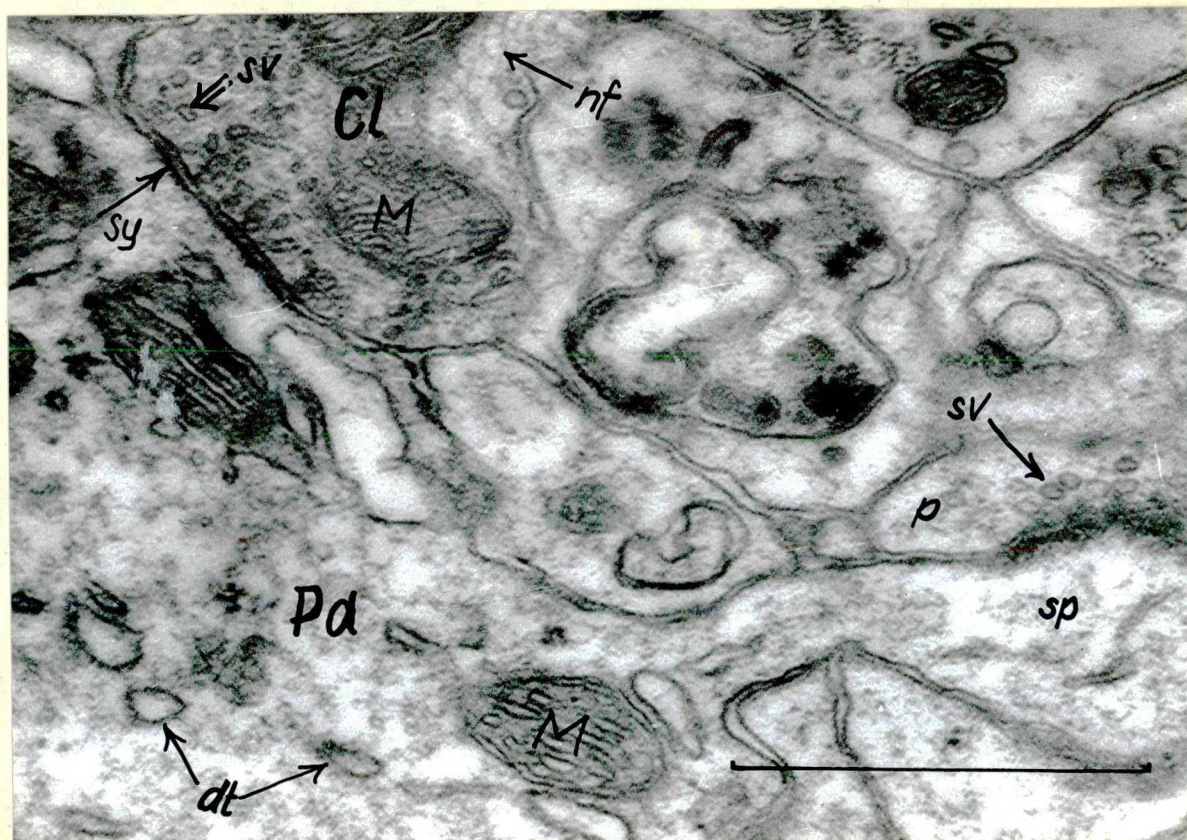
20. kép. Purkinje-kosár részlete. A somával két kosáraxon synaptizál. P- Purkinje-sejt, Ba- kosársejt-axon, Sy- synapsis, Gl-glia, Go- Golgi-apparátus.



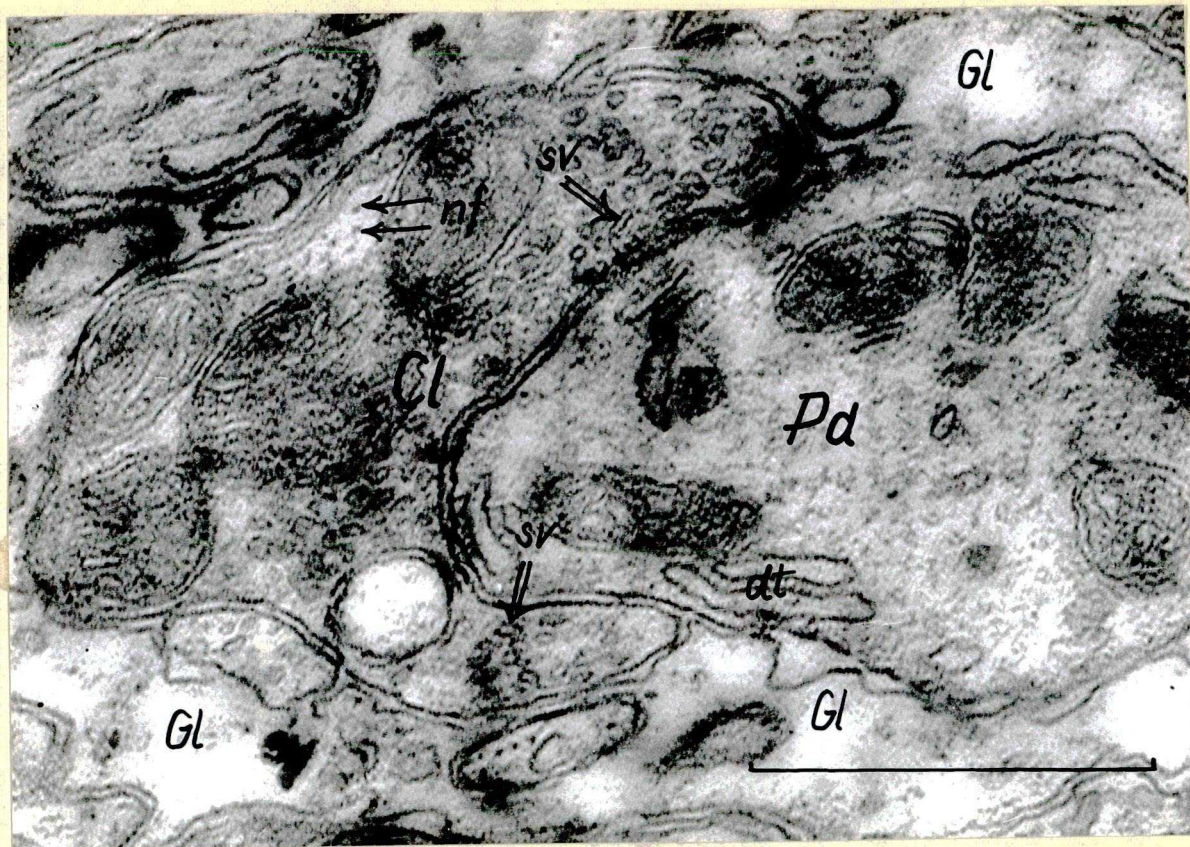
21-22.kép. Purkinje-kosár részletei. Jól látható a kosáráxon filamentáris szerkezete. P- Purkinje-sejt, Ba-kosáráxon, Gl-glia, Sy- synapsis, M- mitochondrium, sv- synapticus vesiculumok.



23.kép. A Purkinje-dendrit tüskéivel synaptizáló parallel rostok sphericus vesiculumokat tartalmaznak. p-parallel rost, Gl-glia, sp- dendrittüske.



24.kép. Purkinje-dendrit és kuszórost synapsisa. Pd- Purkinje-dendrit, Cl- kuszórost, sv-synapticus vesiculum, sp-dendrittüske, nf-neurofilamentum, dt- dendr. tubulus, Sy- synapsis, M-mitochondrium



25.kép. Purkinje-dendrit és kuszórost synapsisa. Ovoid vesiculák. Pd- Purkinje-dendrit, Cl- kuszórost, Gl-glia, nf- neurofilamentum, sv- synapticus vesiculum, dt- dendritikus tubulus.



