

AZ EMLŐSÁGY TECTUM-EREDET? VIZUÁLIS RENDSZERE

Ph.D. Értekezés tézisei

Nagy Attila

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar,

Élettani Intézet

Szeged

2003

Bevezetés

A macskaagy anterior részén elhelyezkedő multimodális szenzoros terület létezése nem újdonság. Az ectosylvius vizuális rendszer kutatásának története az 1980-as évek elején indult, mikor a macskaagy sulcus ectosylvius anterior (AES) mentén leírtak egy új, addig ismeretlen vizuális területet, amit anterior ectosylvius vizuális areának (AEV) neveztek el. Később fölfedezték, hogy a kérgi vizuális rész kiterjed az AES teljes hosszában, magába foglalja annak rostrális részét is, az úgynevezett inzuláris vizuális areát (IVA). A macskaagyban működő, elkülönült genikuláris és extragenikuláris vizuális rendszer létrejöttét utalnak a morfológiai és élettani vizsgálatok eredményei. A corpus geniculatum laterale mellett még legalább 9 szubkortikális terület ismert, mely direkt retinális bemenetet kap. Ezek közül a colliculus superior, melynek középső és mély rétegében elhelyezkedő neuronok az extragenikuláris rendszer kiindulópontjai, az érdeklődés középpontjába került az elmúlt 20 évben.

Morfológiai kísérletek azt mutatják, hogy a tectumból kiinduló extragenikuláris vizuális pálya a talamusz laterális mediális-suprageniculatus komplexén (LM-Sg) keresztül jut az AES menti kéregrészekhez. Az AEV fő kérgi afferenciáját a laterális suprasylvius area posterior medialis részéből (PMLS) kapja. Az AEV felől érkező rostok főként a colliculus superiorba és a LM-Sg-be jutnak, de a PMLS area, az amygdala és más kortikális és szubkortikális vizuális areák a corpus geniculatum laterale és a primer vizuális kéreg kivételével is kapnak vizuális bemenetet az AEV felől. A kisagy nucleus fastigii magcsoportja és a hídi pedunculo pontin tegmental nucleus felől is érkeznek efferens rostok a LM-Sg ventrális részébe. Továbbá a LM-Sg ventrális részéből projekciós rostok indulnak a nucleus caudatus dorsolaterális részébe. Ez a felismerés irányította rá a figyelmünket a nucleus caudatusra, melynek közvetlen szerepe lehet a szenzomotoros integrációban.

A korai élettani vizsgálatok rámutattak, hogy az AEV idegsejtek különleges receptív mező tulajdonságokkal rendelkeznek. Nagyon hasonló vizuális receptív mező sajátosságokat találtak az IVA, LM-Sg és a colliculus superior középső és mély rétegeinek neuronjaiban. Így az említett agyterületek vizuális receptív mező tulajdonságait együtt tárgyalhatjuk. A neuronok mozgó ingerekre mutatnak optimális válaszkészséget, álló ingerekre egyáltalán nem vagy csak gyengén válaszolnak. A neuronok elsődlegesen nagyon kis méretű, nagy sebességgel, egy specifikus irányba mozgó ingerekre mutatnak optimális válaszkészséget. Habár az AEV neuronok vizuális receptív mező tulajdonságainak leírására széleskörű kutatások folytak és folynak, a vizuális receptív mezők kiterjedése és az AEV retinotopikus szerveződése ma is vita tárgyát képezi. Egy érdekes tulajdonsága a tecto-thalamo-kortikális vizuális rendszernek a más szenzoros modalitásokra való érzékenység. Auditorikus, szomatoszenzoros, bimodális illetve trimodális sejteket is leírtak az extragenikuláris vizuális rendszerben.

Mіндеzen ismeretek ellenére az AEV és az extragenikuláris vizuális rendszer funkcionális szerepe nem tisztázott. Egyes vélemények szerint a szemmozgások koordinálásában játszik szerepet. Mások a vizuális környezet az állat testéhez viszonyított relatív elmozdulásának érzékelésében játszott szerepére utalnak. Azonban az AEV és az extragenikuláris vizuális rendszer pontos szerepének feltárása még várat magára.

