Diss. B 813

Kiváltott potenciálok frekvenciafüggése patkány halló agykérgén

/ doktori értekezés /

Mustárdy László

Készült a József Attila Tudományegyetem Állatélettani Intézetében Dr. Fehér Ottó vezetésével

S z e g e d

1972

JATE KÖZPONTI KÖNYVTÁRA
Folyóiratok
Szeged

Diss. B 813

Szegedi Tudományegyetem Könyvtár
SZEGED

Számos kutató érdeklődése irányult már az agy müködésére, különösen mióta modern elektrofiziológiai technika és egyre modernebb eszközök állnak a tanulmányozás szolgálatában. Ennek ellenére még nagyon kevés az egyértelmüen tisztázott kérdés, mely az analizis nehézségének tulajdonitható, mivel összetett válaszok keletkeznek a sürün elhelyezkedő neoronokban és neuronális elemekben. Az elemzést neheziti, hogy még ma sem lehet tökéletesen felállitani az agy mikrostrukturális képét és ezáltal csak következtethetünk az itt lejátszódó folyamatokra és ingerületvezetés útjára. Ilyen nehézségek mellett érthető, ha a kapott eredmények értelmezésében eltérések mutatkoznak, sőt nem ritka az olyan eset sem, amikor azonos jelenség magyarázatai ellentétben állnak, vagy teljesen kizárják egymást. Ezen utóbbi esetre jellemző a kiváltott potenciálok keletkezésére és terjedésére kialakitott nézetek. Az egyik nézet szerint kiváltott kétfázisú potenciál komponensei a serkentés két fázisát tükrözik tovaterjedve az egyszerü neuron egységekben a testtől a dentrit- végek felé. Ez a nézet főleg Grafsteintől és tsi.-tól származik, melynek alátámasztására a negativ komponens latenciájának fokozatos csökkenését irták le mélyebb rétegek felé. A másik elképzelés szerint kétfázisú válasz komponensei külön terjednek és keletkezésükért más-más strukturák

a felelősek. Ezen utóbbi nézet képviselői /Euler, Ricci, Purpura stb./ cáfolják a latencia csökkenést és ezenkivül az alábbi bizonyitékokat hozzák fel elképzelésük alátámasztására.

1. A két komponenst külön lehet regisztrálni, vagy az elvezető elektród, vagy az ingerlő elektród helyének megválasztásával.

2. Komponenseknek különböző küszöbértékeik vannak.

Ez a kétféle hipotézis tükröződik a direkt agykérgi ingerlésre kiváltott válaszok komponenseinek terjedésénél is. Ezek az elképzelések szorosan kapcsolódnak a thalamikusan kiváltott válaszok keletkezésére és terjedésére kialakitott nézeteihez, ugyanis az agyfelszinre kifutott válaszok szintén a molekularis rétegben kapcsolódhatnak át, igy a felszinen regisztrált válasz magába foglalja nemcsak a mélyben keletkező, hanem a felszini változásokat is.

A kérdés további tisztázása érdekében frekvenciafüggés tanulmányokat végeztem patkányon corpus geniculatum mediale ingerléssel. Az igy kapott potenciálok amplitudója exponenciális csökkenést mutat az ingerfrekvencia növekedésével. Ezt korábban habituació jelenségnek tartották, de a legelfogadhatóbb magyarázatot a synapsisokban létrejövő változás adja. Ez az elképzelés lehetőséget szolgáltat arra, hogy a kiváltott potenciálok egyes komponenseinek frekvenciafüggését figyelembe véve

