

József Attila Tudományegyetem

Állatélettani Tanszék

A KIVÁLTOTT ÉS POSZTSZINAPTIKUS POTENCIÁLOK
FREKVENCIAFÜGGÉSE MACSKA SZOMATOSZENZOROS
KÉRGÉN

Egyetemi doktori értekezés

Irta: Pór István

Szeged

1974



I. BEVEZETÉS

A kiváltott potenciálok a primer érző kéregterületeken regisztrálható, jellegzetes alaku elektrográfias hullámok, melyek egyszerű, rendszerint kísérleti körülmények között alkalmazott ingerek hatására jönnek létre.

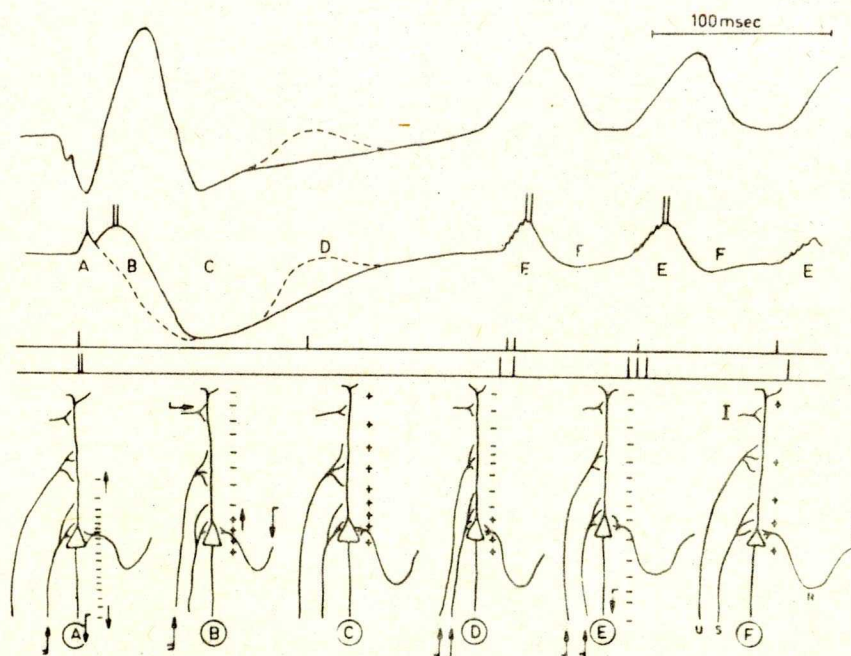
A kiváltott potenciálok analízise az elemi és a bonyolultabb központi idegrendszeri jelenségek vizsgálatában egyaránt az idegélettan egyik fontos elektrofiziológiai módszere. Ezzel a módszerrel sikerült többek között felderíteni az agykéreg első- és másodlagos érző, mozgató és asszociációs areáinak pontos lokalizációját. A kiváltott potenciálok módszere nélkülözhetlen a központi idegrendszerben lévő neuronális kapcsolatok anatómiai és funkcionális viszonyainak megismeréséhez.

A kiváltott potenciálok az agykéreg felszínéről regisztrálva perifériás idegi vagy agytörzsi ingerlésre egy rövid pozitív hullámmal kezdődnek, amelyet általában egy lassabb lefutású negatív hullám követ. Az ezt követő komplex hullámforma már nem képezte vizsgálataim tárgyát, így erre nem térek ki. A felszíni válasz előbb említett klasszikus pozitív-negatív komponensének a kéreg mélyebb /III-V./ rétegeiből regisztrált negatív-pozitív válasz felel meg, amelynek időviszonyai megegyeznek a felszíni potenciáléval. Ez az előjel-változás 700-800 μ mélységben következik be /Li és munkatársai 1956/.

A kiváltott potenciálok keletkezési mechanizmusára nézve ma a legelterjedtebb felfogás az, hogy a III-IV.kér-gi rétegben végződő thalamokortikális rostokon érkező afferens ingerek e rétegek neuronjai posztszinaptikus potenciálokat keltenek és ezek összegződése adja a tér- /"field"/ potenciál formájában megjelenő kiváltott potenciált. Ezeknek a vertikálisan orientált neuronoknak a depolarizációja mint negatív hullám jelenik meg, amely a neuron távolabbi része /a felszín alatti stratum plexiformében elágazó apikális dendrit/ felé haladva repolarizációt, illetve a pozitív hullám megjelenését idézi elő. A kéreg felszínén ugyanakkor a Lloyd /cit. Fehér 1972/ által leírt térfogati vezető elméletét igazolva pozitív-negatív szekvencia regisztrálható. További, elsősorban farmakológiai vizsgálatok azonban azt mutatták, hogy a felszíni negativitás kiváltója nem lehet egyszerűen az apikális dendriteken történő antidrom terjedés. Amassian /cit. Fehér 1972/ szerint poliszinaptikus mechanizmusról van szó, amelyben a thalamokortikális afferens rostok kollaterálisai interneuronokat hoznak ingerületbe, melyek impulzusaikat az apikális dendritek egyre magasabban levő szakaszainak adják át. Ezt alátámasztja a negativitás kéregfelszín felé történő lassu terjedési sebessége is.

Creutzfeldt és munkatársainak /1966 a és b/ kísérletei, amelyekben macska mozgatókérgéről vezettek el intracellulárisan, alátámasztják ezt az elméletet. A felszíni negativitással párhuzamosan ugyanis másodlagos EPSP-ket regisztr-

ráltak a kérgi neuronokból. Creutzfeldt és Kuhnt egy későbbi munkájukban /1967/ az 1. ábrán látható módon foglalták össze a kiváltott potenciál genezisének jelenleg leginkább elfogadott elméletét.



1. ábra Az agykéreg feltételezett feszültségviszonyai kiváltott potenciál alatt macska szenzorimotoros kérgén /Creutzfeldt, 1967. után/ Felső görbe: makroelektrodával a felszínről regisztrált kiváltott potenciál a thalamusz VPL magjának ingerlésekor. Felszín pozitívítás lefelé mutat. Alsó görbe: a kérgi pyramis sejtől intracellulárisan elvezetett posztszinaptikus és csucspotenciálok. Az EPSP-k pozitívitása felfelé, az IPSP-k negatívitása lefelé mutat. A szaggatott vonalak a tipikustól eltérő potenciálingadozásokat mutatják. A harmadik és negyedik vonal a specifikus afferens rostok impulzusait tünteti fel. Alul: egy hipotetikus pyramis sejt potenciáleloszlásának változásai specifikus /S/, nemspecifikus /U/, intrakortikális /I/ és rekurrens kollaterális /R/ impulzusok hatására. A betűk az intracelluláris elvezetés megfelelő betűjelzéseire igazodnak. A rekurrens kollaterálist gátlónak, a többi afferenst ingerlő hatásnak tételezik fel. A rostok végénél lévő nyilak a rost aktivitását jelzik. A pyramis sejttel párhuzamos nyilak az elektrotónusos potenciálterjedés irányát mu-

tatják a szomatodendritikus membránon. Az ábra magyarázata: A: szinkronizált afferens specifikus impulzus EPSP-ket kelt a neuron mélyebb részein, ami efferens spike-aktivitással jár. A depolarizáció a dendrit mentén felfelé terjed, s ez felszín pozitivitást kelt. B: a nemspecifikus afferensek ingerülete az apikális dendriteken ingerületet kelt, ugyanakkor IPSP fejlődik ki a rekurrens kollaterálisokon jövő gátló impulzusok hatására. E kettő együttesen felszín negativitást idéz elő. C: az IPSP hiperpolarizációja ráterjed az egész neuronra: felszín pozitívítás az eredmény. D: a hiperpolarizációt nemspecifikus /az apikális dendritekre kiterjedő/ depolarizáció szakíthatja meg /felszín negativitás/. E: kevésbé szinkronizált excitátor aktivitás specifikus és nemspecifikus afferensek részéről az egész szomatodendritikus membránt depolarizálja, ami efferens kisülésekhez vezet az utókisülés idején /és a spontán orsó hullámok alatt/; ismét felszín negativitás. F: afferens aktiválás hiányában a membránpotenciál visszatér nyugalmi értékére. Rekurrens gátló aktivitás enyhe hiperpolarizációt idézhet elő: a felszínen izoelektromos alapvonal, vagy enyhe pozitívítás jelentkezik.

Az előbbieken vázolt adatok ismeretében kísérleteim elé azt a célt tűztem ki, hogy ellenőrizzem, az intracellulárisan regisztrált posztszinaptikus potenciálok tulajdonságai megegyeznek-e a kiváltottakéval, szolgálhatnak-e előbbiek utóbbiak alapjául. A kísérleti program a kiváltott potenciálok un. frekvenciafüggésének tényéből indult ki. Ha e potenciálokat 10 cps-ig emelkedő sorozatos ingerléssel váltjuk ki, azok amplitudója progresszive csökken, s 10 ciklus pro secundum táján már tört része az eredetinek.

Kísérleteim célja az volt, hogy a posztszinaptikus jelességek frekvenciafüggésének vizsgálatával újabb adatokat találjak, amelyek a kiváltott potenciálok genezisének ma elfoga-

dott elmélete mellett vagy ellen szólnak.

II. MÓDSZER

Kísérleteimhez 33 db, mindkét nemű, 2-4 kg súlyu, felnőtt macskát használtam. A 40 mg/kg Mebubarbitállal alátatott állat v. femoralisába és tracheájába kanült kötöttem, majd az állat fejét Kovách-féle sztereotaxiás készülékbe helyeztem. A fejbőr és a koponyaizmok lefejtése után a vizsgálandó agyterület /g. sigmoideus anterior/ fölött a koponyaacsontot kb. 1 cm² nagyságban eltávolítottam.

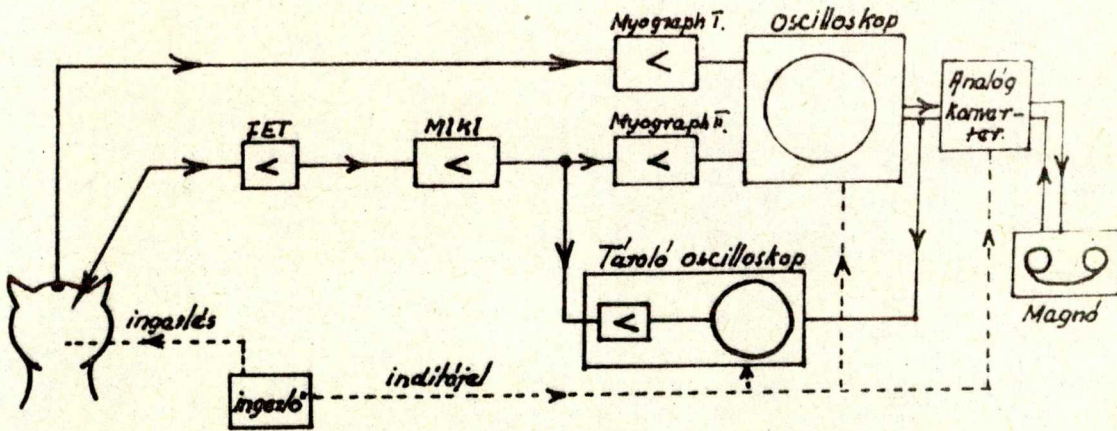
A kérgei pulzáció kiküszöbölése oéljából az állat cisterna magnáját megnyitottam. A dura mater felmetzését követően elhelyeztem a felszíni elvezetésre szolgáló ezüst gömbelektródot és a csontszélhez rögzítettem az intracelluláris elvezetés referencia elektródját, majd az agykéreg szabad felszínét 3 %-os, fiziológiás sóoldattal készült agar-agar kocsonyával fedtem le. A Jasper és Ajmone-Marsan /1960/ által szerkesztett sztereotaxiás atlasz segítségével DISA bipoláris ingerlő tüelektródát szurtam a thalamus nucl. ventralis postero-lateralis-ába /VPL/. A macskát Flaxedil-lel immobilizáltam és mesterségesen lélegeztettem s a kísérlet megkezdéséig s a kísérlet /2-3 órán át/ pihenni hagytam.