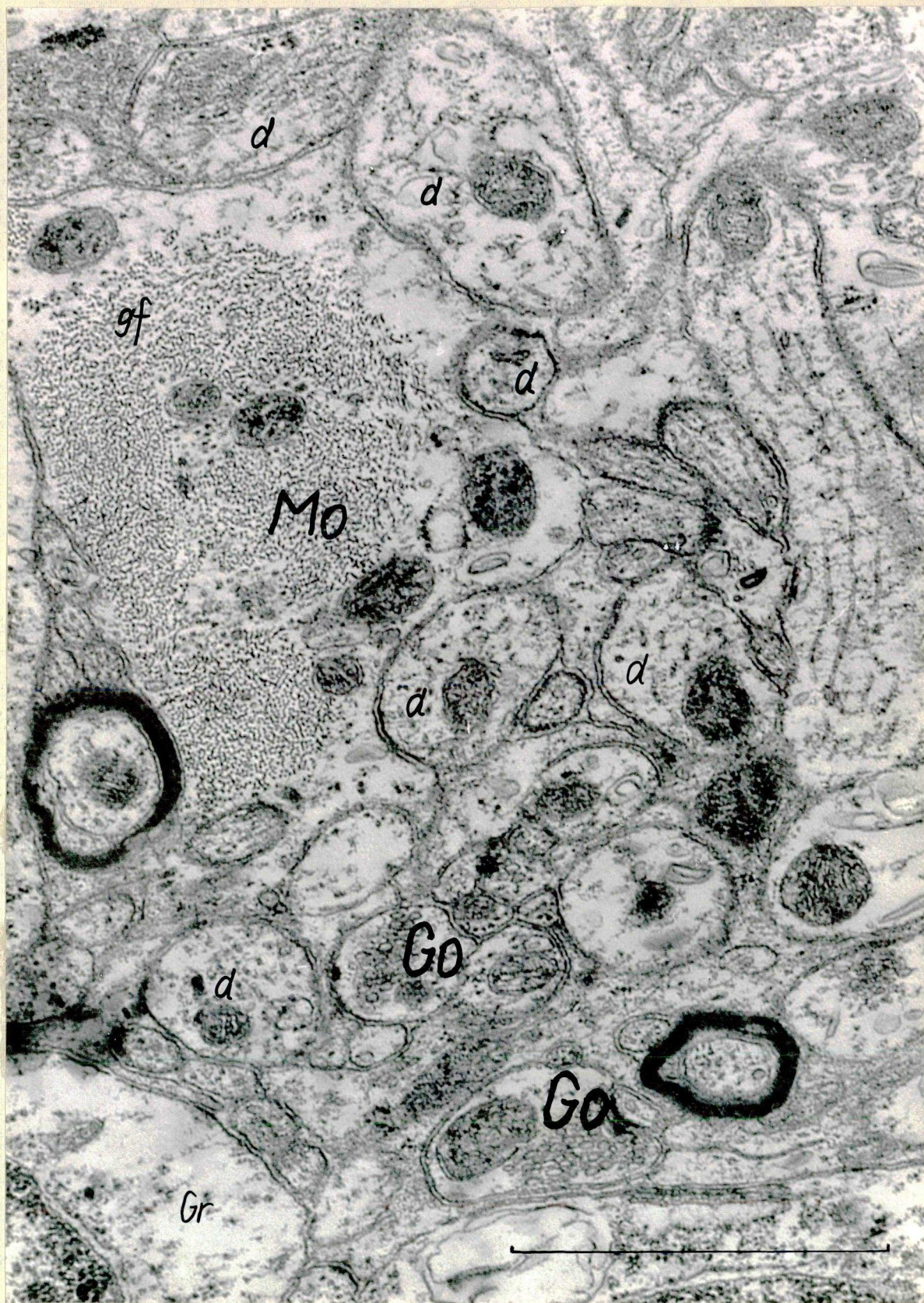
26.kép. Rekurrens Purkinje axon-kollateralis /rPa/ és Purkinje-dendrit /Pd/ synapsisa. sv- synapticus vesiculum, Sy- synapsis, sp- dendrittüske, Gl-glia, p- parallel rost.



27.kép. Purkinje-dendrit /Pd/ és rekurrens Purkinje axon-kollateralisok synapsisai /rPa/. Az egyik kollateralis sphericus, a másik ovoid vesiculumokat /sv/ tartalmaz. Gl- glia.

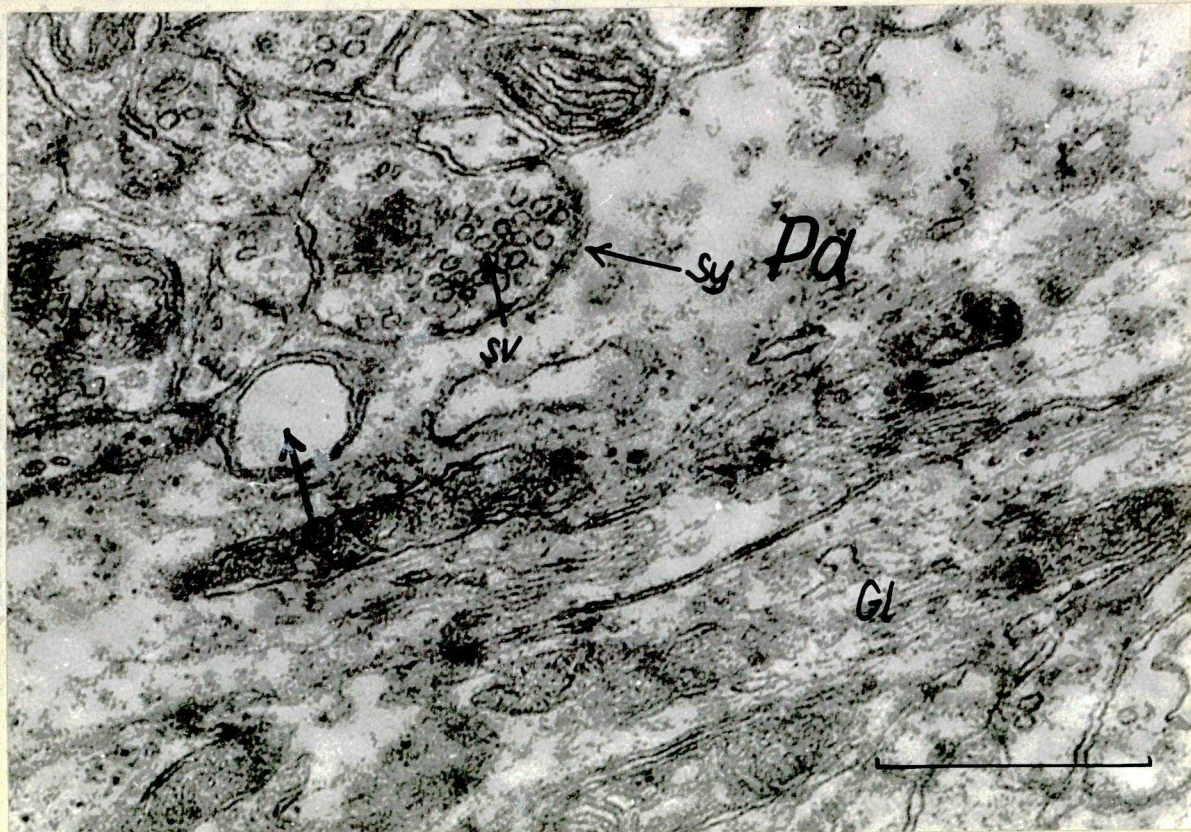
Ezek a következők:

- 1/ A kuszórost nem ingerlő, hanem gátló struktúra. -Ezt a lehetőséget az egyértelmű neurofiziológiai vizsgálatok alapján el kell vetnünk.
- 2/ A kuszórostnak értelmezett struktúrák valójában nem kuszórostok, hanem Purkinje-axon kollateralisok. -Ez egyrészt ellentmond az előzőekben ismertetett ultrastrukturális sajátosságoknak, melyek a két terminálra jellemzőek; másrészt kizárható a kísérleti degenerációs módszer segítségével. Elvégeztük a kisagy folium műtéti izolálását: néhány mm³-nyi darabját megfelelően hajlított Graefe-késsel elválasztottuk a fehérállománytól. Így az izolált kérgi részletet megfosztottuk afferens rendszereitől. 28.képünk degenerált glomerulus cerebelli négy héttel a műtét után; a moharostvégződés elpusztult, helyét az erősen filamentaris glia foglalta el. Ugyanakkor a Golgi-axon ép.
-A molekuláris réteg afferens elemének elmeteszése pedig azt eredményezte, hogy eltűntek a Purkinje-dendritekről



28. Glomerulus cerebellaris 28 nappal a kéreg izolálása után.
Mo- rostos glia által kitöltött moharostvégződés, Go- Golgi-axon,
Gr- szemcsesejt, d- dendrit, gf- gliafilamentum

a filamentaris szerkezetű, ovoid vesiculumokat tartalmazó végzódések; ellenben feltűnően sok a glia-elem, és helyenként üres lyukak találhatók a Purkinje-dendritek mellett, melyek feltehetően az elpusztult, de a glia által még ki nem töltött kuszórostok helyei. /29.kép/



29.kép. A vastag Purkinje-dendrit /Pd/ mellett elpusztult kuszórost /nyíl karikával/, a másik oldalon vastag glia /Gl/. Sy-synapsis, sv-synapticus vesiculum. A synaptizáló terminál feltehetően rekurrens Purkinje axon-kollaterális.