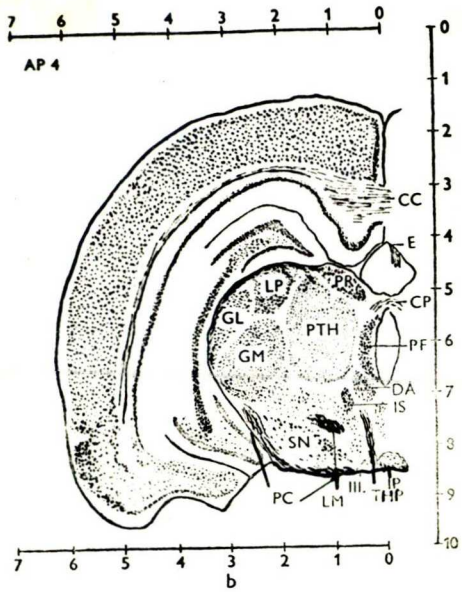
tanulmányozni lehessen a potenciálok terjedésének útját, mivel a korábbi értelmezések szerint a közvetlen agykérgi ingerlés negativ hulláma synapsisok által ingerelt apikalis dentritek válaszát mutatják oldal irányba haladva a molekularis rétegbe. /Ochs és Suzuki 1965. Ochs és Clarc 1967./ Az eredmények pontosabb körülhatárolása érdekében a kisérleteket gamma-aminovajsav /GAV/ L-glutaminsav és L-polyglutaminsav hatása alatt is elvégeztem, ezáltal következtetni lehetett nemcsak a terjedés mechanizmusára, hanem a potenciál komponensek keletkezési helyeire is.

E l j á r á s

A kisérleteket 40 db. felnőtt, mindkétnemü fehér patkányokon végeztem. Az altatás 10 %-os paraldehid 0.01 ml/gr i.p. adagjával történt. Az állatot elalvás után állatpadhoz rögzitettem, majd a fejtetőn a szőrt eltávolitva craniocaudális irányban a fejbőrt felvágtam. A bőrlebenyek kétoldali rögzitése után a lágyrészek eltávolitásával a csontot megtisztitottam. A temporális csontot gömbölyü-hegyü fogászati fúróval 5 mm-es kör mentén elvékonyitottam, majd szikével felfeszitettem. A trepanálás után csontcsipesszel a nyilást akkorára tágitottam, hogy az ingerlő és elvezető elektródot a stereotaxiás atlasz /Bures-Petrány-Zackar/ szerint elhelyezhessem, vigyázva arra, hogy a sinus sagittális meg ne sérüljön. A dura matert binocularis

nagyitó alatt vékony tüvel feltéptem, majd kis horgas végü csipesszel eltávolitottam. Sértett agyon kisérleteket nem végeztem. Az agy felszinét langyos, fiziológiás konyhasóval összerázott paraffin oldattal bevontam és az állatot 15-20 percig pihentettem.

A pihenést követően az állatot stereotaxiás készülékbe helyeztem, mely a koponyát három helyen rögzitette: A két meatus acusticus externusnál és a maxilla leszoritásával. A sutura sagittalist ugy állitottam be, hogy az a stereotaxiás febefogó középvonalában álljon, majd a maxillát addig emeltem, mig a bregma pont 1 mm-el magasabban nem állt a lambda pontnál. Ekkor a bregma pont jelenti a 0 pontot. Az elektródbefogóba DISA bipolaris /tü/-elektródot tettem ingerlés céljaira és ennek hegyét a bregma ponthoz érintettem. Az elektródbefogó skálájának koordinátáit ekkor a 0 pontra állitottam. Az ingerlő elektródot ezután a patkány stereotaxiás atlasza szerint a CGM-be szurta. /1. ábra/.



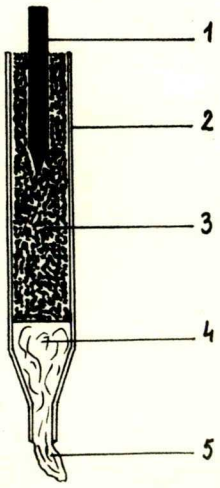
1. ábra. Patkányagy stereotaxiás képe 4 mm-es frontális metszetnél /Bures-Petrány-Zackar nyomán/ GM - corpus geniculatum mediale.