Az intracelluláris elvezetéseket házilag huzott, töltött és ellenőrzött /Frank és Becker 1964/, 10-30 M Ω ellenállású üveg mikroelektródokkal végeztem. Elektrolitként

2,5 mólos káliumklorid oldatot használtam. Az elektród bevezetésére hidraulikus mikromanipulátor szolgált. A jelek elvezetésére és referencia-elektrodként nempolározó Ag-AgCl elektródot alkalmaztam, mivel a regisztrálás DC üzemmódban történt.

A bioelektromos jelek felerősítésére és rögzítésére a 2. ábrán látható elrendezésben a következő berendezéseket alkalmaztam. A mikroelektrodból elvezetett potenciálokat a MIKI által konstruált FET tranzisztoros katódkövetőn és főerősítőn keresztül DISA kétcsatornás Electromyograph egyik csatornájára és Tektronix tároló oszcilloszkópra vittem. A felszíni kiváltott potenciálokat a myograph másik csatornáján regisztráltam. A feszültségkalibrálás e készülékekbe beépített kalibrátorok útján történt. A kísérleti anyagot egycsatornás analóg konverteren keresztül mágnesszalagon rögzítettem. A konverter vivőfrekvenciája 10 kHz, a kivezérlés mértéke $\pm 40\%$, frekvenciatartománya 0-2500 Hz. A jeleket a kísérlet befejezése után a tároló oszcilloszkópra visszajátsoztam és annak ernyőjéről fényképeztem. A kiértékelést kinagyított negativokról végeztem el.

A VPL ingerlésére DISA Multistimmel előállított 20-40 V feszültségű, 0,3 msec időtartamu négyszögimpulzusokat alkalmaztam. Az ingerlőkészülék állította elő a szinkronizáláshoz szükséges indítójelet, amelyet a mágnesszalagon rögzítettem.



2. ábra Az erősítő és regisztráló berendezések blokkdiagramja /magyarázatot lásd a szövegben/.

III. KISÉRLETI EREDMÉNYEK

1. A kéri elektrográfias jelenségek jellemzése

Membránpotenciál

A sejtmembrán egyik alapvető tulajdonsága, hogy anorganikus ionok számára szabadon átjárható, de nagyobb részecskék, pl. fehérjék számára átjárhatatlan. Az intersticiális térben jelen levő K^+ és Cl^- ionok mellett a sejt belsejében proteinát-anionok is vannak. A sejten belül a proteinát-anion aequivalens mennyiségű K^+ -t köt meg. A szabadon diffundáló K^+ koncentráció gradiensének megfelelő irányban vándorol a membránon keresztül, de anionja nem követheti. Elektromos kettős réteg alakul ki: a membrán külső oldalán az átdiffundált K^+ révén pozitív, belső oldalán a nem-diffundáló proteinát-anionok révén negatív töltésű réteg jön létre.

re. Ezt a potenciálkülönbséget nevezzük membránpotenciálnak /MP/, melynek értelmében a membrán belseje negatív külső felületével szemben.

Az intracelluláris elvezetések DC üzemmódban regisztráltak, így a membránpotenciál nagyságát a kísérlet folyamán ellenőrizni tudtam.

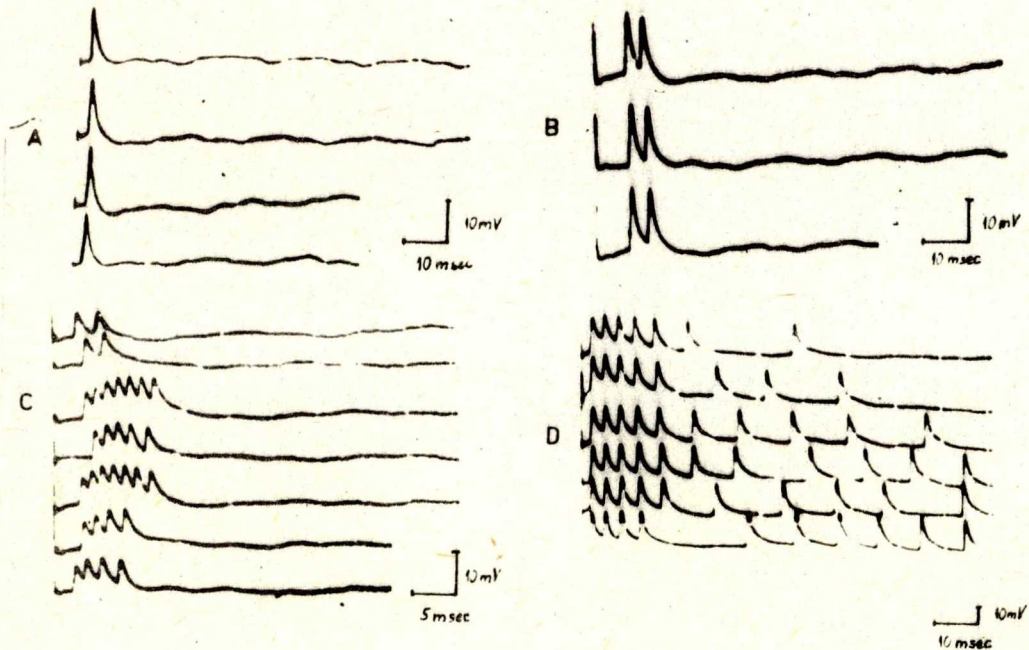
A vizsgált sejtek MP-ja 15 és 80 mV között változott. A MP állandósága a különböző neuronok esetében változó volt. Egyesek stabil, csak a sejt pusztulását, vagy a mikroelektród eltávolodását jelezve hirtelen oszlokkentek, más sejtek MP-ja ezen kívül ± 10 mV ingadozást is mutatott.

Az EPSP-k tulajdonságai

Ha egy preszinaptikus rostot ingerelünk, akkor a posztoszínaptikus neuronból potenciálkülönbséget regisztrálhatunk. Ezt a nem terjedő, csak a szinaptikus membrán területére korlátozódó helyi választ, amelynek amplitúdója a küszöbinger eltéréséig az inger intenzitásával együtt nő, posztoszínaptikus potenciálnak /PSP/ nevezzük. Az ingerküszöb elérésekor térbeli vagy időbeli szummáció útján ez tovaterjedő oszlopotenciált vált ki, amely már képes a következő szinapszison keresztül más sejteket is ingerületbe hozni. A PSP-k egyik típusát, amelyek a nyugalmi potenciált oszlokkentik, vagyis hipopolarizációt okoznak "izgalmi" /excitatorikus/ PSP-nek /EPSP/ nevezzük. A másik csoport hiperpolarizációt okoz /előjele negatív/, ezért "gátló" /inhibitoros/ PSP-nek /IPSP/ nevezzük. Tovaterjedő oszlopotenciál generá-

lására csak az EPSP-k képesek.

A kísérleteimben regisztrált EPSP-k amplitudója 3-20 mV nagyságu volt és a membránpotenciál módosulásaival párhuzamosan változott. Az ingerlés frekvenciájának változtatása nem befolyásolta az EPSP-k nagyságát /1. később/. Az EPSP-k időtartama és leszálló száruk időállandója közel állandó volt /4-5 illetve 3,5-4,5 msec/. A PSP-k lefutási ideje csak akkor csökkent 1-3 msec-re, ha időbeli szummálásuk folytán a következő EPSP az előző leszálló szárából emelkedett ki. Latenciaidejük 1,5 és 15 msec közötti intervallumban változatos képet mutatott. Néhány esetben megfigyeltem, hogy az ingerfrekvencia fokozásával a latenciaidő is megnőtt. A kísérletek kiértékelésekor csak azokat az EPSP-eket vettem figyelembe, amelyek a kiváltott potenciál felszíni pozitív-negatív főfázisának ideje alatt jelentkeztek. Kivételt ez alól azokban az esetekben tettem, amikor magasabb frekvenciájú ingerlésre a sejt erőteljes facilitációt mutatott. Az EPSP-k előbb említett tulajdonságai a 3. A-D ábrákon jól megfigyelhetők. Valamennyi intracelluláris regisztrátumon az EPSP-k és spike-ok pozitivitása felfelé, az IPSP-k negativitása lefelé mutat.



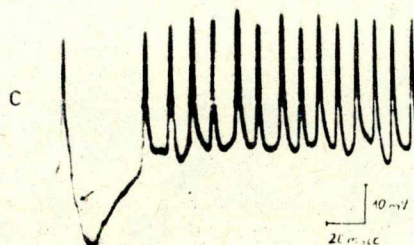
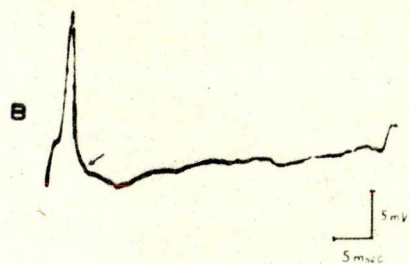
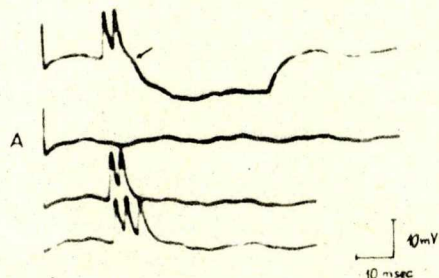
3. ábra Jellegzetes EPSP típusok. A: egyszerű EPSP 5 cps ingerlési frekvenciánál. B: kettős EPSP-k 1 cps-nél. C: szummálódott EPSP-k, ingerfrekvencia 5 cps. D: facilitálódott neuron EPSP-aktivitása 8 cps VPL ingerlésnél. A regisztrátumok mindegyike más-más sejtről készült.

IPSP-k regisztrálása

A nyugalmi potenciált növelő PSP-k létrejöttéért a kérgi pyramis sejtek közötti kapcsolatot biztosító nagyszámu interneuron a felelős. Eccles /1969/ szerint ennek a gátló mechanizmusnak két utja lehetséges. Az egyik esetben a gátló impulzusok az ingerlőkkel egyirányban haladnak, ezt kollaterális gátlásnak nevezzük. A rekurrens gátlás ezzel szemben negatív visszacsatolásnak tekinthető. Az impulzusok egy axonkollaterálison keresztül gátló neuront vonnak aktivitásba. Ezek azonban a saját ingerületüket előidéző impulzusokat ki is

olthatják, így ingerületi körök és különböző ritmikus jelenségek jöhetnek létre.

Kísérleteimnek nem volt célja az IPSP-k tulajdonságainak vizsgálata, ezért csak a teljesség kedvéért hozok fel néhány példát. A regisztrált IPSP-k vagy az ingerlésre kiváltott EPSP-t illetve spike-ot követően jelentek meg /4. A és B ábra/, vagy a spontán spike-aktivitást szakították meg /4. C ábra/. A latenciaidő állandósága utóbbi esetben is arra utal, hogy az IPSP-t az ingerlés váltotta ki.



4. ábra IPSP-regisztrátumok.

A: EPSP-párt követő IPSP.

B: kiváltott spike-ot követő IPSP.