3/ Marad tehát a harmadik lehetőség, hogy t.i. a struktúrális-funkcionális korreláció, azaz a "sphericus-ingerlő és ovoid=gátló" elmélet nem jelent egészen szigorúan törvényszerű összefüggést. Bár kétségtelenül az esetek többségében igaz, és az általunk vizsgált synapticus terminálok javarésznél is fennáll egy ilyen jellegű szabályosság, az a synaptizáló axonok valamely mélyebb, egyelőre ismeretlen fundamentalis sajátságának következménye lehet.

SANDBORN /1966/ feltételezése szerint a vesiculumok neurotubularis egységekből töredeznek le, amely neurotubulusok -amint azt számtalan felvétel bizonyítja- nem rendelkeznek mindenütt

azonos morfológiai tulajdonságokkal. Az, hogy az aldehydes fixálás helyenként az axonok funkcionális tulajdonságaival összefüggésbe hozható módon "árambolja fel" a tubulusokat, arra utal, hogy különböző tubulusformák más-más mediátor-anyagok lokalizációjára szolgálhatnak. Az viszont, hogy nem igazolható teljes mértékben a fentiekben taglalt strukturális-funkcionális korreláció, arra mutat, hogy ugyanaz a mediátor különböző tubularis egységekhez is kötődhet, azaz a különböző mediátorok lokalizációjának kérdését nem lehet csupán vesiculumforma alapján eldönteni.

Ennek ellenére az egyes synapsis-fajták vesiculumpopulációjának felmérése, a spheroid és ovoid vesiculumok aránya rendkívül hasznos segédeszközt jelent, mely előnyösen alkalmazható az egyes synapsis-fajták identifikálására.

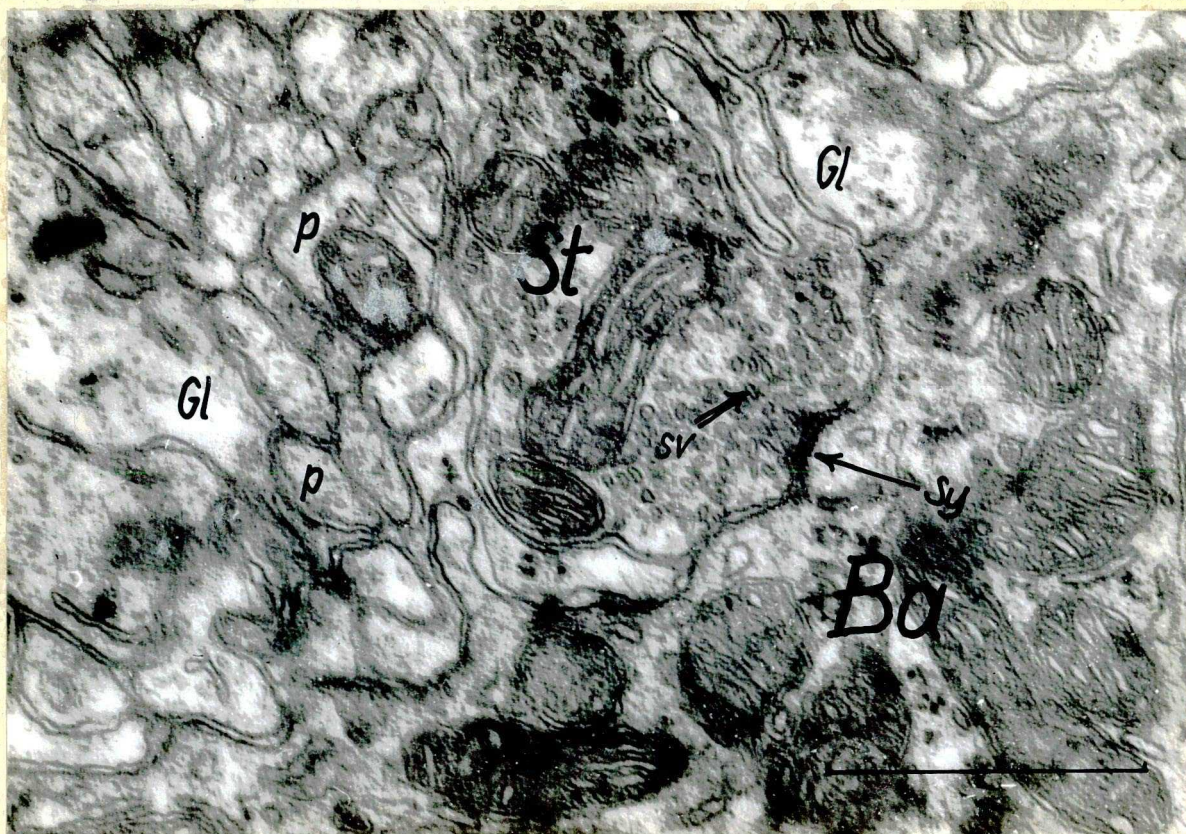
synapsis	ves.		ves.		Q	s
	sph.	s	ov.	s		
<u>Moharost</u> -szemcsesejt dendrit	90,5	28	4,6	1,15	19,6	4,54
Moharost-Golgi-sejt dendrit	-	-	-	-	-	-
<u>Golgi axon</u> -szemcsesejt dendrit	3,79	1,17	162	56,2	0,021	0,00363
<u>Kosáráxon</u> -Purkinje sejt	4,07	1,12	107,5	24,5	0,0042	0,000271
Küszórost-Golgi sejt	-	-	-	-	-	-
Küszórost-kosársejt	-	-	-	-	-	-
<u>Parallel rost</u> -Purk.dendrittüske	96,9	18,3	7,63	1,17	14,4	4,48
Parallel rost-kosárdendrittüske	-	-	-	-	-	-
Parallel rost-kosársejt dendrit	-	-	-	-	-	-
Parallel rost-csillagsejt dendrit	-	-	-	-	-	-
Purkinje dendriteken levő syn.:						
1. filamentaris /küszórost ?/	-	-	-	-	<1	-
2. nem-filamentaris /rekurrens Purk.ax.kollateralis?/						
a/ovoid	2,51	1,2	96,5	33,2	0,27	0,0126
b/sphericus	108	38,7	5,74	1,84	15,4	6,55
? <u>Csillagsejt axon</u> -kosársejt dendr.	3,98	2,38	92,8	27,2	0,042	0,0085

2.táblázat. Sphericus és ovoid vesiculumok megoszlása néhány synapticus terminálban. II. és IV. oszlop az $1 \mu m^2$ -on talált vesiculumok száma, III. és V. oszlop ezen értékek standard deviatiói; VI. és VII. oszlop a sphericus és ovoid vesiculumok aránya/Q/, és a Q-értékek standard deviatiói.