A patkány CGM koordinátái a következők:

Saggitális: 2,5
Frontális: 4
Vertikális: 6

A másik elektródbefogóba helyeztem az elvezető elektródot, melyet az elvezetéstől függően polározónak vagy nem polározó tipusunak választottam. Polározó elvezető elektródként ezüstgömb elektródot, mig nem polározó elektródként saját készitésü mangándioxid elektródot használtam. A mangándioxid elektródot a következőképpen készitettem: 10 cm hosszú műanyag cső végét

melegités közben elszükitettem, majd fiziológiás NaCl-ot tartalmazó agar-agar oldatba mártott kanócot helyeztem a csőbe, mely kb. 1 cm-re lógott ki az elkeskenyedett végen. Az agar megszilárdulása után a csővet mangándioxiddal töltöttem fel. /2. ábra/. Legjobban az elektrólitikusan előállitott MnO_2 felel meg a követelményeknek. Az elvezető végét szénrúd képezte, mely a mangándioxiddal érintkezett. Másik véget a cső végéhez rögzitettem. Mikor ilyen tipusu elektródot használtam, akkor indifferensként is hasonlót alkalmaztam, ügyelve arra, hogy ellenállásuk és elektródpotenciáljuk azonos, vagy közel azonos legyen.



2. ábra. MnO_2 nem polározó elektród, melyet DC elvezetés mellett alkalmaztam. 1 szénrúd, 2. müanyag cső. 3. MnO_2. 4. fiziológiás NaCl-ot tartalmazó agar-agar, 5. kanóc.

Polározó elektród alkalmazása esetén indifferensként csiptetőt fogattam a lefejtett izomlebenyre.

Az ingerlő elektród DISA Multistimhez csatlakozott. Az ingerlés izoláló transzformátoron keresztül történt, így az artefaktum a regisztrálást nem zavarta. Az inger frekvenciáját 0,05-től 10 cps között változtattam. Egyik kisérletben, amikor a teljes restitucios időt határoztam meg, kettős ingerlést alkalmaztam és a két inger közötti időtartamot 50 - 500 msec között változtattam a teljes potenciálnagyság visszanyeréséig. Az ingerárram erőssége 15 V volt, figyelembe véve az ingerlő elektród magas ellenállását.

Az elvezető elektródon felfogott potenciál DISA Universál Indicátor erősitő-rendszerén keresztül jutott az osciloszkóp képernyőjére, amelynek erősitése 0,6 - 0,8 mV/cm nagyságrendü volt. A potenciálokat Cassor filmfelvevővel regisztráltam. Állóképek felvétele esetén az idő alap és az inger szinkronját úgy állitottam be, hogy lehetséges legyen több pontenciált is egymásra fényképezni. Igy egy kép mutatja, mind az egyéni válaszok mindegyik variációját, mind a tipikus alakjuk átlagát. A pont élességét csökkentettem annyira, hogy nagyon gyenge görbéket huzzon a filmre, igy azokon a helyeken, ahol a görbék legsürübben fedik egymást, ott a leghatározottabb a potenciál alakja. Ezeken a részeken végeztem a potenciál nagyságára vonatkozó méréseket.

Mozgó filmfelvétel esetén a sugarat megállitottam és nyitott zárral 5-10 potenciált regisztráltam. Ezek kiértékelésénél minden potenciált lemértem s azokat átlagoltam.

A potenciálokat úgy választottam meg, hogy azok tipikusan két fázisuak legyenek. Ez a következőképpen állitható be: A CGM-be szúrt ingerlő elektródot fixen tartva az elvezető elektródot lépésről lépésre addig mozgattam, mig a kedvező potenciál alakot nem kaptam. /Euler, Ricci/. A potenciál beállitása után az állatot ismét pihentettem a kisérlet megkezdéséig.

A frekvenciafüggés kisérletek három fázisban történtek.

1./ Alapfrekvenciafüggés megállapitása

2./ Különböző anyagok módositó hatásának vizsgálata

3./ Lemosás utáni frekvenciafüggés megállapitása.

A kisérletekben szereplő anyag felvitele az agyra hagyományos módon történt: 1-2 mm^2-es szűrőpapirba itatva az elvezető elektród közelébe helyeztem el. A lemosást langyos fiziológiás sóoldattal végeztem. Az egyes kisérletek lezajlása után a preparátumot 10-15 percig pihentettem.