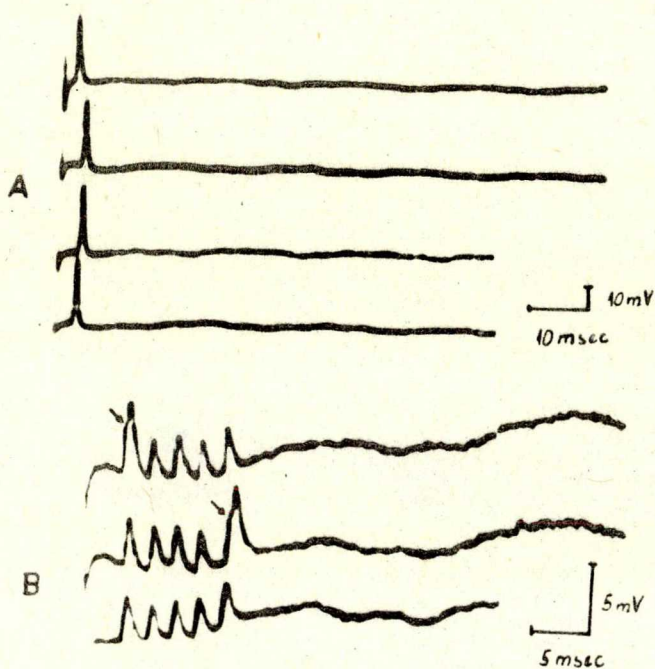
C: spontán spike-aktivitást megszakító IPSP.

Az ingerfrekvencia mindhárom esetben 1 cps volt, de a regisztrátumok különböző neuronokról történtek. Az IPSP-k kezdetét nyíl jelzi.

A spike-ok adatai

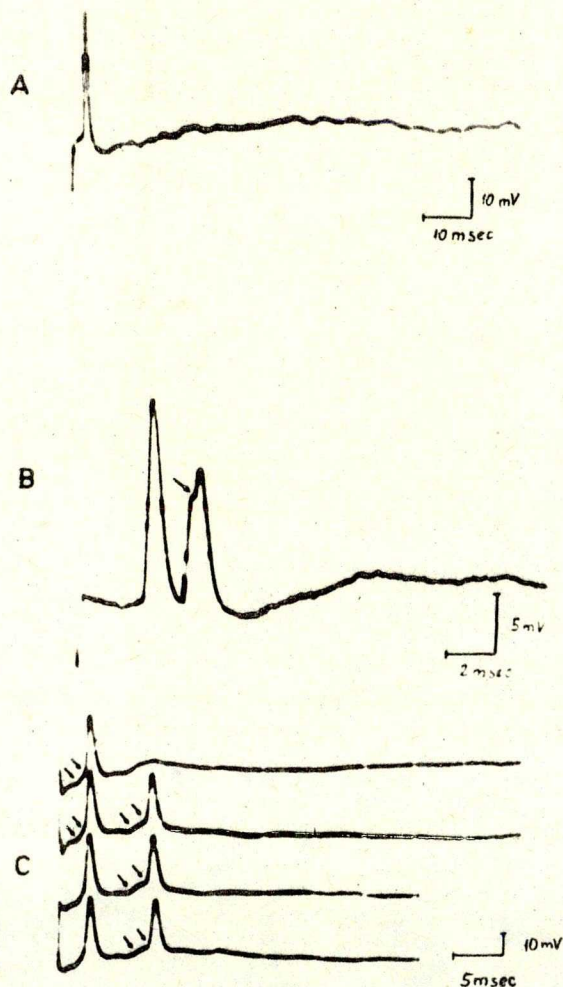
Ha a preszinaptikus impulzusok a posztoszínaptikus membránon megfelelően szummálódnak, a posztoszínaptikus neuronból akciós potenciál, más néven csucspotenciál /spike/ regisztrálható.

A mikroelektrod helyétől függően a spike-ok alakja és nagysága különböző. Az axonból regisztrált csucspotenciálok amplitudója a legkisebb, lefutásuk egyenletes, túske alakú. Időtartamuk kb. 1 msec, negatív utópotenciáljuk nincs /5. A-B ábra/. Ezek az ún. "M" típusú spike-ok.



5. ábra Axon-spike-ok. A: 1 cps, B: 10 cps ingerlésnél; két különböző neuron.

A sejt szómájából nagyobb időtartamu, negatív utópotenciálal rendelkező spike-ok vezethetők el. Itt különbséget lehet még tenni az axon eredésénél levő "iniciális szegmentum" spike-válaszait illetően. Ez utóbbi két típus esetén néhány esetben sikerült bizonyos szegmentálódást megfigyelni. /6. A-C ábra/.



6. ábra Szóma-spike-ok.
A: 1 cps, B és C:
2,5 cps ingerlés-
nél. Az "M" és
"IS" szegmentum
elkülönülését nyi-
lak jelzik. A fel-
vételek különböző
neuronokról készül-
tek.

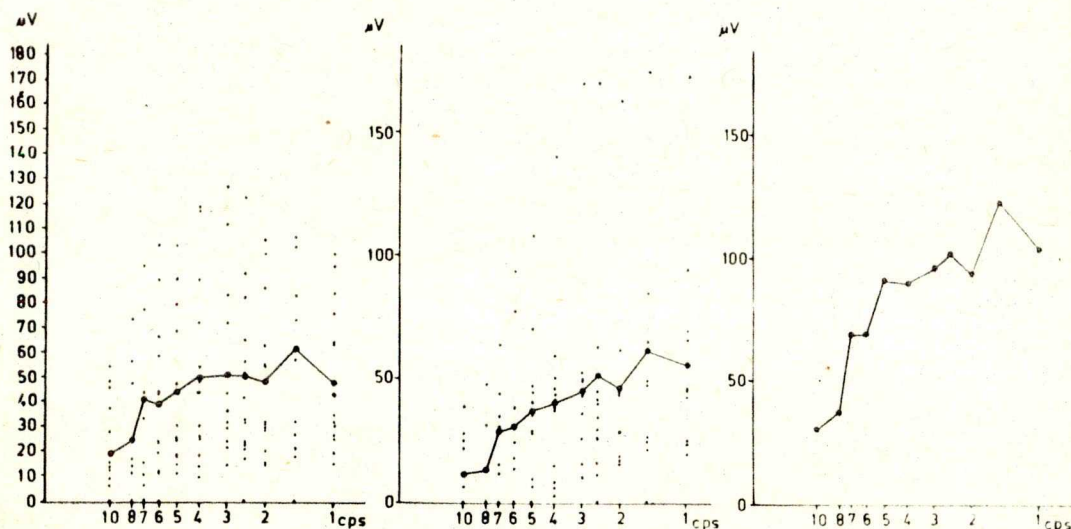
A spike-ok latenciaideje átlagosan rövidebb /0,5-7 msec/ volt, mint a regisztrált EPSP-ké, az ingerfrekvencia növelésére bekövetkező változást néhány esetben itt is megfigyeltem.

A membránpotenciál csökkenésére a spike-ok amplitúdója is csökkent, az ingerlés frekvenciája azonban nem befolyásolta nagyságukat. A spike-amplitudó kísérleteimben 8-40 mV volt.

A kiváltott potenciálok frekvenciafüggése

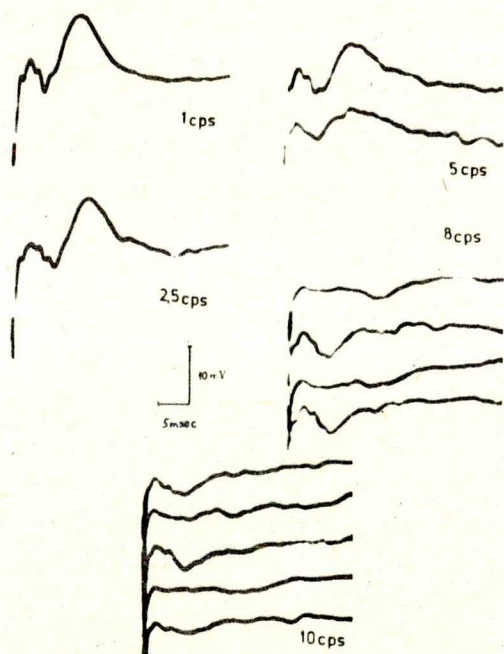
Abból a megfontolásból kiindulva, hogy a kiváltott potenciálok generálásáért egy kéregben az adott neuronpopuláció összessége a felelős, kísérletenként egy kiváltott potenciál sorozatot regisztráltam.

Az elsődleges pozitív fázis felszálló szárán egy-két tüskeszerű kiemelkedés a különböző afferens röst-csoportok aktivitását jelzi. A kiértékelésnél ezeket nem vettem figyelembe, csak a maximális kitérés amplitudóját mértem, ami az egyes kísérletekben 1 cps ingerlésnél 14 és 100 μ V között volt. A felszín-negatív főfázis amplitudója ugyanilyen frekvenciánál 19 és 173 μ V között változott. A frekvenciát 1-től 10 cps-ig folyamatosan növeltem. A kiváltott potenciálok frekvenciafüggését a 7. ábrán látható grafikon mutatja. 1,5 cps-nél az amplitudó átmenetileg növekszik, de utána folyamatos a csökkenés.



7. ábra A kiváltott potenciálok frekvenciafüggése. Bal oldalon a felszín pozitív, középen a felszín negatív főfázis amplitudójának változását tüntettem fel. A pontok az egyes mérések eredményét, a kihuzott vonal ezek átlagát mutatja. A jobb oldali grafikon a csucstól-csucsig mért amplitudókat jelzi. Ordináta: amplitudó μV -okban, abszcissza: az ingerlés frekvenciája logaritmikus léptékben.

A kiváltott potenciálok latenciája 1-2,5 msec, a pozitív csúcs latenciája 2,5-6,5, a negatív csúcsé 8,5-16 msec volt. A kiváltott potenciálok egész időtartama 15-25 msec volt.



8. ábra Jellemzőes alakú kiváltott potenciál és frekvenciafüggése. A felvételeken a felszín pozitivitás lefelé mutat.

2. A neuronális jelenségek frekvenciafüggése

Az intracelluláris unit potenciálok frekvenciafüggését kétféleképpen vizsgáltam. Az ingerlés frekvenciáját egyrészt 1-től 10 cps-ig folyamatosan növeltem, másrészt ugrásszerűen tízszeresére emeltem az ingerfrekvenciát 1, 1,5, 2, 2,5 és 3 cps-nél. Erre azért volt szükség, hogy a monoton ismétlődő ingerek által kialakított habituációt kiküszöbölhessem. A sejt elpusztulása, vagy az elektród eltávolodása miatt nem minden esetben sikerült az egész kísérlet sor végrehajtása. Értekezésemben természetesen csak a teljes sikerrel végrehajtott ingerlések eredményei szerepelnek.

A kiértékelés alapjául az EPSP-k illetve spike-ok előfordulási gyakorisága szolgált. Ezt az arányszámot úgy kaptam meg, hogy a válaszok számát elosztottam az alkalmazott ingerek számával.

"Megbízhatatlannak" minősítettem azokat a neuronokat, amelyek válaszainak előfordulási gyakorisága 1-nél kisebb volt. A kiértékelés alkalmával külön-külön csoportosítottam azokat a sejteket, amelyek az ingerlés frekvenciájának növelésére nem változtatták, növelték illetve csökkentették válaszaik előfordulási gyakoriságát.

A sejtek egy része másképpen reagált a folyamatos illetve az ugrásszerű frekvenciaváltoztatásra, így egy neuron két csoportban is szerepelhet. Ezt, valamint az előbb említett sejtpusztulást figyelembe véve a talált 59 neuronból összesen 89 adatsort tudtam kiértékelni.