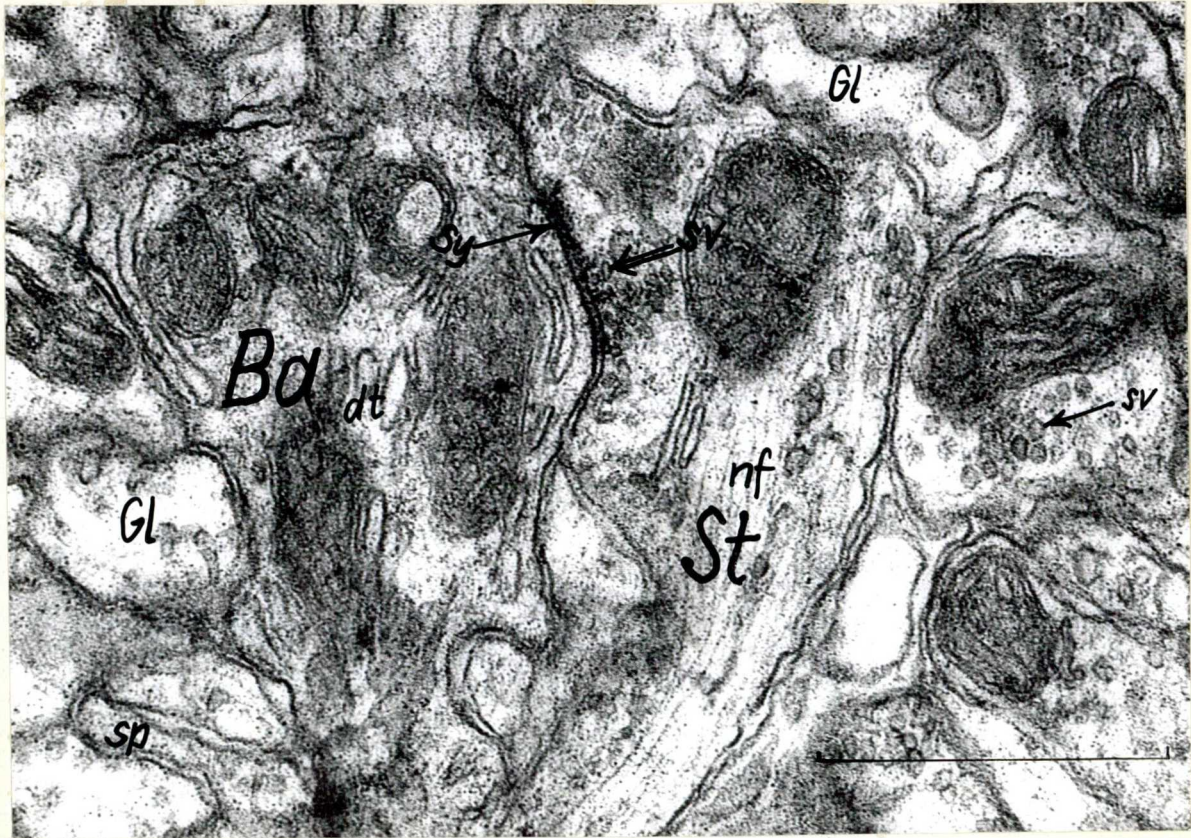
2. táblázatunkban feltüntettük az összes eddig kimutatott és

feltételezett cerebellaris synapsist, és ezek közül néhány jól identifikálható synapsis vonatkozásában mutatjuk be ezt az arányszámot /Q, specifikus quotiens/. A táblázatból kitűnik, hogy ezen az alapon a legtöbb esetben statisztikailag is szignifikáns módon jellemezhető egy-egy synapsis. A moharostvégződés, parallel axonok és a rekurrens Purkinje-axonok egyik része csaknem kizárólag sphericus vesiculumokat tartalmaz. Valószínű, hogy ez a Q-érték a valóságban még nagyobb, mert ha csak a vesiculum egyik szelete jutott a metszetbe, ill. torzult, könnyen vélhető ovoidnak. Ugyanakkor az ovoid vesiculumokat tartalmazó terminálok sokkal "tisztábbnak" bizonyultak; így a Golgi-axon, a kosáráxon terminálja, valamint a "gátló" jellegű Purkinje axon-kollateralisok jelzőszámai közel állnak a 0-hoz.

Nem adtuk meg számszerűen a kuszórostok synapticus termináljainak jelzőszámát; az azonban bizonyos, hogy 1-nél kisebb érték. Itt teszünk említést egy, a kosársejtek dendritjén talált, ovoid vesiculum-tartalma synapticus terminálról, amelynek jelzőszámát szintén közöljük, és véleményünk szerint külső csillagsejt axonvégződése lehet. 30. és 31. felvételünk szemlélteti ezt a kapcsolatot, ahol a praesynaptic elemben az ovoid vesiculumok dominálnak.



30.kép. Kosársejt-dendrit /Bd/ és csillagsejt-axon /St/ synapsisa
Sy-synapsis, sv-synapticus vesiculum, p-parallel rost, Gl-glia.



31. kép. Kosársejt-dendrit és csillagsejt-axon synapsisa.
Bd- kosársejt-dendrit, St- csillagsejt-axon, Sy- synapsis,
sv-synapticus vesiculum, dt-dendritikus tubulus, sp- dendrittüske,
Gl- glia, nf- neurofilamentum.

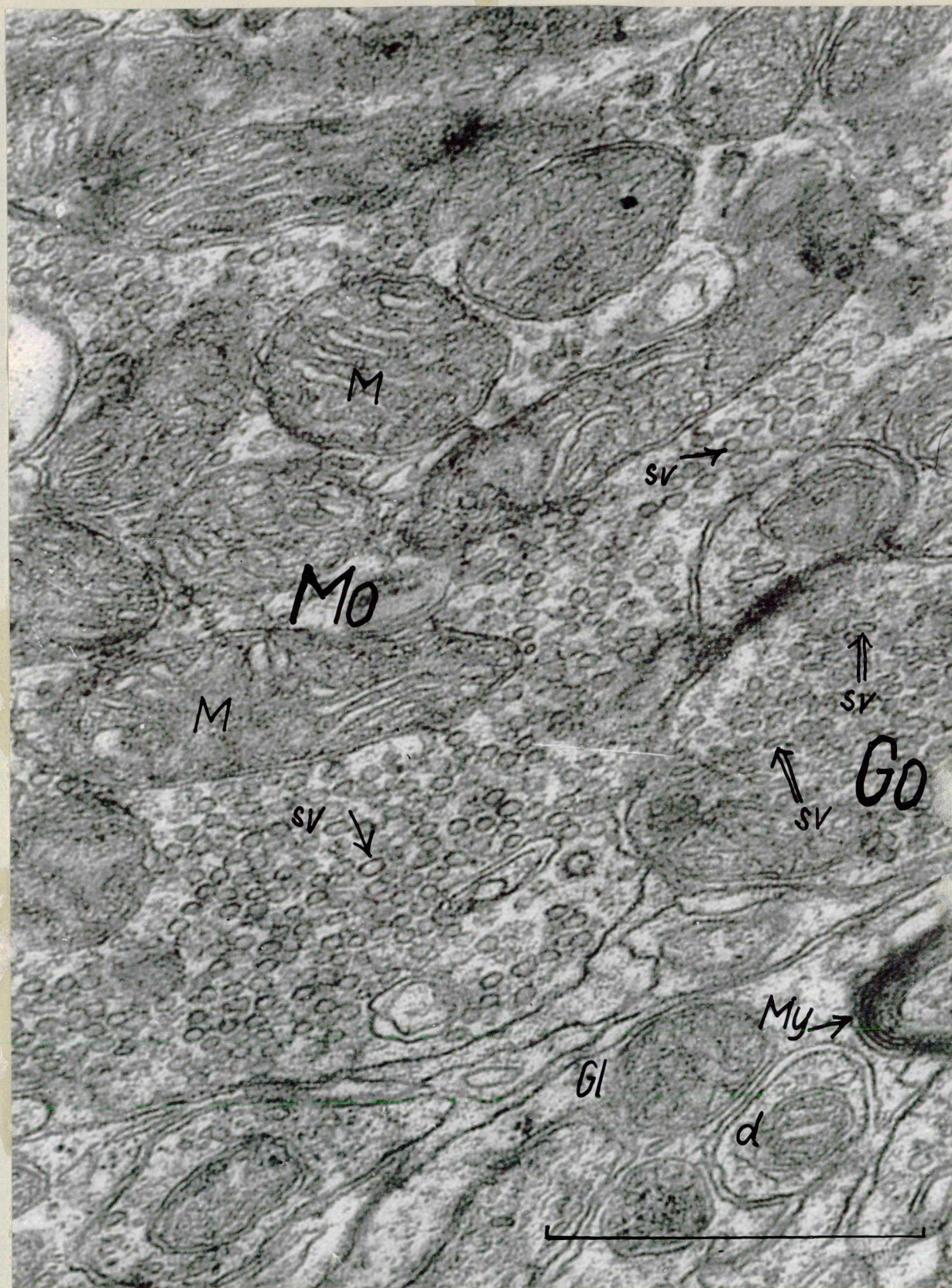
Hemicholiniumos és tiosemicarbazidos kezelés eredménye