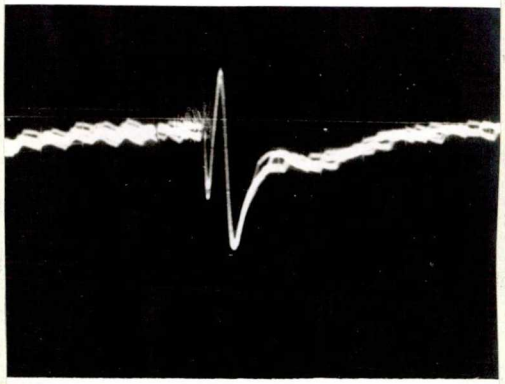
Az eredmények ábrázolása koordináta rendszerben történt. Restituciós kisérletek esetén az ordinátán az eredeti potenciál nagysághoz viszonyitott százalék, az abszcisszán a kondicionáló és teszt inger közötti idő van feltüntetve.

Frekvenciafüggés kisérletek esetén szemilogaritmikus papirt alkalmaztam a potenciálok ábározlására. Ekkor a miliméteres beosztásu ordinátára a potenciálók amplitudója kerül mV-ban, mig a logaritmikus beosztásu abszcisszám a két egymást követő impulzust elválasztó időt ábrázoltam a különböző frekvenciáknál.

Minden kisérlethez külön patkányt használtam a vizsgált anyagok esetleges utóhatásának elkerülése végett.

E R E D M É N Y E K

A CGM ingerlés esetén az elsődleges hallókéregről kapott regisztrátumok egy felszin pozitiv kitéréssel kezdődnek melynek latenciája 2 msec-on belül esik az inger-betörés után. Ezt azonnal egy felszin negativ hullám követi. Ennek a tipikus kétfázisu hullámnak feszültsége 3-3,5 mV-nak adódott, melyen belül az egyes komponensek feszültsége nagy szórást mutat. /3. ábra./



3. ábra. Tipikus kétfázisú potenciál. Felfelé a pozitiv, lefelé a negativ komponens látható.

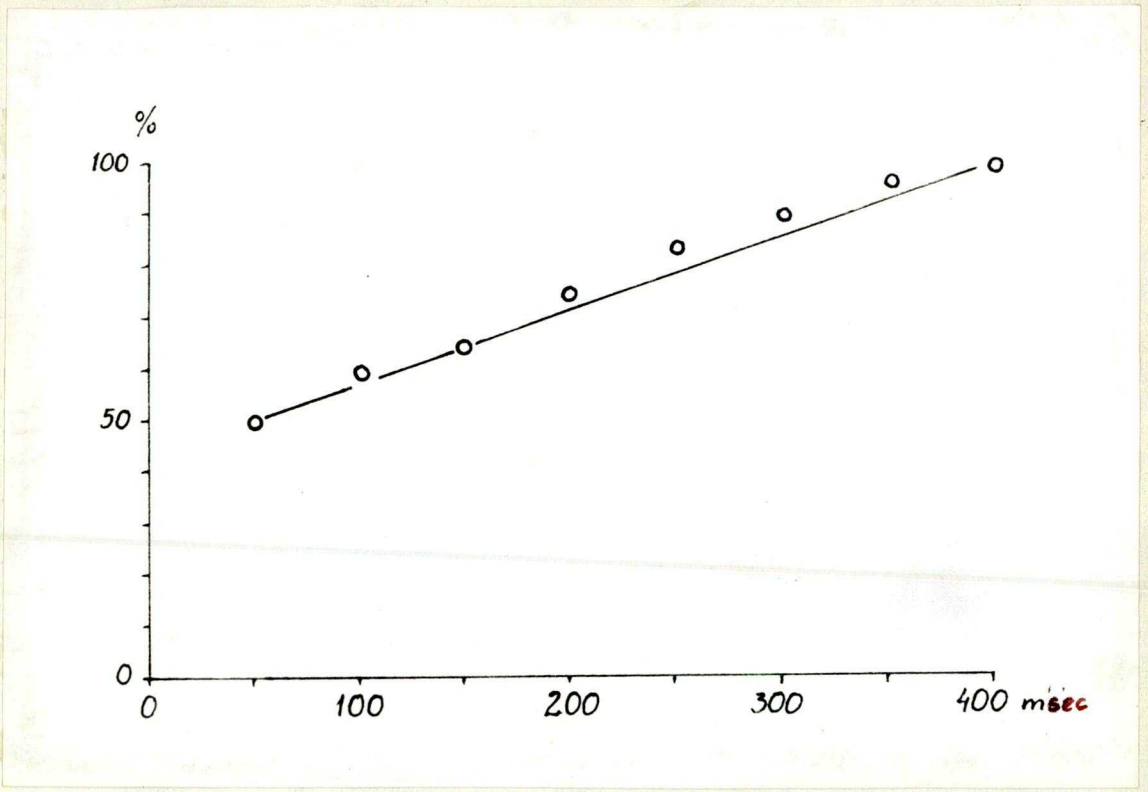
Egyezésben Euler és Ricci /1956/ által kapott eredményekkel ezen potenciáloktól nagy eltérések találhatók konfiguráció tekintetében. Az elvezető elektród minimális mozgatásával a hallókéreg felszinén a potenciálok különböző tipusait lehet kapni. Egyes helyeken a válaszok tulnyomóan pozitivak a késői negativitás nyoma nélkül, más helyen csak negativitást lehet regisztrálni megelőző pozitivitás nélkül. Ugyanez a változás figyelhető meg, ha az elvezető elektródot fixen tartjuk az agy felszinen és az ingerlő elektród helyét változtatjuk a CGM-ben.