Célkitzések

Kísérleteink alapvető célja az volt, hogy leírjuk a vizuális receptív mező tulajdonságait az AEV neuronoknak, és kiterjesszük a colliculus superiorból kiinduló extragenikuláris tecto-thalamo-kortikális vizuális rendszert a nucleus caudatusra is. A konkrét célok az alábbiak voltak:

1. Objektív módszerekkel megvizsgálni és leírni az AEV-ben levő vizuális, auditorikus és bimodális idegsejtek receptív mező kiterjedését.
2. Megvizsgálni az AEV neuronok multiszenzoros információkódolási képességét.
3. Vizuális neuronokat regisztrálni a macskaagy nucleus caudatusában.
4. Leírni a nucleus caudatusban található vizuális sejtek vizuális receptív mező tulajdonságait, és azokat összehasonlítani más kortikális és szubkortikális vizuális terület receptív mező tulajdonságaival, hogy feltárjuk a nucleus caudatus vizuális részének szerepét a vizuális információ feldolgozásban.
5. Leírni az AEV neuronok spaciális és temporális vizuális tulajdonságait, hogy jobban megértjük az AEV funkcionális szerepét.

Anyagok és Módszerek

Extracelluláris egysejt elvezetésekét végeztünk az AEV-ből és a nucleus caudatusból altatott, immobilizált, mesterségesen lélegeztetett házimacskákon. Mozdó fényingerre mutatott neuronális aktivitásokat regisztráltunk mozgó fényingerléssel. Az idegsejtek aktivitását peristimulus id² hisztogramokon (PSTH) tároltuk a későbbi statisztikai analízis céljából. A nettó tüzelési válaszokat úgy kaptuk meg, hogy a prestimulus id²intervallum és a peristimulus id²intervallum akciós potenciál szám különbségét számítottuk ki. A nettó tüzelési rátát akkor tekintettük válasznak, ha szignifikáns különbséget találtunk a két akciós potenciál szám között. Vertikális penetrációkban regisztráltuk a Horsley-Clarke anterior 12-17 és laterál 4-6,5 között, 12-19 mélységben a nucleus caudatus neuronokat és anterior 10-14 és laterál 12-14 között, 13-17 mélységben az AEV neuronokat.

Ingerlés és adatfeldolgozás a vizuális, auditorikus és bimodális receptív mezők kiterjedésének vizsgálatához

Auditorikus ingerként 12 hangszóróból jövő széles frekvenciás hangingert (white noise, 40 dB) alkalmaztunk. A hangszórókat a 165°-os periméteren 15°-os távolságokra helyeztük el egymástól az interaurális síkban. A stimulus id²tartama 1s volt. Vizuális stimulusként 12 fénykibocsátó diódapárt alkalmaztunk, melyek a hangszórókhöz hasonlóan voltak elhelyezve a 165°-os periméteren. Az első dióda fénykibocsátása 120 ms-ig tartott, amit azonnal követett a második dióda felvillanása, ami 320 ms-ig tartott. A számítógép által kontrollált stimulusokat pseudo-random sorrendben alkalmaztuk, külön (unimodális ingerlés) illetve együttesen (bimodális ingerlés). A prestimulus és a peristimulus id² egyaránt 500 ms volt. A stimulusok közötti szünet 1s volt. Minden egyes kondícióban legalább 10 ismétlést alkalmaztunk.

A vizuális, auditorikus és bimodális receptív mezők kiterjedésének vizsgálatára bevezettünk egy quasi-objektív, számítógép kontrollált módszert. A receptív mezők kiterjedését vizsgálva, a horizontális síkban 15 fokként elhelyezett ingerlési helyekről származó ingerekre adott neuronális válaszokat néztük t-próbával. A receptív mezők kiterjedését úgy definiáltuk, hogy az az összefüggő tartomány fokokban, ahonnan a stimulálás szignifikáns választ váltott ki. Ha az összesített bimodális nettó tüzelési ráta variancia analízis (ANOVA) vizsgálattal szignifikánsan nagyobb volt ($p < 0,05$), mint a leghatékonyabb unimodális nettó tüzelési ráta, akkor a modalitások között serkentő interakciók vannak. A serkentő bimodális interakciókat 15 fokként t-próbával vizsgáltuk. Kiterjedését úgy definiáltuk, hogy az az összefüggő tartomány, ahol szignifikáns, modalitások közötti serkentő kölcsönhatást találtunk.