kettős fixálás után

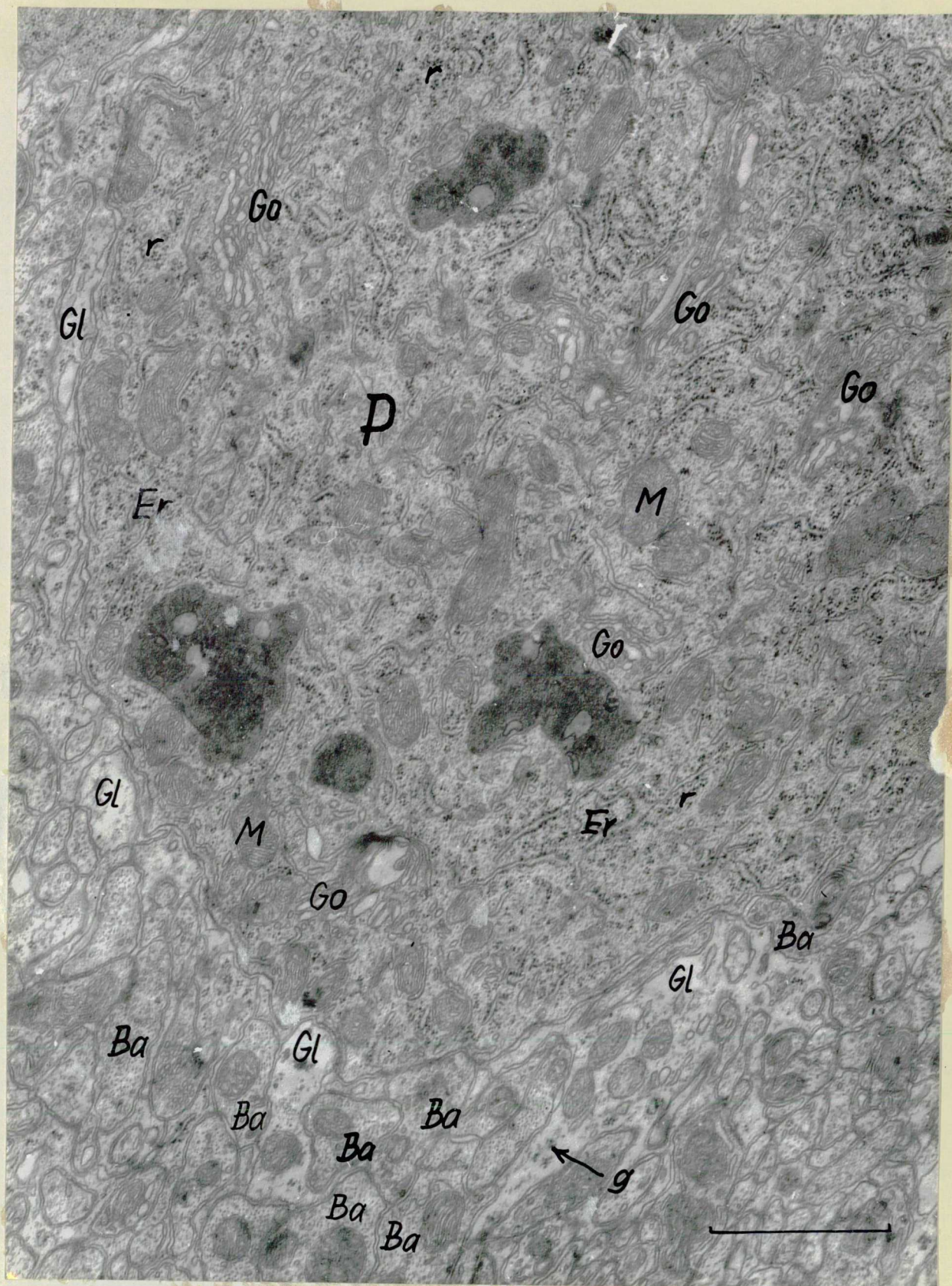
Vizsgálataink első részében a vesiculumok és a transmitter viszonyát az acetylcholin-szintézisnek hemicholiniummal /HC-3/ való gátlása alapján igyekeztünk meghatározni. OsO₄-os fixálást alkalmaztunk, amely nem eredményez morfológiai különbséget sphaeroid és ovoid /a feltételezetten ingerlő és gátló/ synapticus vesiculumok között. Felvetődik a kérdés, hogy a vesiculumokat differenciáló aldehyd-osmiumos rögzítés milyen képet ad HC-3 kezelés után a vesiculumok számáról. Ez a kérdés különösen az elektrofiziológiailag gátlónak meghatározott, és képeinken is ovoid vesiculumokat tartalmazó axonvégek esetében érdekes, mert újabb adatokat szolgáltatathat az Ach szerepére ezekben a synapticus terminálokban. Ugyanakkor felvethetjük a vesiculum és mediátor kapcsolatának kérdését ovoid vesiculum és a gátló transmitter szintézisének leállítására kapcsán.

Ami a HC-3 hatását illeti, 32.-37. sz. képeinken és 3. táblázatunkon szemléltetjük. 32. sz. felvételünk moharostot és Golgi-axonvégződést szemléltet. Mind a moharost sphericus vesiculum-állománya, mind pedig a Golgi-axon ovoid vesiculumai morfológiai károsodás nélkül viselték el a kezelést, eltűnésükről szó sincs. 33. képünk Purkinje-kosarat mutat be, 34. és 35. felvételünk a parallel axonokban megőrzött vesiculumokról számol be, 36. táblánkon pedig mindkét fajta Purkinje rekurrens-axonkollateralis ép vesiculumállománya látható. A kosársejt-dendriteken végződő, feltehetően csillagsejt-axon is tartalmaz synapticus zónájában vesiculumokat /37. kép/.

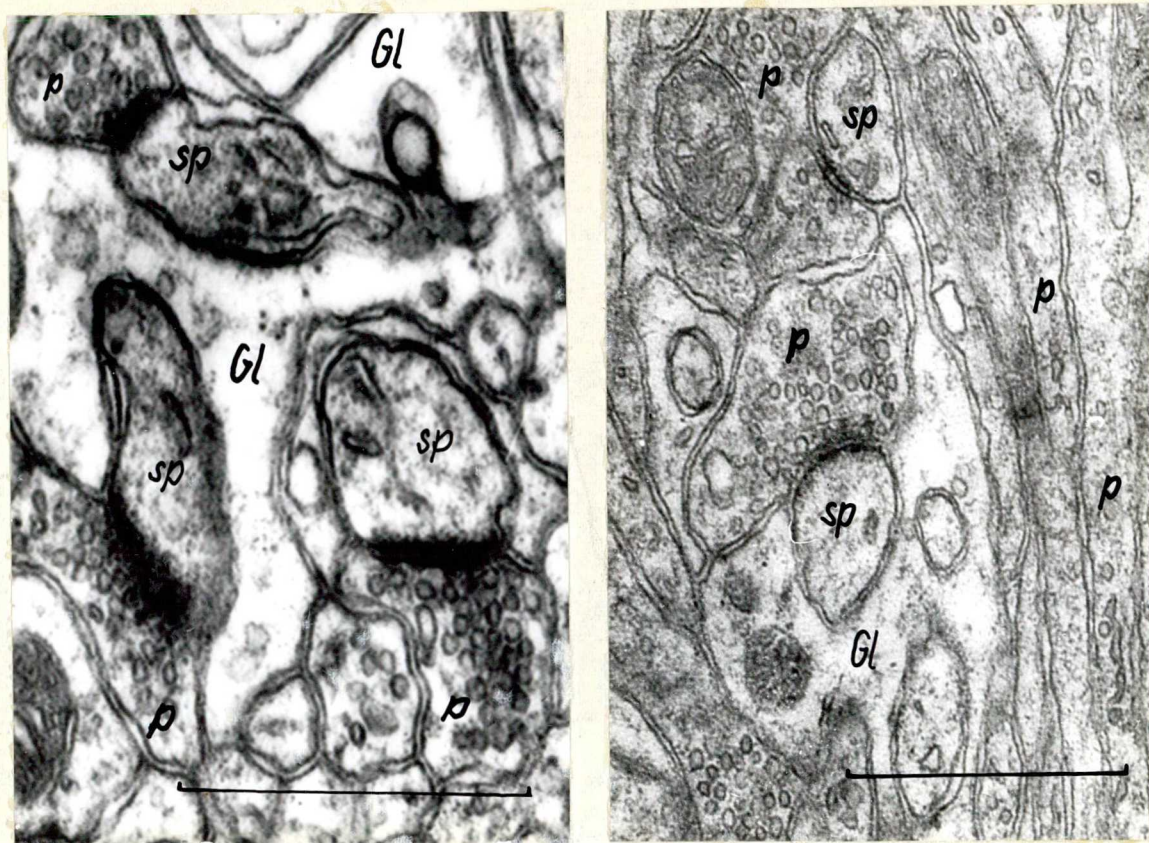
A vesiculumok számában HC-3 által okozott változást a 3. táblázat mutatja be. A táblázat tanúsága szerint az ovoid vesiculumok száma kissé erősebben csökkent, mint a kerek vesiculumoké. Ez csak a "sphericus jellegű" rekurrens Purkinje axon-kollaterálisok esetében feltűnő, különben a sphericus és ovoid vesiculumok számarányában nem következett be lényeges változás, a Q-értékek majdnem megegyeznek az emlékeztetőül ismét felvett kontrollanyag jelzőszámaival. A molekuláris rétegben nem számol-