Frekvenciafüggés kisérleteknél tipikus kétfázisu hullámot használtam, mivel ezeken lehetséges megálla-

pitani az egész potenciál és ezzel egyidőben az egyes komponensek frekvenciafüggését.

A kisérletek első fázisában ezen kétfázisu hullám restituciós idejét határoztam meg, mely nemcsak a kisérleti biztonságot, hanem Euler és Ricci /1954/ által kapott eredményekkel való összevetést is szolgálta. A meghatározást kettős ingerléssel végeztem. Az első, kondicionáló inger után a potenciál teljes egészében megjelenik, s maximális feszültségü, mig a második, test sock után potenciál a két inger közötti időtől függően csökkent.

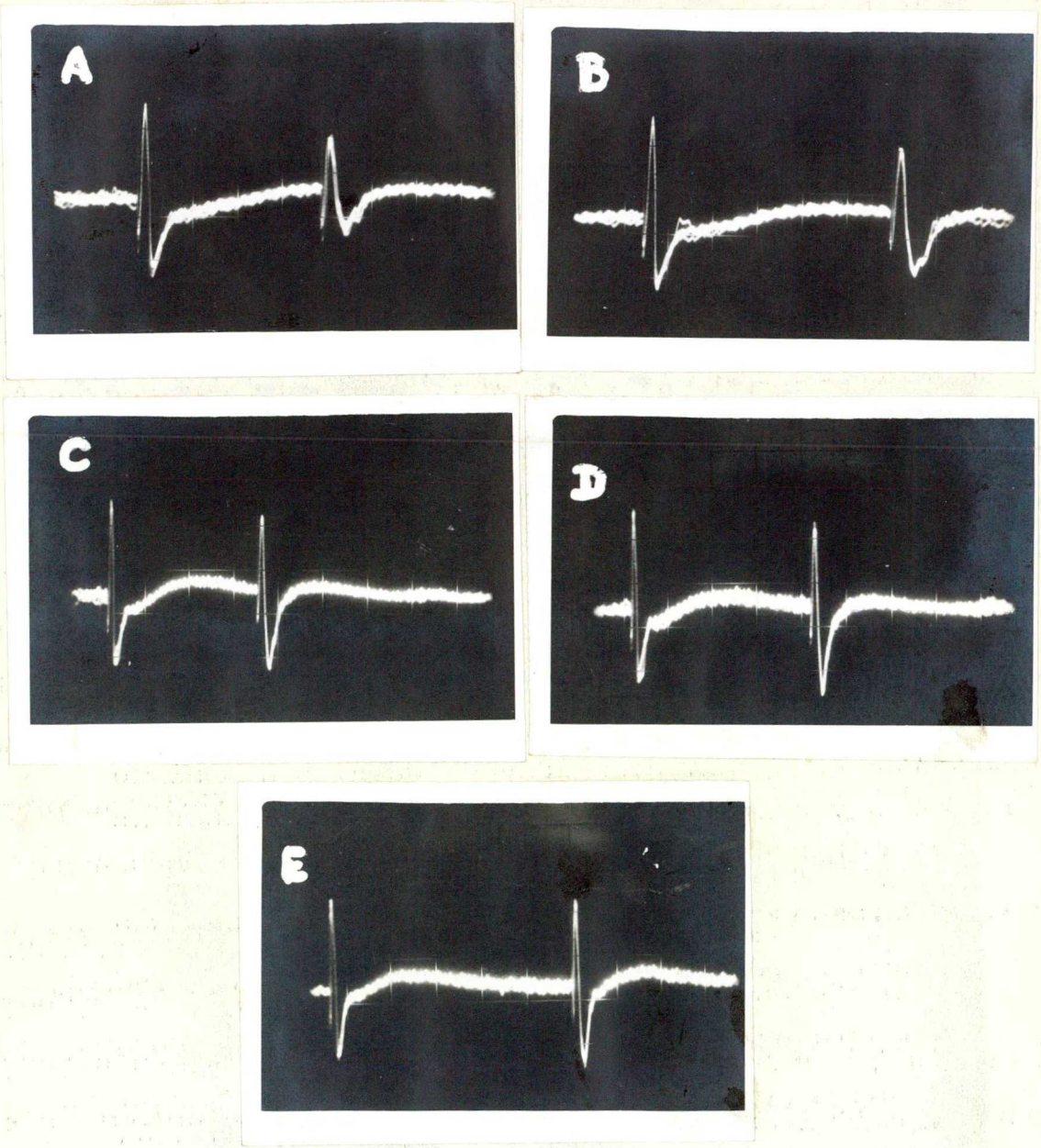
A kondicionáló és test inger között a legrövidebb időt 50 msec-nek választottam és ezt fokozatosan 50 msec-ként növeltem a potenciálnagyság teljes restituciójáig. A 4. ábrából kitünik, hogy