Ingerlés és adatfeldolgozás a nucleus caudatus vizuális receptív mezők tulajdonságainak leírásához

Vizuális stimulusként 1° átmérőjű fényfoltot illetve 1° széles 4 különböző hosszúságú (1, 3, 5, 10°) fénysávot alkalmaztunk. A stimulusokat egy számítógép által kontrollált mozgó tükörrendszerrel mozgattuk 8 különböző irányban (0-315°, 45°-os lépésekben), 4 különböző sebességgel (15, 30, 60, 120 °/s). A prestimulus és peristimulus id² egyaránt 1s volt. Minden egyes kondícióban legalább 15 ismétlést futtattunk. A stimulusok közötti id²tartam 1s volt.

A sejtek irányérzékenységét az irányselektivitási indexek (DI) számításával adtuk meg. $DI = 100 \times (R_p - R_{np}) / R_p$ ahol R_p és R_{np} a sejt nettó tüzelési rátája a preferált illetve az azzal ellentétes irányba történő stimulusmozgásra.

Vizuális ingerlés és adatfeldolgozás az AEV neuronok spatiotemporális tulajdonságainak meghatározásához

Ingerként fényességében szinuszoidálisan modulált rácsmintázatot alkalmaztunk, melyet mintázata merőlegesen csúsztattunk. A stimulus 22,5 cm átmérőjű volt, amit a macska 30° alatt látott, és egy, a macska szemétől 42,9 cm-re elhelyezett monitoron jelent meg. A stimulusokat pseudo-random sorrendben, minden egyes kondícióban legalább 12 ismétlés alkalmazásával mutattuk be. A kontraszt állandóan 50%-os volt. A prestimulus id² és a peristimulus id² egyaránt 500 ms volt. A stimulusok közötti id²tartam 1s volt. A szinuszoidálisan modulált rácsmintázatot 8 különböző irányban (0-315° 45°-os lépésekben) mozgattuk, hogy meghatározzuk az egyes neuronok iránypreferenciáját. Irányselektivitási indexeket a nucleus caudatus kísérleteknél megadottak szerint számítottuk. A spaciális hangolás vizsgálatokor különböző spaciális frekvenciákat mozgattunk a neuron által preferált irányba. A spaciális frekvenciákat 0,05 és 0,54 ciklus/fok (c/deg) között változtattuk 8 lépcsőben. A temporális hangolás vizsgálatokor, a rácsmintázatot a neuron által preferált irányban, optimális spaciális frekvenciával mozgattuk. A temporális frekvenciákat 0,6 és 9,6 Hz között változtattuk 8 lépcsőben.

Szövetteni kontroll

A kísérletek végén az állatokat pentobarbitallal túlaltattuk majd transzkardiálisan perfundáltuk, először 0,9%-os sóoldattal 0,1 M-os foszfátpufferben, majd 4%-os paraformaldehiddel. Az agyakat eltávolítottuk. Fagyasztásban 50 µm vastag koronális szekciókat vágunk az agyból, a szeleteket tárgylemezre vittük fel, majd levegőn megszárítottuk. A szekciókat neutralvörössel festettük meg. Az összes regisztrált neuron az AEV-ben illetve a nucleus caudatusban volt.