32.kép. Glomerulus cerebellaris részlete. Mo- moharostvégződés, Go- Golgi-axon, sv- synapticus vesiculum, M- mitochondrium, Gl- glia, d- dendrit, My- myelin.



33.kép. Purkinje-kosár kis nagyítású képe. P- Purkinje-sejt, Ba- kosáraxon, Gl- glia, g- glycogen, Go- Golgi-apparátus, Er- endoplasmaticus reticulum, M- mitochondrium, r- ribosoma.



34-35.kép.Parallel rostok és Purkinje-dendrittüskék synapsisai.
p- parallel rost, sp- dendrittüske, Gl- glia.

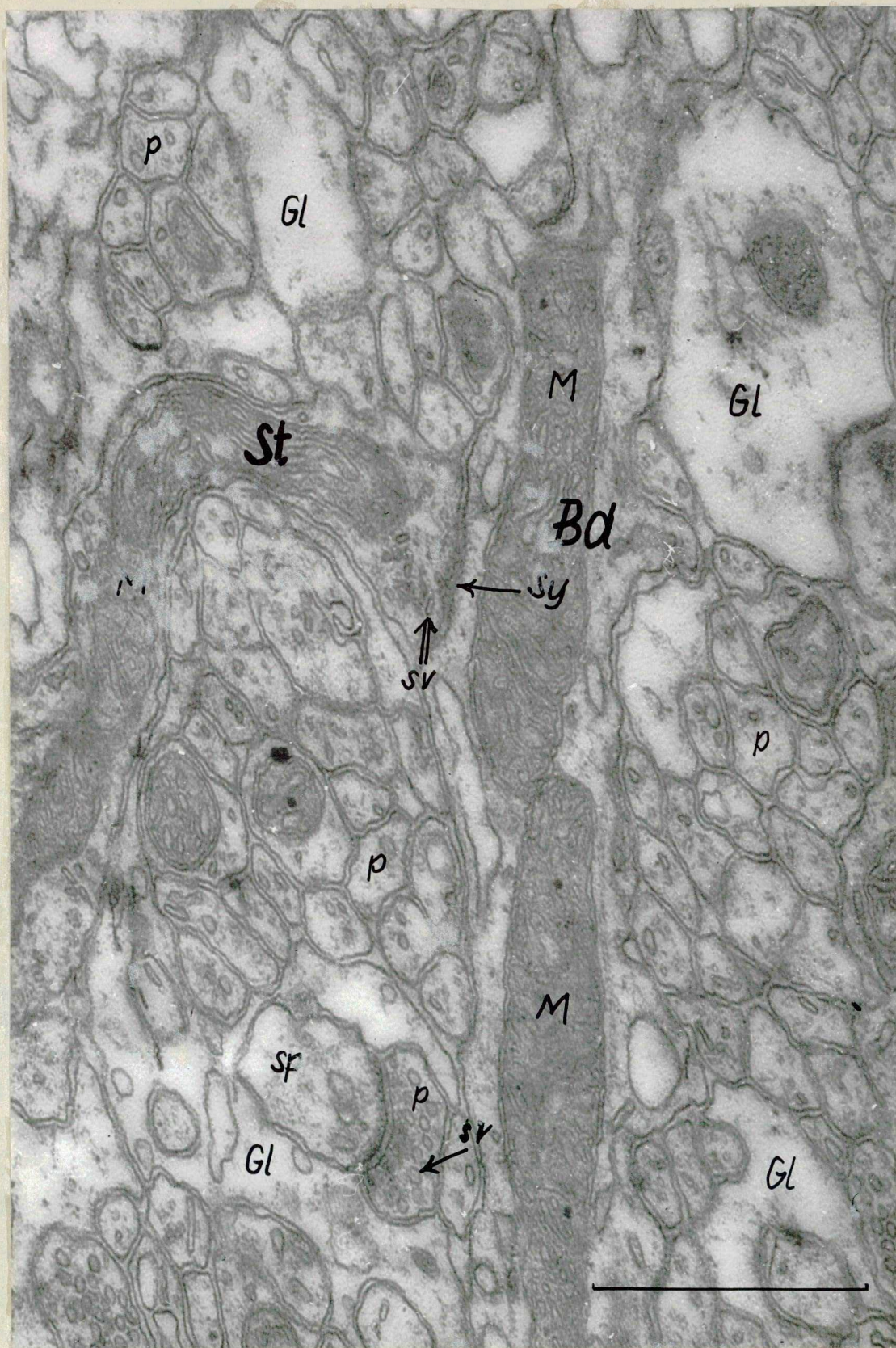
hatunk be figyelemreméltó változásról; sőt, esetenként a vesiculumok száma meghaladja a kontroll aldehydes anyagét. Más a helyzet a granuláris és ganglionaris rétegben. A moharostok vesiculumszáma szignifikánsan csökkent; ami pedig meglepő, az a két, ovoid vesiculumot tartalmazó és elektrofiziológiailag is gátlónak determinált axonvégződésben tapasztalható vesiculumszám-csökkenés. Ez vagy azt jelenti, hogy

1/ a HC-3 valamilyen módon beavatkozik a gátló transmitter szintézisébe; ami kevésbé valószínű, mert ezen beavatkozás a molekuláris rétegben /csillagsejt-axon, rekurrens Purk. axon-kollateralis/ alig érezteti hatását;

2/ vagy pedig egyes terminálok ovoid vesiculumainak nemcsak a gátló transmitter, hanem az Ach lokalizációjában is szerepe lehet. Ez utóbbi feltételezés látszik valószínűbbnek, amely egyrészt ismét ellenkezésbe kerül a feltételezett strukturális-funkcionális korrelációval, másrészt pedig az Ach praetransmitter-szerepére szolgáltat újabb adatot.



36.kép. Purkinje-dendrit /Pd/ és rekurrens kollateralisok /rPa/ synapsisai /Sy/. sv- synapticus vesiculum, Gl- glia.