a kondicionáló és a test inger közötti idő és a restitució között lineáris összefüggés áll fenn a teljes potenciálra vonatkozóan. Az egyes komponensek viselkedésében eltérések mutatkoznak, melyek egyeznek az Euler és Ricci eredményeivel, amelyek értelmében a két komponens nem szükségképpen változik együtt. 50 msec. után a pozitiv és negativ komponens egyaránt subnormalitást mutat. A pozitiv komponens fokozatosan növekszik, a kondicionáló inger utáni idő hosszabbodásával a teljes restitució beálltáig. A negativ komponens 100 msec. körül eléri a kondicionáló inger negativ komponensének nagyságát, majd 150-300 msec. között supernormális, utána ismét



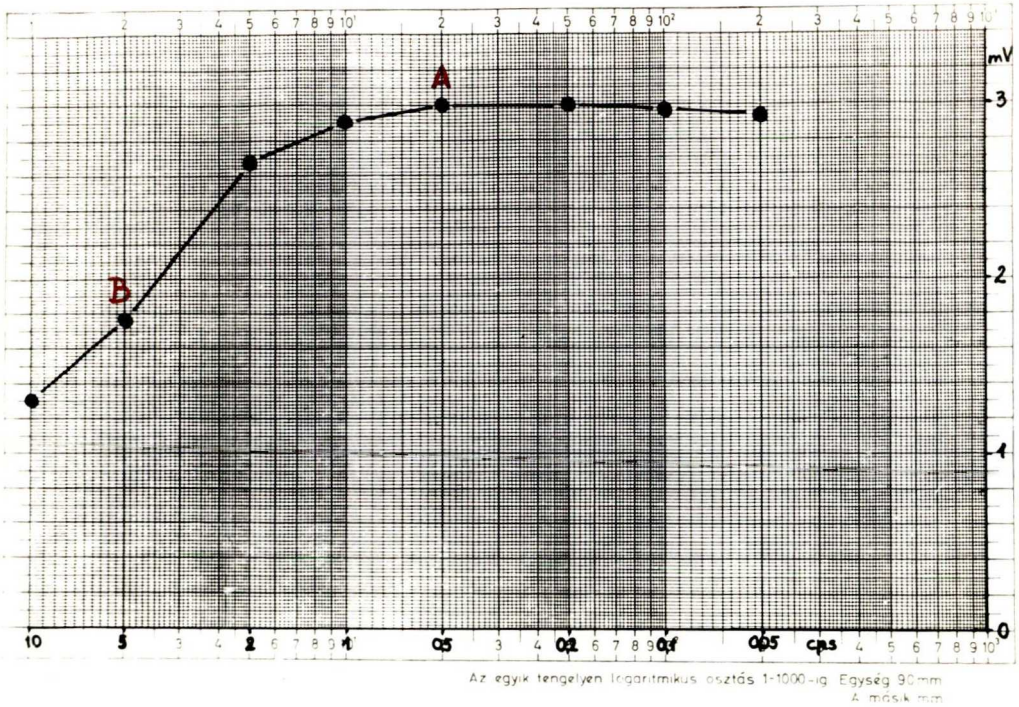
4. ábra. Kiváltott potenciál restitucióS görbéje. Az ordinátán a teszt potenciálhoz viszonyitott százalék, az abszcisszán a két inger közötti idő van feltüntetve.