Megbízható EPSP-k

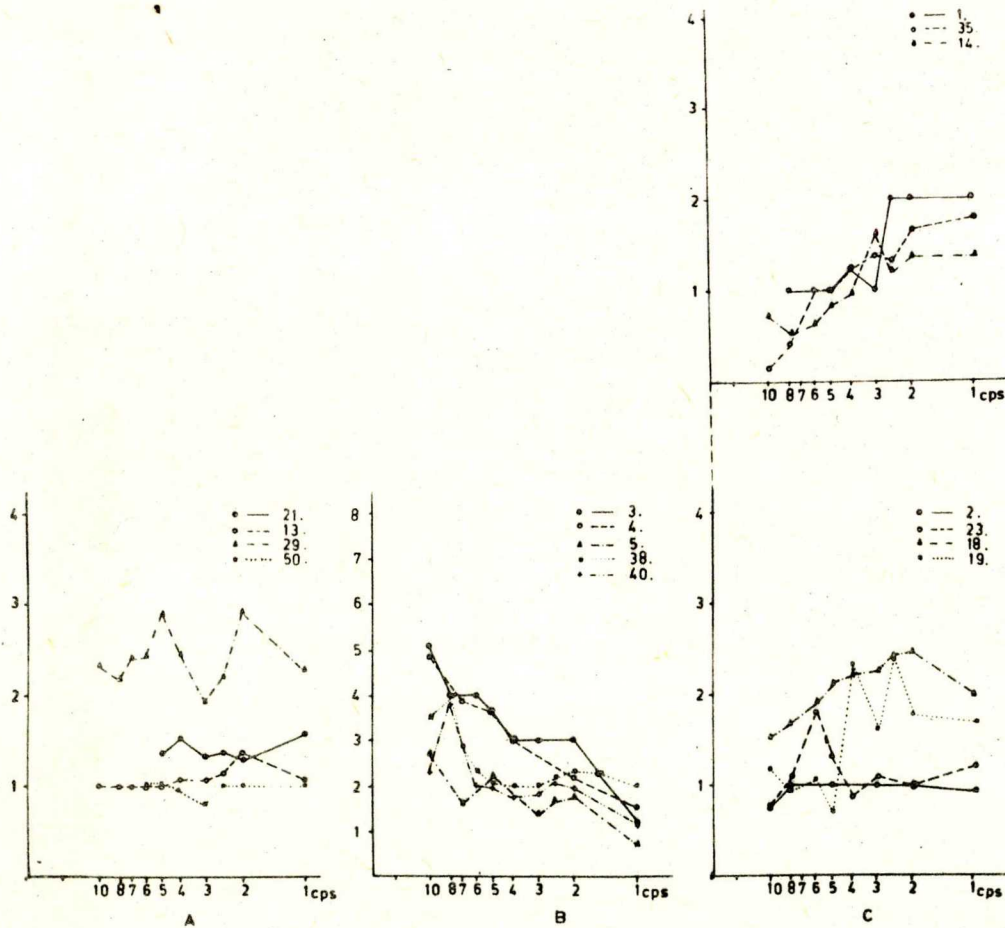
Folyamatos frekvencianövelés hatásai

A 34 megbízható EPSP-ből 4 volt olyan, amelynek 1 és 10 cps-nél /egy-egy esetben csak 5 illetve 6 cps-ig juttam el/ talált előfordulási gyakorisága csak kis mértékben tért el egymástól. Egy neuron kivételével a többi frekvencia esetében is csak csekély ingadozást tapasztaltam. 5 neuron növelte, 7 pedig csökkentette EPSP-inek előfordulási gyakoriságát. Az előfordulási gyakoriság 8-10 cps-nél 3-5-szörösére nőtt, míg a csökkenés csak 1/2-2/3-a volt az 1 cps-nél regisztrálténak s szórása is nagyobb volt /9. A-C ábra/.

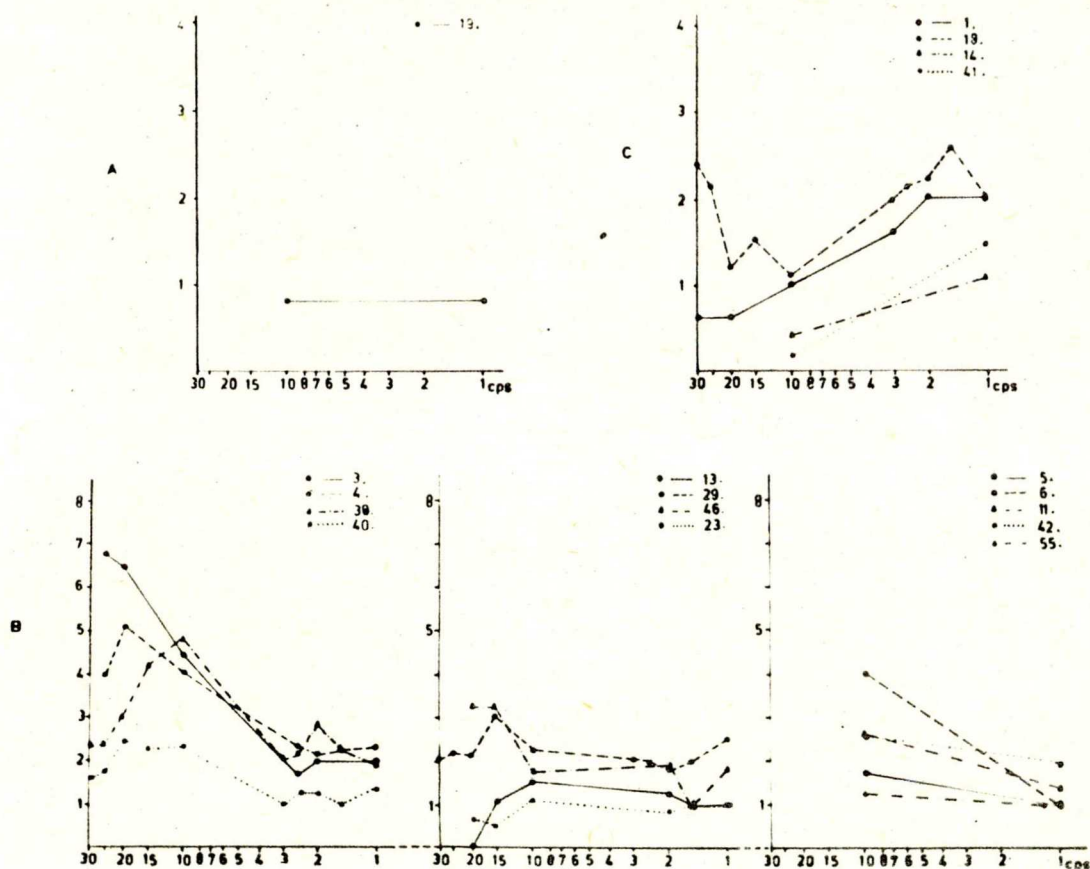
Ugrásszerű frekvenciaváltoztatás hatásai

Ebbe a csoportba összesen 18 neuron tartozik, 1 nem változó, 13 növekvő, 4 pedig csökkenő előfordulási gyakoriságú EPSP-ket produkált.

A csökkenő tendenciát mutató sejtek közül egy 15 cps-nél ismét növelte EPSP-i számát, a növekvők közül 4 csökkentette azt 10 cps-en felül./10. A-C ábra/. Külön ki kell emelnem a második csoportot, mert kísérleteim során itt tapasztaltam a legnagyobb mértékű előfordulási gyakoriság változást. Egy esetben csaknem hétszeresére nőtt az EPSP-k száma. A nem változó s egynél kisebb arányszámu neuron a folyamatos frekvenciaváltoztatás alkalmával megbízhatónak bizonyult, így került ebbe a csoportba.



9. ábra Megbízható EPSP-k frekvenciafüggése folyamatos frekvencianövelés esetén. A: nem változó, B: növekvő, C: csökkenő előfordulási gyakoriságú neuronok. Az ábrák jobb felső sarkában a vizsgált neuronok sorszámát tüntettem fel. Ordináta: az előfordulási gyakoriság arányszáma /ld. a szövegben/, abszcissza: ingerfrekvencia logaritmi-
kus léptékben.

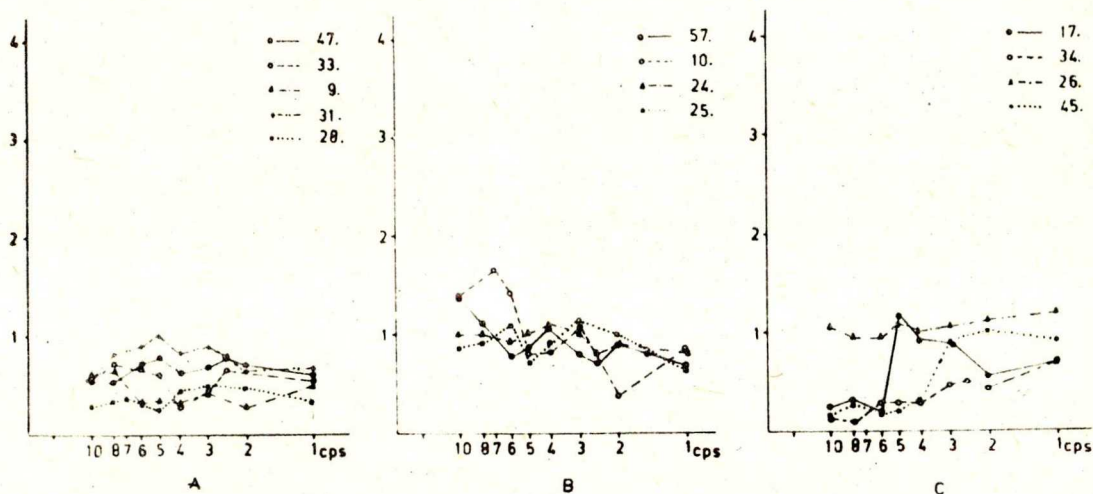


10. ábra Megbízható EPSP-k frekvenciafüggése ugrásszerű frekvenciaváltoztatásnál. Jelöléseket ld. előző ábrán.