Eredmények és megbeszélésük

Az AEV neuronok receptív mezőjének kiterjedése

A vizuális receptív mezők átlagos kiterjedése a horizontális síkban $75,8^\circ$ volt ($N=59$; $SD: \pm 28,6^\circ$; tartomány: $15-135^\circ$). Habár csak 4 sejt esetében találtunk a teljes, 135° -ra kiterjedő (jobb szem vizuális látómezeje) vizuális receptív mezőt, a sejtek döntő többsége még a látótér perifériás részében levő stimulusokra is erőteljes válaszkésztséget mutatott. A különböző sejtek a tér különböző részeiből származó vizuális ingerekre reagáltak maximálisan. A vizuális látómező nem tartalmaz egy kitüntetett részt, ahonnan jövő ingerekre a neuronok nagy többsége maximális válaszkésztséget mutatna. Gyakorlatilag az összes vizsgált ingerlési hely maximális válaszokat váltott ki bizonyos sejtekben, míg más neuronok más helyekre voltak maximálisan érzékenyek. Az auditorikus receptív mezők átlagos kiterjedése a vizsgált 165° -os periméteren a horizontális síkban $132,5^\circ$ volt ($N=60$; $SD: \pm 46,7^\circ$; tartomány: $15-165^\circ$). Az auditorikus sejtek több mint felének receptív mezeje a teljes 165° -os vizsgált areára kiterjedt. A különböző auditorikus neuronok a tér különböző helyeiről jövő stimulusokra mutattak maximális válaszkésztséget. A bimodális receptív mezők átlagos kiterjedése a horizontális síkban $82,1^\circ$ volt ($N=31$; $SD: \pm 22,2^\circ$; tartomány: $30-135^\circ$). A különböző bimodális sejtek, hasonlóan a vizuális illetve auditorikus sejtekhez, a tér különböző helyeiről jövő bimodális stimulusokra mutattak maximális válaszkésztséget. Megvizsgáltuk részletesebben azon 21 neuron receptív mező tulajdonságait, melyek szignifikáns, modalitások közötti serkentő interakciókat mutattak. A serkentő interakciók átlagos kiterjedése $75,7^\circ$ volt ($N=21$; $SD: \pm 24,6^\circ$; tartomány: $45-135^\circ$). Nem tudunk szignifikáns összefüggést kimutatni a serkentő interakciók erőssége és az ingerlés helye között.

A nucleus caudatus neuronok vizuális receptív mező tulajdonságai

Vizuálisan reszponzív neuronokat a nucleus caudatus dorsolaterális részében tudunk regisztrálni. A regisztrált neuronok döntő többsége a Horsley-Clark szerinti anterior 12-13 és laterális 4-6,5 koordináták között helyezkedik el, de néhány vizuális neuront anterior 14 és 15-ben is tudunk regisztrálni. Nem találtunk vizuális aktivitást a nucleus caudatus ennél anteriorabb részeiben. A vizuális neuronok adott sebességgel (30 %s vagy annál nagyobb) mozgó ingerekre mutattak optimális válaszkésztséget. Álló vagy felvillanó ingerekre csak csekély válaszkésztséget tapasztaltunk. A vizuális receptív mezők extrém nagyok, lefedik a kontralaterális szem teljes látóterét. A receptív mezők következetesen magukba foglalják az area centralist. Semminemű retinotópiára utaló jelet nem találtunk. A neuronok nagy része szűken hangolt a stimulus irányára és erőteljesen irány szelektív. A nucleus caudatus neuronok egy kisebb populációja azonban szélesen hangolt és nem érzékeny a stimulusok irányára. A nucleus caudatus neuronok elsősorban a kis méretű, közepes vagy nagy sebességgel mozgó ingerekre mutatnak optimális válaszkésztséget. A nucleus caudatus neuronok vizuális receptív mező tulajdonságai komoly hasonlóságot mutatnak az extragenikuláris tecto-thalamo-kortikális vizuális rendszer vizuális receptív mező tulajdonságaival, és alapvetően különböznek a genikulo-striatális vizuális rendszerétől.