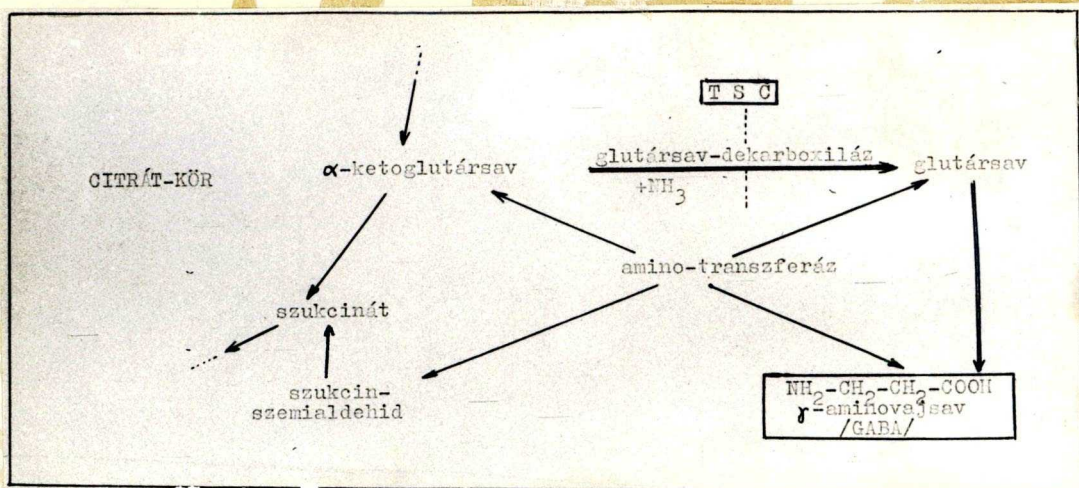
37.kép. Kosársejt-dendrit /Bd/ és csillagsejt-axon /St/ synap-
sisa /Sy/. p- parallel rost, sp- Purkinje dendrittüske, Gl -glia,
sv- synapticus vesiculum, M- mitochondrium.

axonterminal	ves. kontroll	s	ves. HC-3	s	HC-3 a kontr. %-ában	Q _{kontr.}	Q _{HC-3}
Moharost	95,0	28,7	71,6	16,5	75,5	19,6	21,9
Golgi-axon	166	58,7	89,2	45	53,7	0,021	0,024
Kosáráxon	107,8	25,3	67,7	20,7	62,8	0,0042	0,033
Parallel rost	102	20	123	26,3	120,6	14,4	16,7
Rekurrens Purk.ax. kollateralis 1/ ovoid jellegű	98,8	34	101,3	25,6	102,5	0,027	0,024
2/ spher. jellegű	113,0	41,2	94,6	24,9	83,7	15,4	31,2
?Csillagsejt axon	96,7	29,6	90,3	55	93,4	0,042	0,015

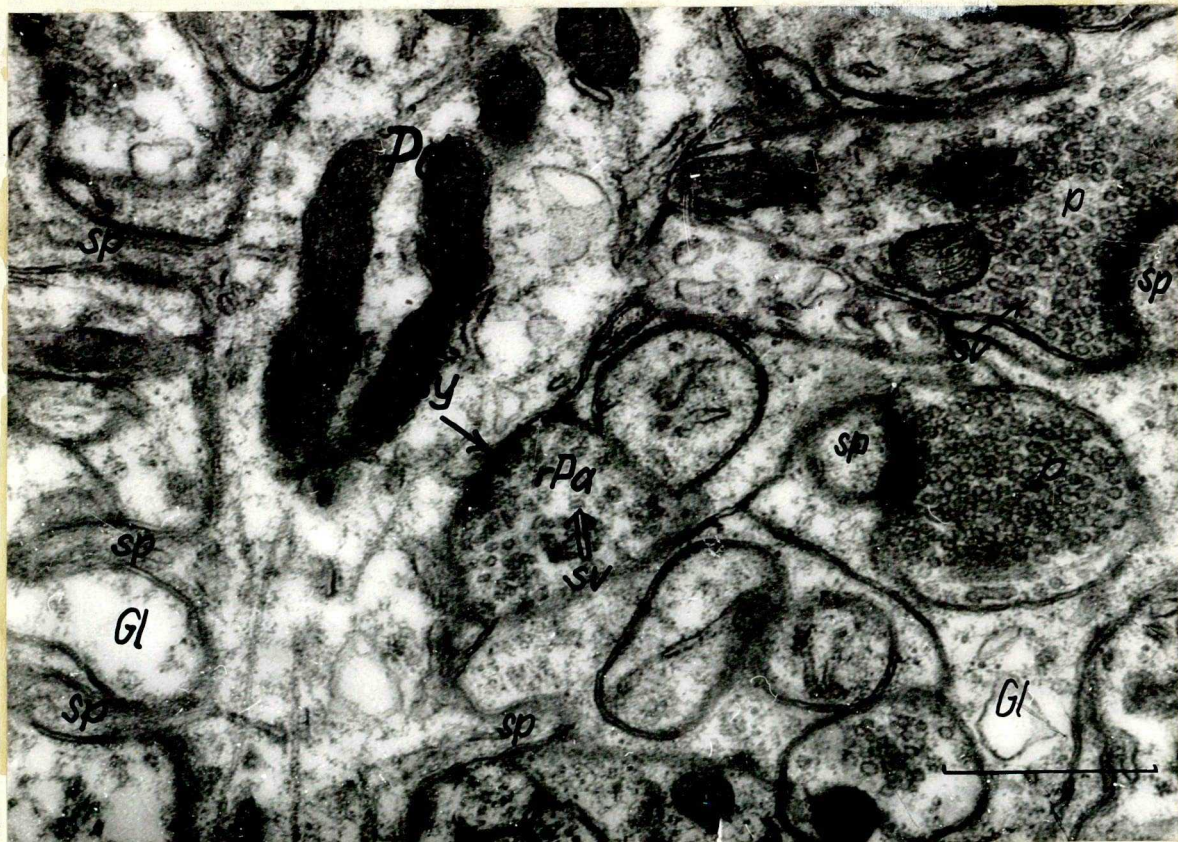
3. táblázat. HC-3 kezelés hatása a synapticus vesiculumokra kettős fixálás alkalmazásakor. A II. és III. oszlopban az 1 μm^2 -ra eső vesiculumszámot és standard deviatióit vettük fel, IV. oszlopban a kontroll és kezelt anyag értékeinek százalékos aránya. Az V. és VI. oszlopban a kontroll és kezelt anyag vesiculumainak specifikus quotiensei szerepelnek.

-A HC-3-nak a kerek vesiculumokra gyakorolt hatásával rokon kérdés a γ -aminovajsav/GABA/ szintézisének leállításakor bekövetkező állapot vizsgálata. Többféle gátlónak feltételezett transmitter ismeretes, de a GABA jelenléte a kisagykéregben igen valószínű. A Purkinje-sejtek rétegében pl. analitikai módszerekkel magas GABA-tartalom mutatható ki, a Purkinje-sejtekben pedig rendelkezésre áll a lebontó enzimrendszer is /CURTIS és WATKINS 1965/. A GABA szintézisét, valamint a szintézis inhibitorának, a tiosemicarbazidnak /TSC/ támadási helyét mutatjuk be vázlatosan a 7. ábrán.-Vizsgálati állatainkat 5 mg/kg tiosemicarbazid intraperitoneális befecskendezése után 30 perccel perfundáltuk, a továbbiakban pedig a már leírt módon rögzítettük. 38.képünk tanúsága szerint nem tűntek el az anyagból az ovoid vesiculumok.

Fenti vizsgálataink alapján levonható következtetéseink szerint -a HC-3kerek vesiculumokra gyakorolt hatásával analóg módon- az ovoid vesiculumokat sem gátló mediátorral töltött "tartályoknak tételezzük fel; azonosításuk gátló mediátor-



7.ábra. Vázlat: a γ -aminovajsav-szintézis utolsó lépései és a TSC támadási pontja.



38.kép. Ovoid vesiculum-tartalmu axonterminalis Purkinje-dendriten /Pd/. rPa- rekurrens axonkollateralis, Sy-synapsis, sp-dendrittüske, sv- synapticus vesiculum, Gl-glia, p-parallel rost.

kvantummal helytelen lenne. A következtetést természetesen nagyfokú tartózkodással kell kezelnünk, hiszen napjainkban még nem állnak rendelkezésünkre direkt vizsgálatok, melyek a kisagy GABA-tartalmának tiosemicarbazid hatására bekövetkező csökkenésére vonatkozóan analitikai adatokat szolgáltatnának.