"Megbízhatatlan" EPSP-k

Folyamatos frekvencianövelés hatásai

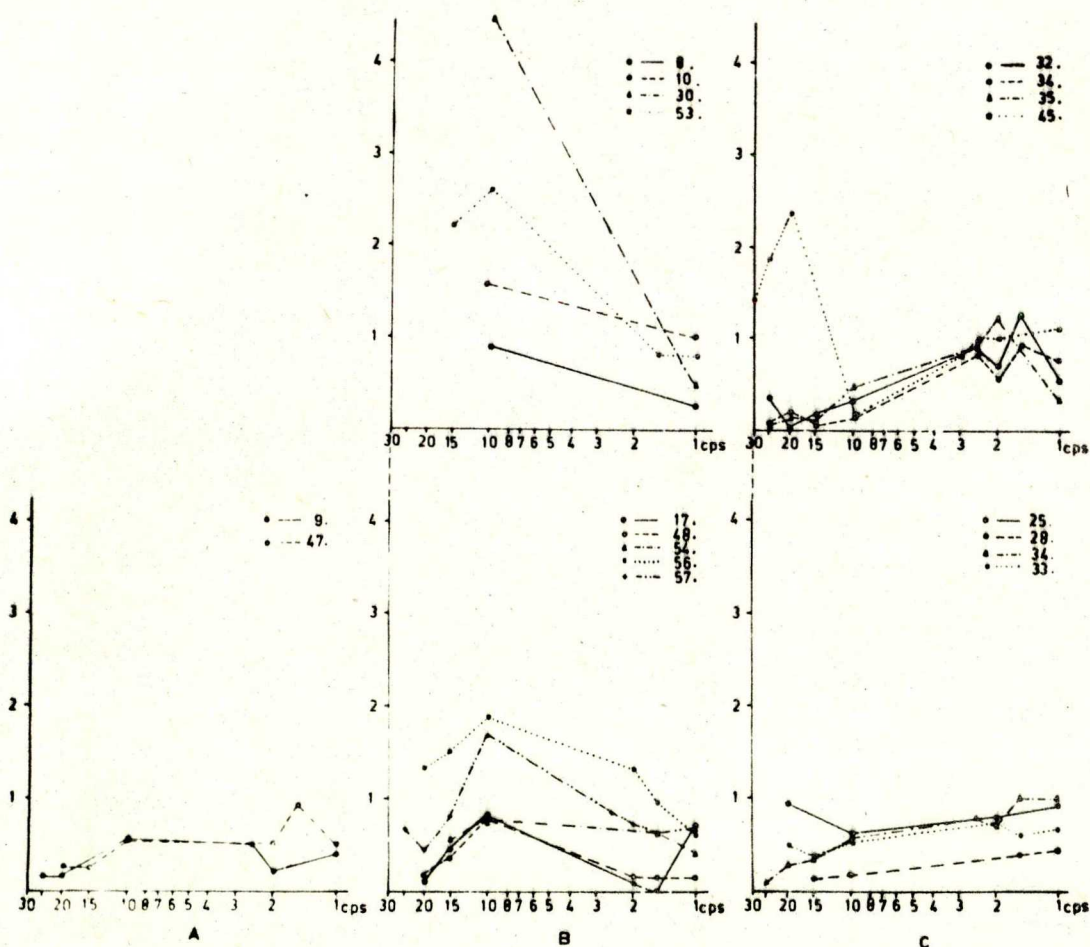
Az 1-nél kisebb megbízhatósági foku 32 neuron közül 5 nem változtatta, 4-4 pedig növelte illetve csökkentette EPSP-inek előfordulási gyakoriságát /11. A-C ábra/. A növekedés és csökkenés nem volt nagy mértékű; a maximális eltérés $1/3$ - $1/2$ egység volt, ezért a csoportosításkor némi nehézséget jelentett a nem változó, de csekély szórást mutató neuronoktól való elkülönítés. Ezt jelzi a három csoport közel azonos előfordulási aránya is.



11. ábra Megbizhatatlan EPSP-k frekvenciafüggése folyamatos frekvencianöveléskor. Jelölések ugyanazok, mint a 9. ábrán.

Ugrásszerű frekvenciaváltoztatás hatásai

Nem változott 2, nőtt 9, csökkent 8 neuron EPSP-i-nek előfordulási gyakorisága. 15-20 cps-nél az addig nem változó előfordulási gyakoriság csökkent, ezt tapasztaltam a 10 cps-ig növekvő tendenciájú neuronok esetében is. A csökkenő előfordulási gyakoriságú EPSP-kból 5 növekedést mutatott 20 cps-nél /12. A-C ábra/. Az előfordulási gyakoriság növekedése 2-3-szorosa volt a csökkenésnek.



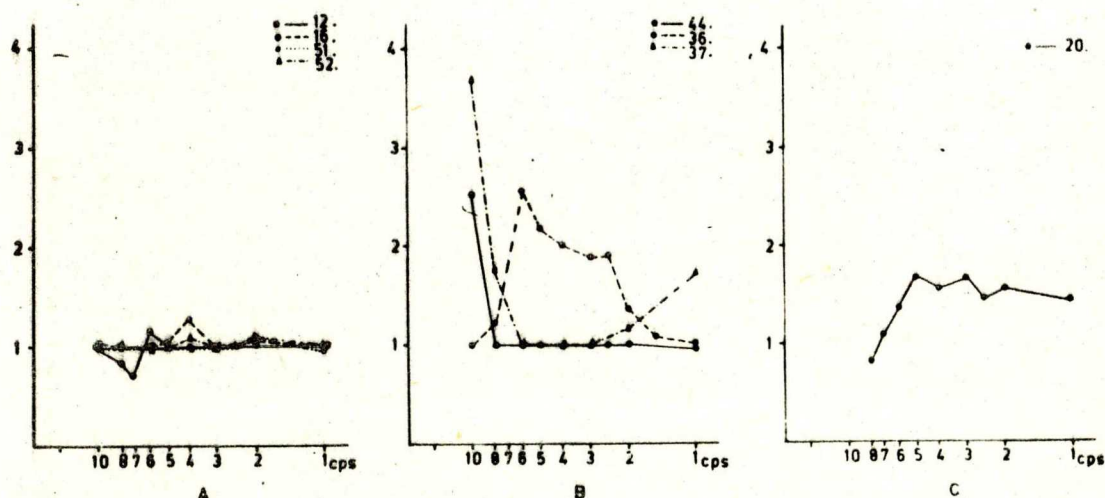
12. ábra Megbízhatatlan EPSP-k frekvenciafüggése ugrásszerű frekvenciaváltoztatás esetén. Jelölések, mint a 9. ábrán.

Megbízható spike-ok

Folyamatos frekvencianövelés hatásai

A kísérleteimben regisztrált spike-ok száma alig több, mint 1/3-a volt az EPSP-vel válaszoló neuronokénak. Mindössze 15 sejt adott megbízható spike-választ, ebből folyamatos ingerfrekvencianövelésre 4 nem változtatta, 3 növelte, 1 pedig csökkentette az előfordulási gyakoriságot magasabb frek-

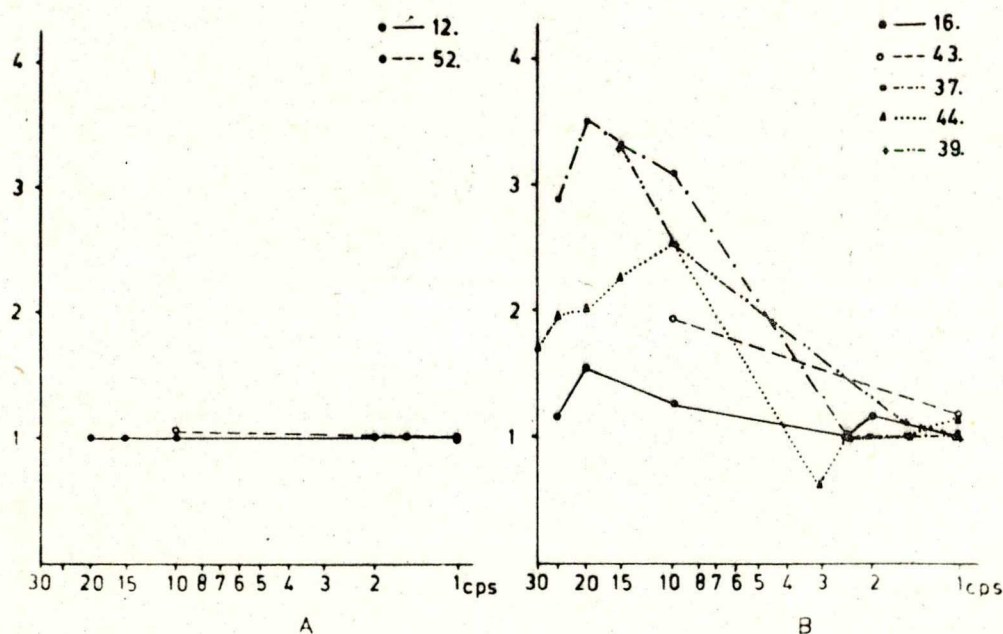
veneciáknál. A növekedés egy neuronnál csak 6 cps-ig tartott, a másik kettő viszont $2\frac{1}{2}$ illetve több mint $3\frac{1}{2}$ -szeresére növelte spike-jai számát 10 cps-nél. A csökkenés mértéke ebben a csoportban is kisebb volt /13. A-C ábra/.



13. ábra Megbízható spike-ok frekvenciafüggése folyamatos frekvencianövelés esetén. Jelöléseket ld. 9. ábrán.

Ugrásszerű frekvenciaváltoztatás hatásai

Ide soroltam 7 neuront, melyek közül 5 növelte, 2 pedig nem változtatta a spike-előfordulás gyakoriságát. A növekedés itt is $2\frac{1}{2}$ - $3\frac{1}{2}$ -szeres volt. Két neuron 25, egy már 15 cps-nél ismét csökkentette a spike-ok számát /14. A-B ábra/.



14. ábra Megbízható spike-ok frekvenciafüggése ugrásszerű ingerfrekvencia változtatáskor. A jelölések a 9. ábrán láthatók.

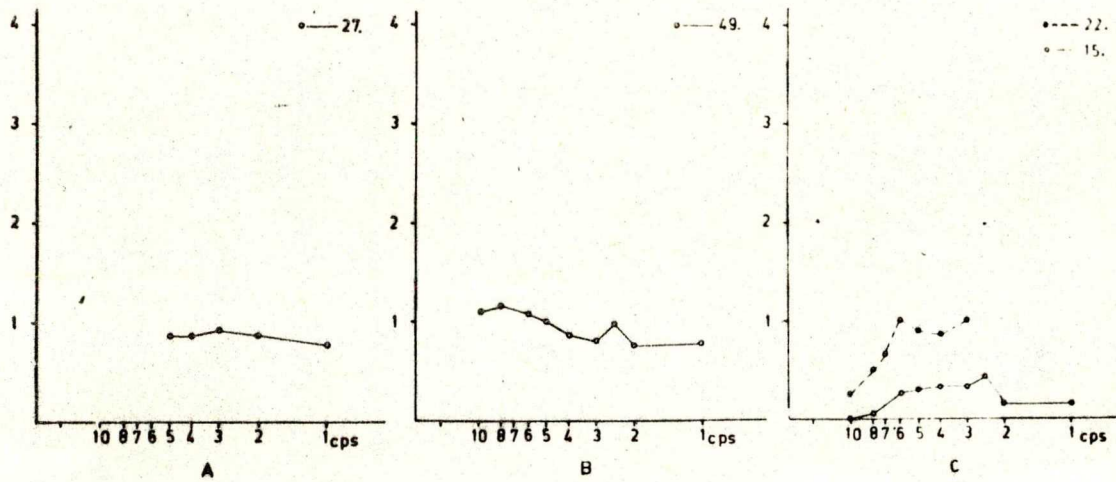
"Megbízhatatlan" spike-ok

Folyamatos frekvencianövelés hatásai

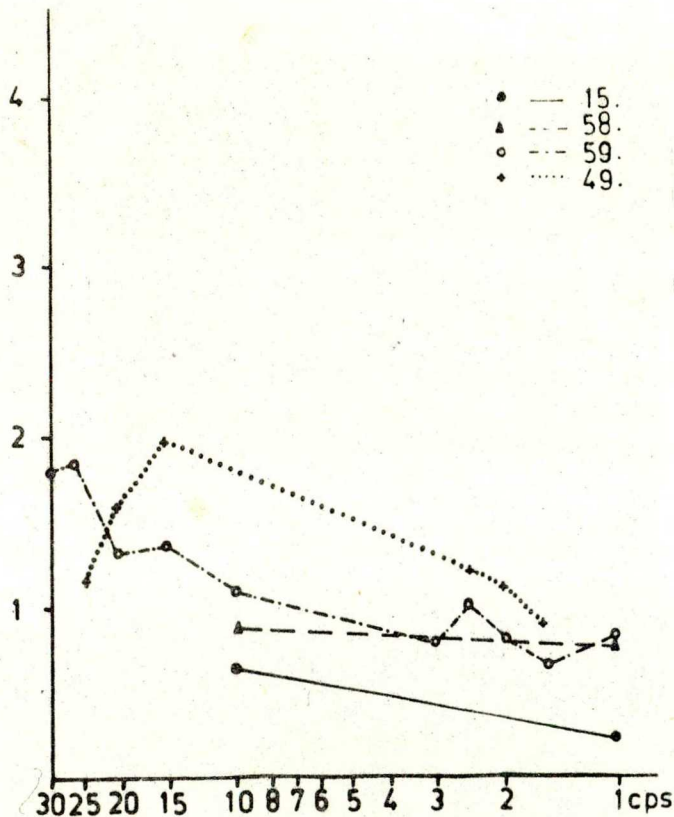
Egy-egy neuron nem változtatta illetve csekély mértékben növelte, kettő pedig csökkentette a spike-ok előfordulási gyakoriságát. Ebben a csoportban a csökkenés volt nagyobb mértékű /15. A-C ábra/.