Az AEV neuronok spaciális és temporális vizuális tulajdonságai

Az AEV neuronok erősen szelektívek a rácsminta mozgásának irányára. A neuronok döntő többsége úgynevezett „band-pass” spaciális hangolási karakterisztikát mutatott (69/75; 92,0%). A maradék 6 neuron (8,0%) úgynevezett

„low-pass” speciális hangolási karakterisztikát mutatott. Az AEV neuronok az alacsony térbeli frekvenciákat kedvelik. A optimális speciális frekvencia 0,13-0,47 c/deg között mozgott (N=75; átlag=0,20 c/deg; SD: ±0,08 c/deg). Az AEV neuronok nagy része keskeny sávú speciális hangolást mutatott. Az átlagos speciális sáv szélesség 1,4 oktávnak adódott (N=34; SD: ±0,7 oktáv; tartomány: 0,3-3,0 oktáv). Három féle temporális frekvencia hangolást mutattak az AEV sejtek: „high-pass” (23/75), „band-pass” (50/75) and „low-pass” (2/75). Az AEV neuronok magas temporális frekvenciákra mutattak optimálisan válaszkészséget (N=75; átlag=6,3 Hz, SD: ±2,3 Hz; tartomány: 0,6-10,8 Hz). Az AEV neuronok jelentős része nagyon keskeny temporális hangolást mutatott. Az átlagos temporális sáv szélesség 1,1 oktávnak adódott (N=46; SD: ±0,5 oktáv; tartomány: 0,2-3,5 oktáv). Az AEV neuronok a legkeskenyebb temporális hangolást mutató idegsejtjei a macskaagy vizuális struktúráinak. A keskeny speciális és temporális hangolás arra utal, hogy az AEV neuronok hatékony speciális illetve temporális szűrőként működnek.

Összefoglalás és konklúziók

Az AES mentén elhelyezkedő kéregterület vizuális, auditorikus és bimodális neuronjainak receptív mezője extrém nagy. Az egyes neuronok, amelyek számukra megfelelő szenzoros modalitású ingert kapnak, képesek információt feldolgozni a neuron által fizikailag elérhető teljes szenzoros térben. A különböző neuronok a szenzoros tér különböző helyein lévő ingerekre mutatnak maximális válaszkészséget. A vizuális sejtek organizációjában retinotópiára utaló jelet nem találtunk. A hagyományos topografikus kód hiánya fölveti egy másik térbeli kód lehetőségét az extragenikuláris vizuális rendszeren belül. A megfigyeléseink egy megosztásos populációs kód jelenlétére utalnak a vizuális az auditorikus és bimodális ingerforrás lokalizációjában az extragenikuláris vizuális rendszeren belül.

Eredményeink azt mutatják, hogy a nucleus caudatus neuronok különleges receptív mező tulajdonságokkal rendelkeznek, melyek komoly hasonlóságot mutatnak a colliculus superior, a LM-Sg, az AEV és az IVA neuronok vizuális receptív mező tulajdonságaival. Így a korábban leírt extragenikuláris tecto-thalamo-kortikális vizuális rendszer kiterjed a nucleus caudatus irányába, amely a vizuális afferenciáját a colliculus superiorból kapja, a vizuális thalamus LM-Sg komplexén keresztül.

Az extragenikuláris vizuális rendszer neuronjai a mozgó vizuális ingerekre mutatnak optimális válaszkészséget. Álló illetve felvillanó fényingerre a válaszkészségük sokkal alacsonyabb. Az AEV neuronok úgynevezett újdonság érzékelőként funkcionálnak. Az eredményeink, melyek az AEV neuronok spatiotemporális karakterisztikáját írják le, elvetítik az extragenikuláris vizuális rendszer egy speciális funkcióját. A keskeny térbeli és időbeli hangolás lehetővé teszi a sebesség érzékelését és az objektumok analizálását mozgás közben. Az extragenikuláris vizuális rendszer kapcsolatban lehet az optikai áramlás (optic-flow) érzékeléssel és feldolgozással, és egy speciális feladata lehet a saját mozgás érzékelésében. Eredményeink alapján azt feltételezzük, hogy az extragenikuláris vizuális rendszer a vizuális környezetnek az állat testéhez viszonyított relatív elmozdulását érzékeli, és így kulcsszerepet tölthet be a motoros viselkedés szabályozásában.