T É Z I S E K

- 1/ Az UCHIZONO, BODIAN és mások által a sphericus vesiculumok és az ingerlés, valamint az ovoid vesiculumok és a gátlás között feltételezett strukturális-funkcionális korreláció nem általános érvényű törvényszerűség. Érvényességét alátámasztottuk a kisagyi moharostvégzződésben, a parallel axonterminálban, valamint a Golgi- és kosár-axonokban; nem tudjuk viszont bizonyítani a kuszórostok és a rekurrens Purkinje axon-kollateralisok példáján.
- 2/ A kétféle vesiculum megkülönböztetését ennek ellenére hasznosnak tartjuk, mert az egyes synapticus terminálisokban mérhető előfordulásuk konzekvens, számarányuk /Q/ viszonylag stabil, s így segítségükkel jellemezhetők a synapticus terminálok. Megadjuk a moharostvégzződés, a Golgi-axon, a Purkinje-kosár, a parallel axon, a rekurrens Purkinje axon-kollateralisok és a kosársejt-dendrit egyik ovoid vesiculumot tartalmazó synapticus termináljának specifikus quotienseit.
- 3/ A kisagyi HC-3 és TSC-kezelés tanúsága szerint a transmitter anyagokat nem a vesiculumok belsőjében lokalizálnak itéljük -spheroid és ovoid vesiculumok, ingerlő és gátló kémiai mediátorok vonatkozásában egyaránt. Tovább valószínűsítjük az Ach praetransmitter-szerepét.



Köszönetnyilvánítás

E helyen kívánok köszönetet mondani szakvezetőmnek, Dr. Csillik Bertalan egyetemi docensnek, aki a dolgozat tematikájában, a vizsgálatok elméleti és gyakorlati kérdéseinek megoldásában, valamint az eredmények értékelésében igen nagy segítséget nyújtott.

Köszönettel tartozom Dr. Knyihár Erzsébet, Dr. Joó Ferenc és Párdutz Árpád kollegáimnak, akik a munka különböző fázisaiban nyújtottak értékes segítséget.

Köszönöm Dr. Moldovay Frigyesnének a vizsgálatok nagyszámu fotokópiáinak szakszerű és gondos kidolgozását.

Végezetül köszönettel tartozom a MTA Biológiai Tudományok Osztályának, amely a JATE Elektron-mikroszkóp Laboratóriumában munkám anyagi, személyi és elvi támogatását biztosította.

Irodalomjegyzék

- ANDERSEN, P.-ECCLES, J.-VOORHOEVE, P.E. Inhibitory synapses on somas of Purkinje cells in the cerebellum
Nature 199, 655-656, 1963.
- BODIAN, D. Electron microscopy: Two major synaptic types of spinal motoneurons
Science 151, 1093-1094, 1966.
- BODIAN, D. Synaptic types on spinal motoneurons: An electron microscopic study
Bull. of the John Hopkins Hosp. 119, 16-45, 1966.
- CURTIS, D.R. and WATKINS, J.C. The pharmacology of amino acids related to gamma-aminobutyric acid
Pharm. Rev. 17, 347, 1965.
- CSILLIK, B. A synaptikus transmissio strukturális alapjai
Doktori értekezés, 1967.
- CSILLIK, B.-JOÓ, F. Cholinesterase, arylesterase and the structural basis of neurohumoral transmission in the central nervous system
Acta Biol. Hung. 16, 185-205, 1965.
- CSILLIK, B.-JOÓ, F. Effect of hemicholinium on the number of synaptic vesicles
Nature 213, 508-509, 1967.
- DeROBERTIS, E.D.P.-NOWINSKY, W.W.-SAEZ, F.A. Cell biology
Philadelphia and London
- ECCLES, J.C. The physiology of synapses
Springer-Verlag, Berlin, 1964.
- ECCLES, J.-LLINAS, R.-SASAKI, K. Excitation of cerebellar Purkinje cells by the climbing fibers
Nature 203, 245-246, 1964.
- FAWCETT, DON W. An atlas of fine structure: The cell
Philadelphia and London, 1966.
- FREZIK, J. Associative connections established by Purkinje axon collaterals between different parts of the cerebellar cortex
Acta Morph. Acad. Sci. Hung. XII. 1, 9-13, 1961.
- GARDINER, J.E. The inhibition of acetylcholine synthesis in brain by hemicholinium
J. Biochem. 83, 297-303, 1961.
- GRAY, E.G. A morphological basis for prae-synaptic inhibition?
Nature 193, 82-83, 1962.
- GRAY, E.G. The granule cells, mossy synapses and Purkinje spine synapses of the cerebellum: light and electron microscope observations
J. of Anatomy 95, 345-356, 1961.
- GRAY, E.G. Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: An electron microscope study
J. of Anatomy 93, 420-433, 1959.

- GRILLO, M.A.-PALAY, S.L. Granule-containing vesicles in the autonomic nervous system
Fifth Internat. Congress for Electron Microscopy, Philadelphia, 1962.
- HÁMORI, J. A kisagy synaptológiája
Kandidátusi értekezés, 1965.
- HÁMORI, J. Idegsejtek organelumai és idegvégződések
MTA Biol. Tud. Oszt. Közl. VIII. 63-68, 1965.
- HÁMORI, J.-SZENTÁGOTHAJ, J. The "crossing over" synapse: an electron microscope study of the molecular layer in the cerebellar cortex
Acta Biol. Acad. Sci. Hung. XV. 95-117, 1964.
- HÁMORI, J.-SZENTÁGOTHAJ, J. The Purkinje cell baskets: ultrastructure of an inhibitory synapse
Acta Biol. Acad. Sci. Hung. XV. 465-479, 1965.
- HEBB, C.O.-LING, G.M.-McGEER, E.G.-PERKINS, D. Effect of locally applied hemicholinium on the acetylcholine content of the caudate nucleus
Nature 204, 1309-1311, 1965.
- HERNDON, R.M. The fine structure of the rat cerebellum II.
J. Cell Biol. 23, 277-293, 1964.
- HOSEIN, E.A.-PROULX, P.-ROUSHAN ARA Substances with acetylcholine in normal rat brain
J. Biochem. 83, 341-346, 1962.
- JOÓ, F.-CSILLIK, B. Types of synapses in the cerebral and cerebellar cortex of the albino rat
Acta Biol. Univ. Szeged. XII. 119-127, 1966.
- /Kollektiva/ Modeli sztruktúrno-funkcionalnoj organizaciji nyekotorih biologicseszkih szisztem
Moszkva, 1966.
- KOVÁCH, A. /szerk./ A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei II. és V.
Budapest, 1954.
- KURTZ, S.M. Electron microscopic anatomy
/russian translation/
New York and London, 1964.
- MILLONIG, G. Further observations on a phosphate buffer for osmium solutions in fixation
Fifth Internat. Congress for Electron Microscopy, Philadelphia, 1962.
- PEASE, D.C. Histological techniques for electron microscopy
New York and London, 1964.
- REYNOLDS, E.S. The use of lead citrate at high pH as on electron-opaque stain in electron microscopy
J. Cell. Biol. 17, 208-212, 1963.
- SABATINI, D.D.-BENSCH, K.G.-BARNETT, R.J. New fixatives for cytological and cytochemical studies
Fifth Internat. Congress for Electron Microscopy, Philadelphia, 1962.

- STRAUB, F.B. Biokémia
Budapest, 1958.
- SZENTÁGOTHAI, J. Anatomical aspects of junctional transformation
XXII. Internat. Congress, Leiden, 1962.
- SZENTÁGOTHAI, J. A synapsis funkciós ultrastrukturája
MTA Biol. Tud. Oszt. Közl. VI. 45-73, 1963.
- SZENTÁGOTHAI, J. Complex synapses
Aus der Werkstatt der Anatomen 147-167,
Stuttgart, 1965.
- SZENTÁGOTHAI, J. Ujabb adatok a synapsis funkcionális
anatómiájához
MTA Biol. Tud. Oszt. Közl. VI. 217-227, 1963.
- UCHIZONO, K. Excitatory and inhibitory synapses in the
cat spinal cord
The Japanese J. of Phys. 16, 570-575, 1966.
- UCHIZONO, K. Characteristics of excitatory and inhibitory
synapses in the central nervous system
Nature 207, 642-643, 1965.
- UCHIZONO, K. Excitatory and inhibitory synapses in
vertebrate and invertebrate animals
Sixth Internat. Congress for Electron Microscopy,
Kyoto, 1966.
- UCHIZONO, K. Inhibitory synapses on the stretch receptor
neurone of the crayfish
Nature 214, 833-834, 1967.