Ugrásszerű frekvenciaváltoztatás hatásai

Mindössze 4 neuron tartozik ebbe a csoportba s ezek mindegyike növelte a spike-ok előfordulási gyakoriságát. Az egyik sejt 20 cps-nél már csökkenő tendenciát mutatott /16. ábra/.



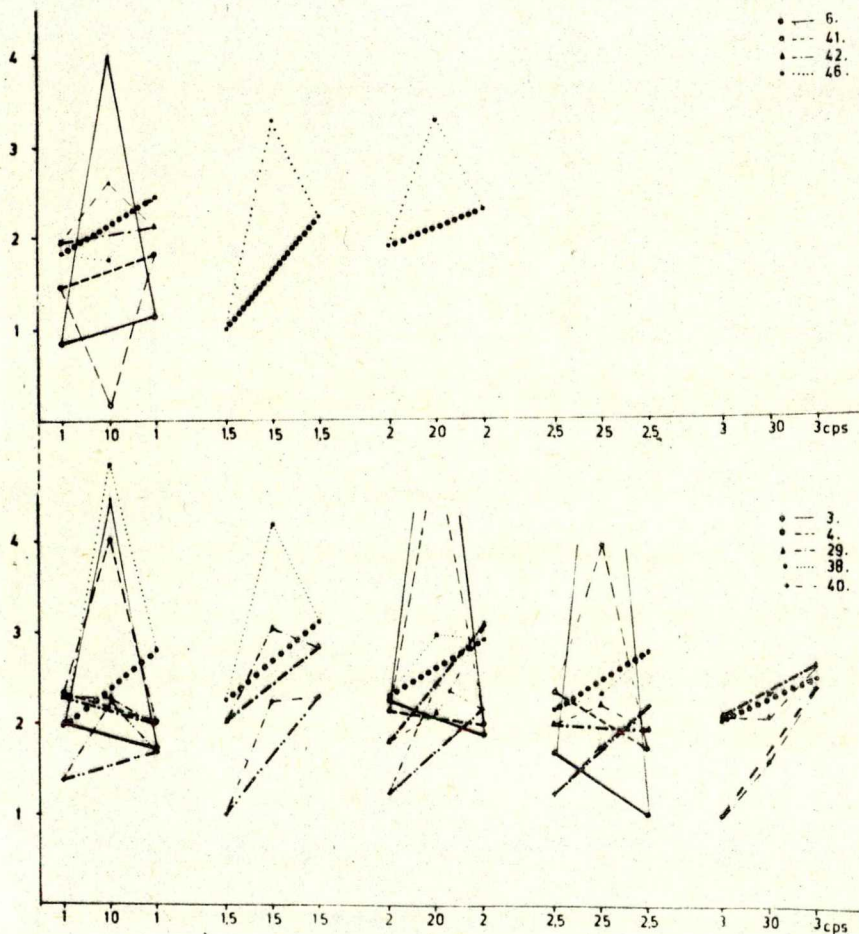
15. ábra Megbizhatatlan spike-ok frekvenciafüggése folyamatos frekvencianövelésnél. Jelölések, mint a 9. ábrán.



16. ábra Megbizhatatlan spike-ok frekvenciafüggése ugrásszerű frekvenciaváltoztatáskor. /Ebben a csoportban csak növekvő előfordulási gyakoriságú neuronok voltak./ Jelölések ugyanazok, mint a 9. ábrán.

Posztetanus hatások

Az ugrásszerű frekvenciaváltoztatást úgy végeztem, hogy az 1, 1,5, 2, 2,5, 3 cps ingerlést tízszeresére növeltem, majd visszakapcsoltam az eredeti értékre. Azt tapasztaltam, hogy a tetanizálás utáni előfordulási gyakoriság nem minden esetben egyezett meg a magas frekvenciájú ingerlés

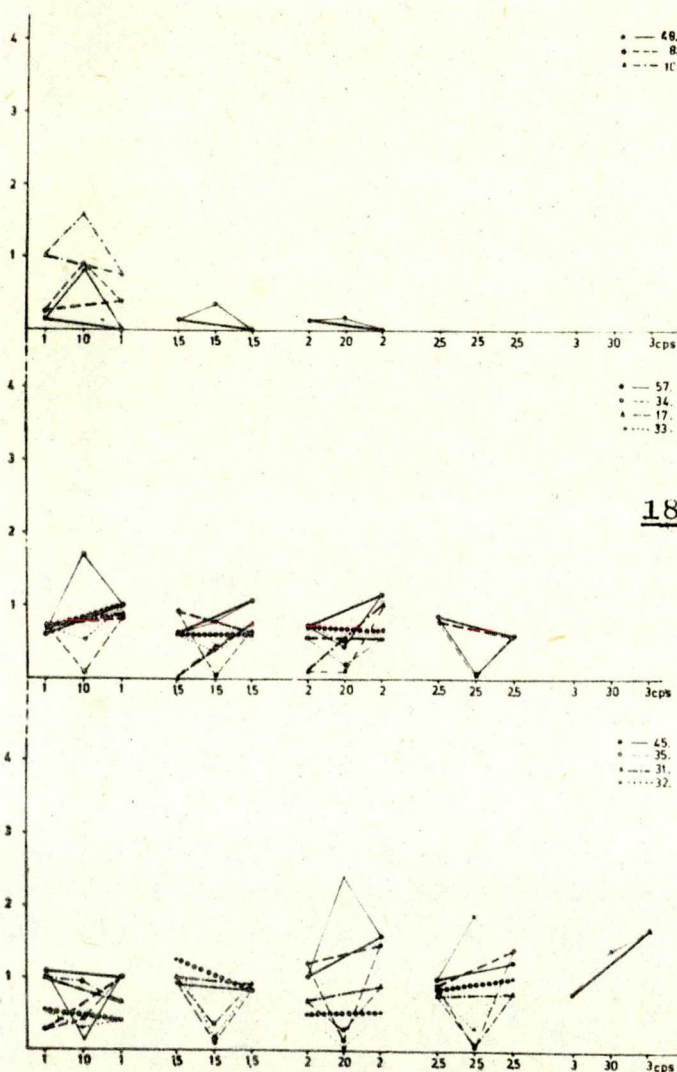


17. ábra Megbízható EPSP-k posztetanus viselkedése. A vékonyabb vonalak az előfordulási gyakoriság változását mutatják alacsony-magas-alacsony frekvenciájú ingerlési csoportok esetén, a vastagabb vonalak a pre- és posztetanus potenciálok viszonyát jelzik. Ordináta: az előfordulási gyakoriság arányszáma, abszcissza: az ingerlés frekvenciájának változtatása.

előttivel. 15 neuronnál facilitációt észleltem, 6 neuronnál depressziót figyeltem meg és 3 sejt esetében a két hatás váltakozását tapasztaltam. A többi neuron pre- és poszt-tetanikus válaszáinak előfordulási gyakorisága nem különbözött számottevően egymástól.

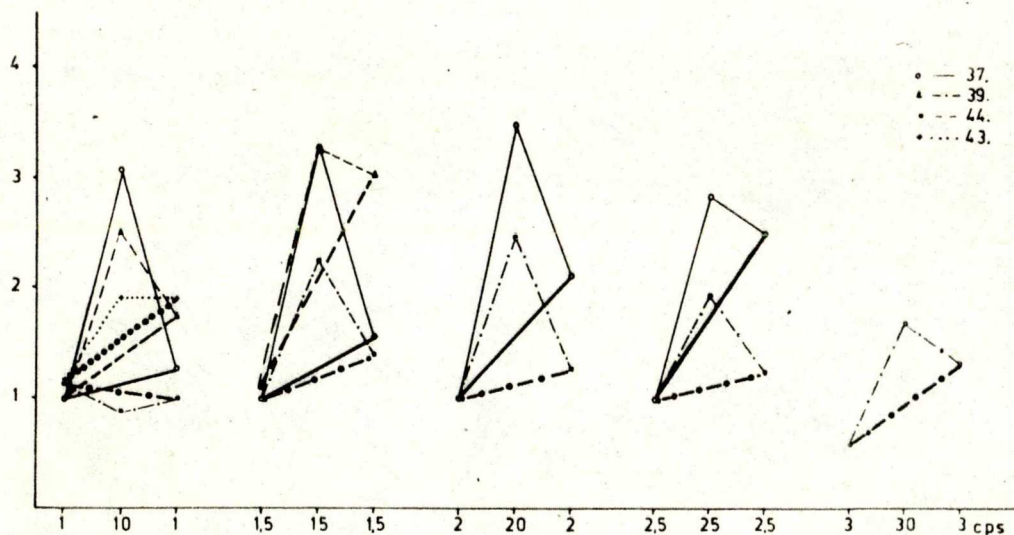
A megbízható EPSP-k közül 6 facilitálódott, 2 deprimálódott, 1 pedig változó képet mutatott /17. ábra/

5 megbízhatatlan EPSP facilitációs, 4 depressziós, 2 váltakozó hatásokat jelzett /18. ábra/.



18. ábra Megbízhatatlan EPSP-k poszt-tetanikus változásai. Jelölések, mint az előző ábrán.

A megbízható spike-ok közül 4 facilitálódott /19. ábra/.



19. ábra Megbízható spike-ok posztetanus viselkedése. Jelölések mint a 17. ábrán.

A facilitáció mértéke a spike-ok esetében volt a legnagyobb, de a megbízható EPSP-knél is többszöröse volt a deprimáló hatásnak. A posztetanus potenciál nagysága és a magas frekvenciájú ingerlés válaszainak előfordulási gyakorisága között nem volt összefüggés. Találtam nagyobb frekvenciájú ingerre csökkenő előfordulási gyakoriságu, de utána facilitálódó sejteket és növekvő válasz-számú, de deprimálódó neuronokat is.

Nem volt korreláció az előfordulási gyakoriság és a facilitáció illetve depresszió mértéke között sem.

Az EPSP- és spike-amplitudó frekvenciafüggése

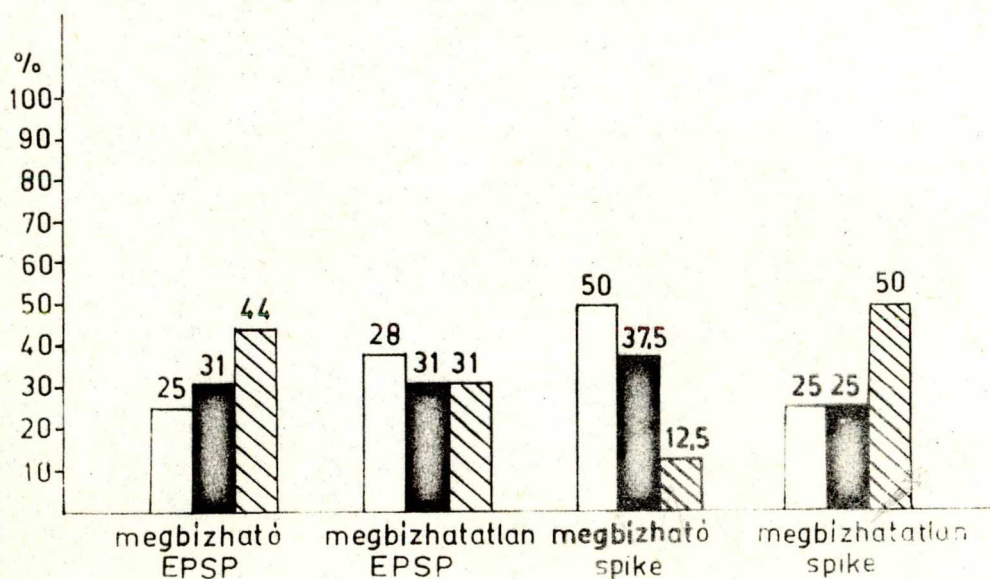
Kísérleteim során azt tapasztaltam, hogy a poszt-szinaptikus válaszok amplitudóját az ingerlés frekvenciája nem befolyásolta. Az EPSP-k és spike-ok nagysága csak a membránpotenciál változásaihoz igazodott. A MP csökkenésével a válaszok amplitudója is csökkent. Membránpotenciál növekedést csak néhány esetben tapasztaltam, de ezzel együtt a poszt-szinaptikus impulzusok amplitudója is nagyobb lett. Szummált válaszok esetén az elsőhöz viszonyítva a többi EPSP és spike amplitudója mindig kisebb volt.