csökken. A teljes restitucció 300-400 msec. között áll be. /5. ábra./

A frekvenciafüggés kisérletek alapjául Fehérnek /1970/ macskán végzett kisérletei szolgáltak. A CGM-re adott ingerek frekvenciáját 0.05 cps-től 10 cps-ig fokozatosan növeltem, amelynek következtében kiváltott potenciálok exponenciális csökkenést mutatnak. Ezt a jelenséget korábban habituációnak tartották. A potenciálokat koordináta rendszerben ábrázolva megkapjuk a a frekvenciafüggés görbéjét. /6. ábra./



5. ábra. Restitucios kisérletekről készült regisztrátumok. /1/ 50 msec, /2/ 100 msec, /3/ 150 msec, /4/ 200 msec, /5/ 250 msec időtartam a két inger között.



6. ábra. Szabályos frekvenciafüggés görbe.
/Leirását lásd a szövegben/

E görbén jól látható, hogy alacsony frekvenciáknál a potenciálok nagysága nem változik, sőt egy bizonyos fokú növekedés figyelmető meg 0.3-0.5 cps-ig, utána lassan majd erősen esni kezd a görbe. Azt a pontot, ahol a görbe hanyatlani kezd, felső inflexiós pontnak nevezzük. /A/

5-7 cps-nél ismét egy lassabban csökkenő szakasz következik. Azt a pontot, ahol a görbe meredeksége csökken alsó inflexiós pontnak nevezzük. /B/

Ez a szabályos frekvenciafüggés görbe az egész potenciálra vonatkozik. Ezen belül az egyes komponensek különböző mértékű változásokat mutatnak. Növekvő frekvenciákra a negativ komponens erőteljes csökkenést mutat, míg a pozitiv komponens amplitudója egyáltalán nem, vagy csak minimális mértékben függ az inger frekvenciájától.

Ha a potenciálok csökkenésének okát keressük növekvő ingerfrekvenciák esetén az alábbi lehetőségek merülnek fel ennek magyarázatára:

1. Fokozott ingerhatásra gátlás alakul ki, mely csökkenti a válaszadó képességet.

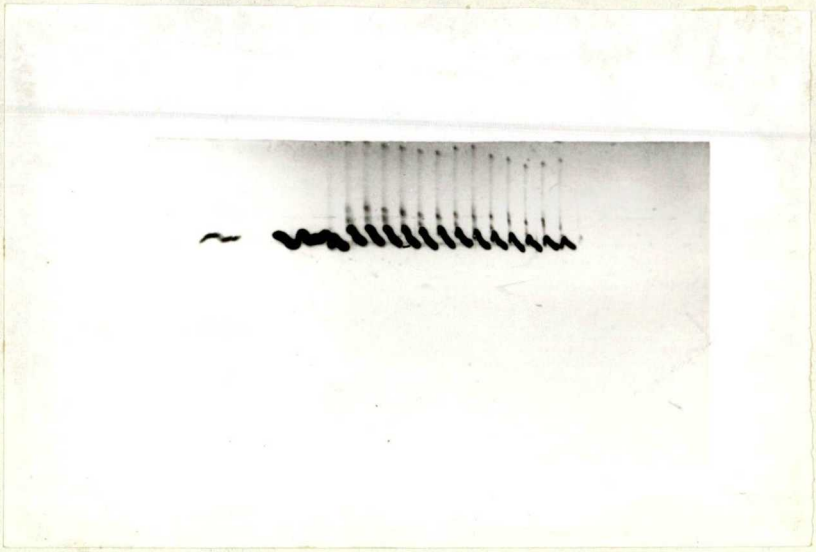
2. Fokozott ingerlés maga után von bizonyos depolarizációt, így a nyugalmi potenciál megnő és ez a következő ingerre adott válasz csökkenését hozza.