Összefoglalva, az eredményeink új adatokat szolgáltatnak a multimodális szenzoros világ agykérgi reprezentációjáról, kiterjesztik az extragenikuláris vizuális rendszert a nucleus caudatusra, és segítenek pontosítani az emlősagyban levő extragenikuláris vizuális rendszer funkcionális szerepét.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani mindazoknak, akikkel eddigi pályám során volt szerencsém megismerkedni, és akik támogató segítségével nélkül ez az értekezés nem készülhetett volna el.

Megkülönböztetett köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Benedek György tanszékvezető egyetemi tanárnak, aki 2001-től felvett az Élettani Intézetbe, és mindvégig szakmai és emberi oldalról egyengette a pályámat. Külön köszönöm a tézisek alapjául szolgáló közlemények elkészítésében nyújtott segítségét.

Hálás köszönettel tartozom feleségemnek, Eördegh Gabriellának, aki egyben kollégámnak is, a közös kutatásainkban nyújtott segítségével és a biztos családi háttér megteremtéséért.

Tisztelettel köszönöm Dósa Gabriellának a mindig aranyat érő technikai asszisztenciát és a közlemények illusztrációinak elkészítésében nyújtott tökéletes munkáját.

Köszönöm Liszli Péter informatikai téren nyújtott pótolhatatlan segítségét.

Külön köszönettel tartozom TDK hallgatóinknak, Márkus Zitának, Roxin Alízának és Berényi Antalnak az éjszakákba nyúló közös kísérleti munkában való részvételért és az adatok gyűjtésében nyújtott segítségért.

Köszönöm közvetlen kollégáim, Dr. Chadaide Zoltán, Köteles Károly, Dr. Sály Gyula és Tompa Tamás hasznos segítségét és baráti támogatását.

Szeretnék köszönetet mondani az Élettani Intézet valamennyi dolgozójának az évek alatt nyújtott segítségért.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm a családom türelmét, szeretetét és segít? támogatását.

A kísérleti munkánkat anyagilag az OTKA/Hungary 29817, T42610 grantok és az FKFP/Hungary 0455/2000 grant támogatta. Köszönet érte.

A t?z?s alapját képez? közlemények jegyzéke

I. Benedek G, Norita M, Hoshino K, Katoh YY, Eördegh G, **Nagy A** (2003) Extrageniculate visual pathways in the feline brain. In: Dumitrascu DL (editor) Psychosomatic Medicine; Recent progress and current trends. "Tuliu Hatieganu" University Publishing House, Cluj, Romania, pp 33-40. ISBN: 973-8385-62-8

II. **Nagy A**, Eördegh G, Benedek G (2003) Spatial and temporal visual properties of single neurons in the feline anterior ectosylvian visual area. *Exp Brain Res* 151:108-114

III. **Nagy A**, Eördegh G, Masao N, Benedek G (2003) Visual receptive field properties of neurons in the feline caudate nucleus. *Eur J Neurosci* 18:449-452

IV. **Nagy A**, Eördegh G, Benedek G (2003) Extents of visual auditory and bimodal receptive fields of single neurons in the feline visual associative cortex. *Acta Phys Hung* (In press)

Más közlemények

I. Hoshino K, **Nagy A**, Eördegh G, Benedek G, Norita M (2003) A single pedunculo-pontin tegmental neuron projects to both the lateralis-medialis-suprageniculate nucleus and the superior colliculus: a retrograde fluorescent double-labeling study. *Exp Brain Res* (in press)

II. Waleszczyk WJ, **Nagy A**, Eördegh G, Wypych M, Benedek G. (2003) Spatiotemporal frequency response profiles of single neurons in the cat's superior colliculus. *Acta Neurobiol Exp* 63:255 (P.6.6)

A t?z?sek alapját képez? közlemények kumulatív impakt faktora (ISI 2002): 6,575

Összes kumulatív impakt faktor (ISI 2002): 8,875

Kontralaterális

Kontralaterális