A kísérleti eredmények összegzése

A kísérleteim során regisztrált 59 neuron összesen 89 adatsort szolgáltatott, melyek típusonkénti megoszlása a következő volt:

megbízható EPSP	38,2 %
megbízhatatlan EPSP	36,0 %
megbízható spike	16,8 %
megbízhatatlan spike	9,0 %

Az előfordulási gyakoriság változása az egyes csoportokon belül különböző volt. Folyamatos ingerfrekvencia növelés esetén az esetek nagyobb százalékában nem változott, vagy inkább csökkent az EPSP-k és spike-ok előfordulási gyakorisága /20. ábra/.

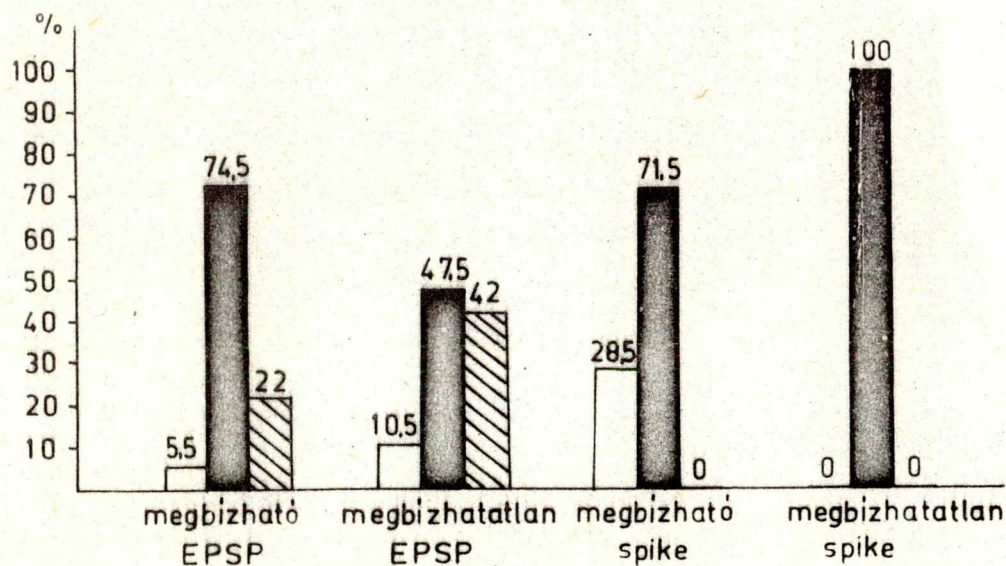


20. ábra Az előfordulási gyakoriság változásainak megoszlása folyamatos frekvencianövelés esetén. Az üres oszlopok a nem változó, a sötétek a növekvő, a vonalkázottak pedig a csökkenő előfordulási gyakoriságú neuronok megoszlási viszonyát mutatják. Az oszlopok fölé irt számok a százalékban kifejezett értékeket adják meg.

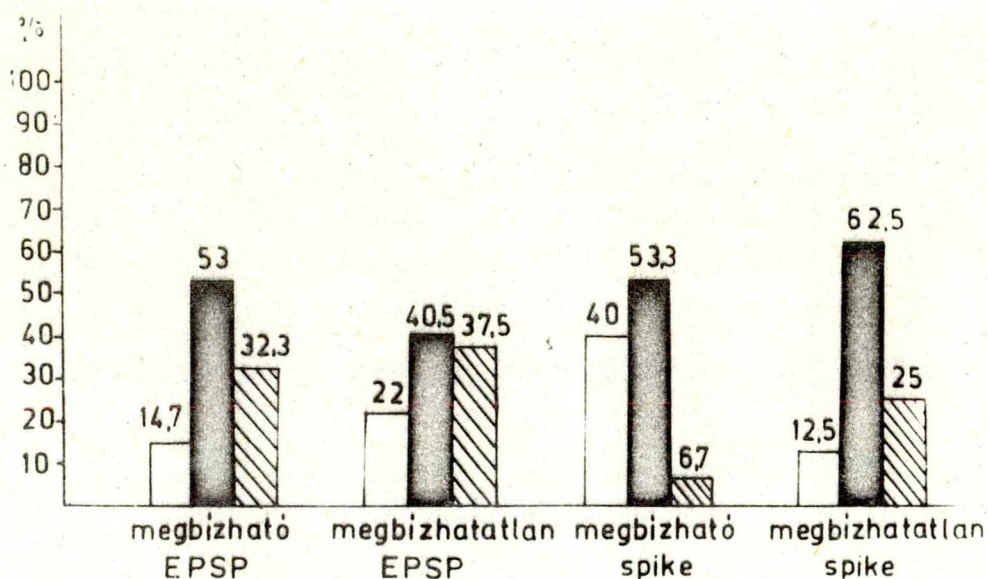
Ugrásszerű frekvenciaváltoztatáskor az előfordulási gyakoriság növekedése dominált és ezt tapasztaltam a kétfajta kísérlet sor összegzésekor is /21. és 22. ábra/.

Végeredményben az esetek több, mint 70 százalékában nőtt, vagy nem változott a posztzinaptikus válaszok előfordulási gyakorisága 10 cps-en felüli ingerfrekvenciánál /23. ábra/.

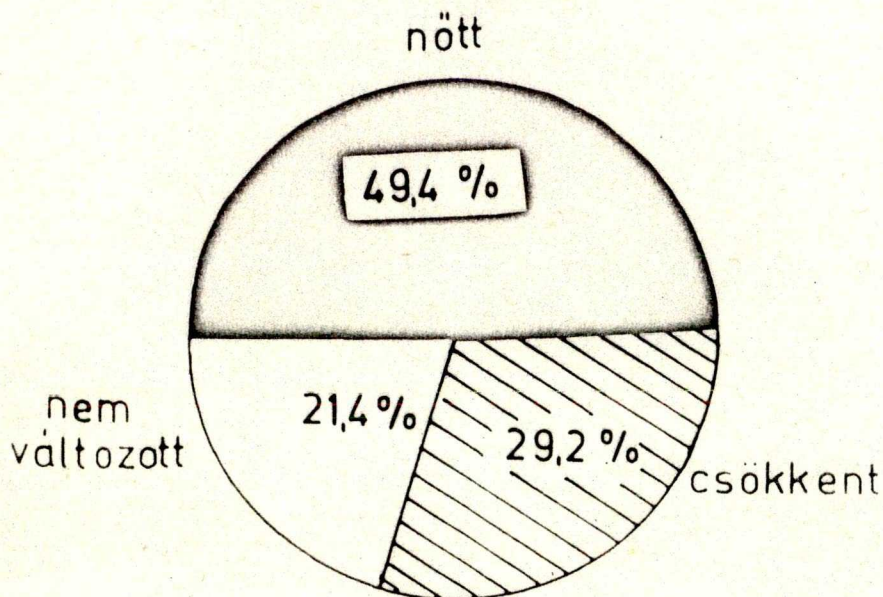
A posztetanus potenciálok előfordulási gyakorisága az esetek nagy részében nem mutatott különbséget a pre-tetanusokétól, ha azonban változtak, akkor a facilitáció dominált /24. ábra/.



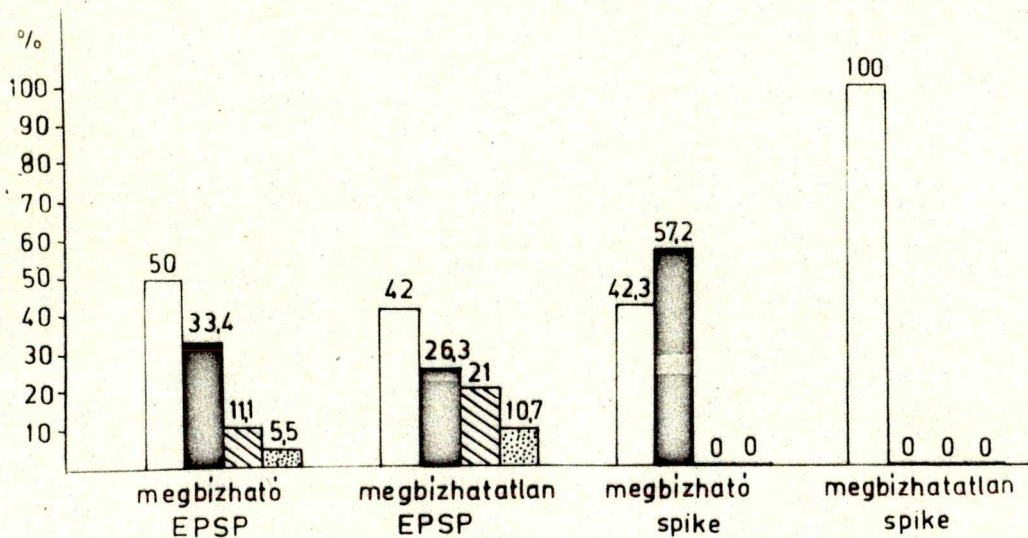
21. ábra Az előfordulási gyakoriság változásainak megoszlása ugrásszerű frekvenciaváltoztatás esetén. Jelöléseket ld. az előző ábrán.



22. ábra Az előfordulási gyakoriság változásainak megoszlása folyamatos + ugrásszerű frekvencianövelés esetén. Jelölések, mint a 20. ábrán.



23. ábra Az előfordulási gyakoriság változásainak aránya az összes vizsgált neuron figyelembevételével.



24. ábra A poszt-tetanusos potenciálok különböző viselkedésének százalékos megoszlása az egyes neuroncsoportokon belül. Az üres oszlopok a nem változó, a sötétek a facilitálódó, a vonalkázottak a depresszált sejtek arányát mutatják. A pontosított oszlopok jelzik a váltakozó viselkedésű neuronok viszonylagos számát.

IV. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE

A kiváltott potenciál keletkezési mechanizmusának megismerése megkívánja a kéreg felépítésének figyelembe vételét. Bremer /1968/ szerint ebből a szempontból a fő anatómiai jellemzők közül legfontosabbak:

a/ az elemek vertikális szerveződése a felszíntől a bazális fehér állományig és a neokortex hasábok különböző rétegei pyramis sejtjeinek különleges helyzete;

b/ a szenzoros kérgi mezők elsődleges aktivációja a IV. kérgi rétegben levő afferens rostok bőséges elágazásai által;

o/ a pyramis sejtek axonjainak kollaterális és rekurrens elágazásai által, valamint rövid axon-elágazásokkal létrehozott fő intrakortikális kapcsolatok jelenléte a különböző mélységekben. Megállapította, hogy a specifikus válasz pozitív és negatív hullámai kétségtelenül posztszinaptikus jelenségek reprezentánsai, azonban különböző érzékenységet mutatnak a helyileg alkalmazott görszeltőkkel és anesztetikumokkal, valamint az anoxiával szemben.

Maoska motoros kérgi neuronjainak a VL elektromos ingerlésére adott válaszaiban spike-kisüléseket találtak a mély negatív potenciál felszálló szárán, amikor a neuronális depolarizáció a kritikus szintet elérte. A thalamokortikális

utak poliszinaptikus felépítését a thalamusz-inger erősségével nem párhuzamosan változó kisülési latenciák bizonyították. Ezek a mikroelektrodos vizsgálatok azt mutatták, hogy a kezdő lassu hullám /mély negatív, felszín pozitív/ a kérgi interneuronok, valamint a pyramis sejtek és bazális dendritjeik csaknem szinkron helyi PSP-i, vagyis az agyba futó impulzusok megérkezésének jele. A thalamokortikális rostok nagyszámu preszinaptikus terminálisainak szinkron depolarizációja hozzájárulhat a potenciál megalkotásához, de ez nem lehet az egyedüli és főleg nem a legfontosabb alkotórésze a potenciálnak.

Bremer leszögezi még, hogy a szenzorosan és magában a kéregben kezdődött potenciálok a kéregfelszín alatt hasonló mélységekben lokalizálhatók.

Vladimirova és munkatársai /1968/ szerint vertikális vonal mentén haladva mikroelektroddal a szomatoszenzoros kéreg elsődleges projekciós zónái neuronjainak aktivitása nem egyforma. Nembutal narkózisban a regisztrált egységek 1/3-a az V. rétegben volt. Az anesztetikum eliminálódása után, kurarizált állaton a III. és IV. rétegben nőtt az aktiv egységek száma. Figyelembe véve a II. réteg egységeinek nagy sűrűségét, ennek relatív aktivitása rendszerint lényegesen kisebb volt, mint a többi rétegé.

A kiváltott potenciál felszíni pozitív, mély negatív főkomponense csak a vertikálisan orientált elemek membránján lezajló jelenségeket tükrözi.

Creutzfeldt és munkatársai /1966/a./ megállapították, hogy egy kísérleten belül a különböző sejtek válaszai alig térnek el, ezért egyetlen sejt reakciói is megfelelő reprezentánsként kezelhetők. Watanabe és Creutzfeldt /1966/a posztzinaptikus potenciálok vizsgálatából azt szűrik le, hogy a spontán és kiváltott PSP-k tulajdonságai nagy mértékben megegyeznek, továbbá, hogy a spontán PSP-k az affereus és kollaterális rost-aktivitás következményei.

Kísérleteimben az elsődleges EPSP-k a kiváltott potenciál felszín pozitív komponense felszálló szárának megfelelő latenciával jelentek meg, szummálódás folytán azonban későbbi fázisok alatt is regisztrálhatók voltak. Latenciadejük alapján egyaránt találtam mono- és polyszinaptikus uton kiváltott EPSP-eket. Magasabb frekvenciájú ingerlés esetén a neuronok egy részének EPSP-i megnövekedett latenciával jelentkeztek, ami a tetanizálás által működésbe hozott gátló mechanizmusok jelenlétét feltételezi. Az esetek egy részében tapasztalt tetanizálás utáni facilitáció nem függött attól, hogy a sejt a magasabb ingerfrekvenciára nagyobb, vagy kisebb előfordulási gyakorisággal válaszolt, így ennek mechanizmusa e kísérleti adatok alapján nem tisztázható.

A kiváltott potenciálok genezisének megismeréséhez hozzájárulhat az is, ha frekvenciafüggésük okát megtaláljuk. Mai anatómiai és fiziológiai ismereteink alapján, ha abból indulunk ki, hogy a kiváltott potenciál a kérgi neuronok

PSP-i szummálódásának tekinthető, a következő lehetőségekkel kell számolnunk.

a/ A szinaptikus hatások fokosökkenése

Li /1963/ a felszíni rekrutáló válaszokat vizsgálva megállapította, hogy pozitív összefüggés van a felszíni negativitás és az intracellulárisan regisztrált depolarizáció amplitúdója között. Creutzfeldt és munkatársai /1966/b./ is kapcsolatot találtak a felszíni negativitás és a sejt depolarizáció között. Kísérleteimben a PSP-k amplitúdója az ingerfrekvencia fokozására nem változott, ugyanakkor a kiváltott potenciál nagy mértékben csökkent. A szinaptikus hatások fokosökkenésének másik bizonyítéka a PSP-k előfordulási gyakoriságának csökkenése lenne. Kísérleti adataim azonban azt mutatták, hogy ezt a lehetőséget is el kell vetnünk.

b/ Szummálódó gátlás

Bremer /1968/ felhívja a figyelmet arra, hogy a kerek igazi gátló reakciói jelenlétének bizonyítékai még hiányosak és az ilyen reakciók vizsgálatánál figyelembe kell venni a valódi gátlás és a posztreakcionális refrakter stadium megkülönböztetésének nehézségét.

Creutzfeldt és munkatársai /1966/a./ a már említett munkájukban az IPSP-k tulajdonságait is vizsgálták. Megállapították, hogy a macska mozgatókérgén VL ingerlés hatására IPSP-k általában egyes ingerek, vagy közepes frekvenciájú erős ingerlés alatt vannak jelen, a felszíni pozitivitás alatt tűnnek fel és csúcsukat annak késői fázisa alatt érik el. Ez a pozitivitás elérheti az IPSP tartamát, de gyakran rá-

tevédik egy késői negativitás is, ami megfelel egy harmadik EPSP-nek az intracelluláris elvezetésben. Az első- és másodlagos EPSP-t is gyakran elfedi egy IPSP, különösen erős egyes ingerek esetében. Közepes ingerfrekvenciáknál mind a későbbi EPSP-k, mind a felszíni negativ válasz növekedik, míg az IPSP és a másodlagos felszíni pozitivitás csökken. 15-20/sec ingerlési frekvenciánál a felszín-negativitás szélesebbé válik és az IPSP-k eltűnnek.

Kísérleteim megerősítik ezeket a megfigyeléseket, ugyanis IPSP-eket csak néhány esetben regisztráltam s ezek 1 cps ingerlésnél jelentek meg. Ez kizárja a gátlás okozta amplitudócsökkenés lehetőségét.

o/ A PSP-k fokozódó deszinkronizációja

Az intracelluláris válaszok ugrásszerűen növelt frekvensebb ingerlésre bekövetkező deszinkronizációját néhány neuronnál megfigyeltem, de csak egy előzetes facilitáció után. A kiváltott potenciálok esetében az ennek megfelelő változást nem tapasztaltam, ugrásszerűen következett be az amplitudócsökkenés. A vizsgált neuronok alig 30 %-a csökkentette PSP-inek előfordulási gyakoriságát, ami még a deszinkronizáció jele lehet, így ezt a magyarázatot is elvethetjük. Figyelemre méltó Fox és O'Brien /1965/ munkája, akik amplitudóanalizátor segítségével összegezték két neuron spike-aktivitását és e' görbék a sejtekről regisztrált kiváltott unit potenciálok konturjait követték. Ebből arra következtet-

nek, hogy a kiváltott potenciál vagy a sejtek aszinkron szummált kisüléseiből ered vagy helyi és távoli /dendritikus/ tényezők kombinációjából adódik. Saját kísérleteim inkább utóbbi feltevésüket támasztják alá.

Fentiek számbavétele alapján kísérleteimből arra a következtetésre jutottam, hogy a kiváltott potenciálok genezisében a posztszinaptikus potenciálok alárendelt szerepet játszanak, s az alapvető mechanizmust más tényezőkben kell keresnünk.

V. ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérleteimben 33, Mebubarbitállal altatott macska VPL ingerlésre kiváltott szomatoszenzoros kérgi posztszinaptikus potenciáljainak frekvenciafüggését vizsgáltam intracelluláris elvezetésben. Megállapítottam, hogy a PSP-k tulajdonságai az esetek 70 %-ában eltérnek a párhuzamosan regisztrált felszíni kiváltott potenciáloktól, ezért ez utóbbiak keletkezési mechanizmusában előbbiek csak alárendelt szerepet játszhatnak.

VI. IRODALOM

- Bremer, F.: Cerebral and cerebellar potentials.
Physiol.Rev. 38. 357-388, 1968
- Creutzfeldt, O.D. and Kuhnt,U.: The visual evoked potential:
Physiological, Developmental and Clinical Aspects.
In: Cobb,W. and Morocutti,C.: The evoked potentials. Elsevier Publ. 1967
- Creutzfeldt, O.D., Watanabe,S. and Lux,H.D.: Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked responses after thalamic and epicortical stimulation. EEG olin. Neurophysiol. 20. 1-18, 1966 a
- Creutzfeldt, O.D., Watanabe,S. and Lux,H.D.: Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. II. Spontaneous and convulsoid activity. EEG olin. Neurophysiol. 20. 19-37, 1966 b
- Eccles,J.C.: The inhibitory pathways of the central nervous system. Liverpool University Press, 1969
- Fehér,O.: A hallókérgi kiváltott és görcspotenciálok keletkezési mechanizmusa. Doktori értekezés, Szeged, 1972
- Fox,S.S. and O'Brien,J.H.: Duplication of evoked potential waveform by curve of probability of firing of a single cell. Science, 147. 888-890, 1965
- Frank,K. and Becker,M.C.: Microelectrodes for recording and stimulation. In: Physical techniques in biological research. Ed. by W.L.Nastuk Academic Press, 1964

- Jasper, H.H. and Ajmone-Marsan, C.: A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. NRC of Canada, Ottawa, 1960
- Li, C.L.: Cortical intracellular synaptic potentials in response to thalamic stimulation. J. Cell. and Comp. Physiol. 61/2/. 165-179, 1963
- Li, C.L., Cullen, C. and Jasper, H.H.: Laminar microelectrode studies of specific somatosensory cortical potentials. J. Neurophysiol. 19. 113-130, 1956
- Vladimirova, I.A., Kosareva, V.Z. and Storozhuk, V.M.: An attempt to estimate the number of active neurons in the primary somatosensory cortex of the cat. Zsurnal Vűszsej Nervnoj Dejatelnoszti 18. 316-323, 1968
- Watanabe, S. and Creutzfeldt, O.D.: Spontane postsynaptische Potentiale von Nervenzellen des motorischen Cortex der Katze. Exp. Brain Res. 1. 48-64, 1966

TARTALOM

	Oldal
I. BEVEZETÉS.....	1
II. MÓDSZER.....	5
III. KISÉRLETI EREDMÉNYEK.....	7
1. A kérgi elektrográfias jelenségek jellem- zése.....	7
Membránpotenciál.....	7
Az EPSP-k tulajdonságai.....	8
IPSP-k regisztrálása.....	10
A spike-ok adatai.....	12
A kiváltott potenciálok frekvenciafüggése	14
2. A neuronális jelenségek frekvenciafüggése	16
Megbízható EPSP-k.....	17
Megbízhatatlan EPSP-k.....	19
Megbízható spike-ok.....	21
Megbízhatatlan spike-ok.....	23
Poszttetanikus hatások.....	25
Az EPSP- és spike-amplitudó frekvencia- függése.....	28
A kísérleti eredmények összegzése.....	28
IV. AZ EREDMÉNYEK MEGBESZÉLÉSE.....	32
V. ÖSSZEFOGLALÁS.....	37
VI. IRODALOM.....	38

Ezúton mondok köszönetet Dr.Fehér Ottó tanszékvezető egyetemi tanárnak, hogy Intézetében lehetővé tette disszertációm elkészítését, értékes elméleti és gyakorlati tanácsaival nagymértékben segítette munkámat.

Köszönöm Mráz Géza, Barna Ferencné, Homor Géza és Futó Gézáné szives segítségét.