3. Synapsisokban létrejövő folyamatok vezetnek a potenciál csökkenéséhez.

Az első hypothezist cáfolni látszanak a strychininnel végzett kisérletek /Fehér, 1971/, ugyanis a strychnin kiküszöböli az agykérgi gátlás nagy részét, de ennek ellenére a fentebb leirt frekvenciafüggés fennmarad.

Másik magyarázat alátámasztására, vagy elvetésére a frekvenciafüggést DC elvezetéssel vizsgáltam és az elvezető elektródként nem polározó MnO_2 típusút választottam. Lassú sugárfutás mellett regisztrálva

az egyes frekvencia sorozatokat azt tapasztaltam, hogy nagyobb frekvenciák esetén nem tolódik el a DC szint, tehát kiváltott potenciálok után fokozott ingerlésre sem alakul ki depolarizáció vagy hyperpolarizáció. /7. ábra./



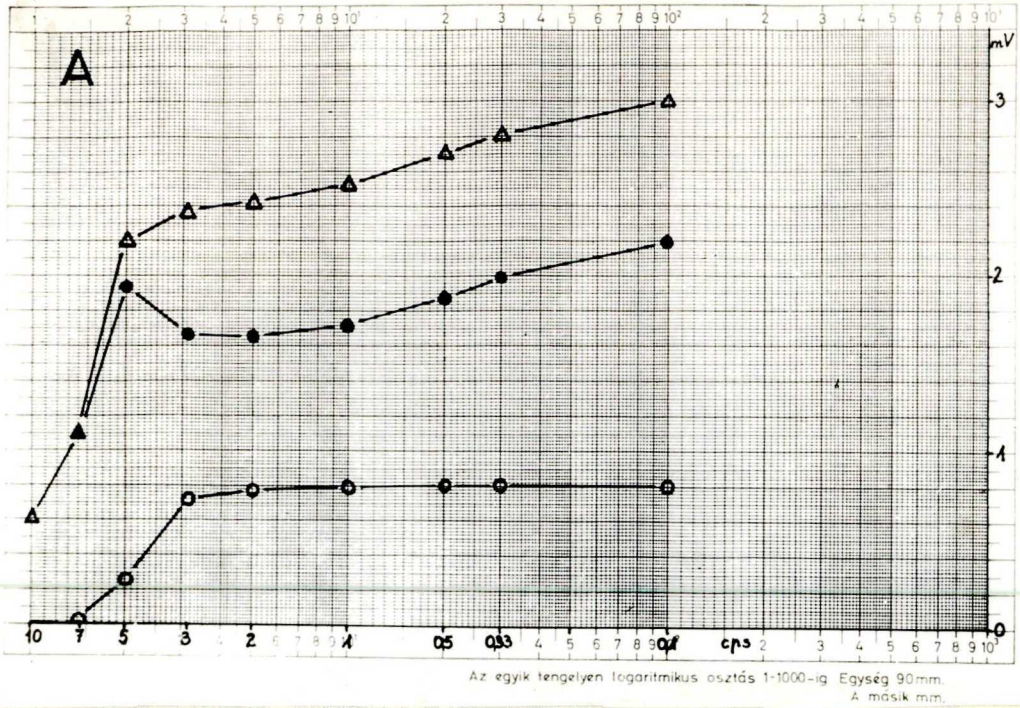
7. ábra. Lassú sugárátfutás mellett regisztrált frekvenciasorozatok.

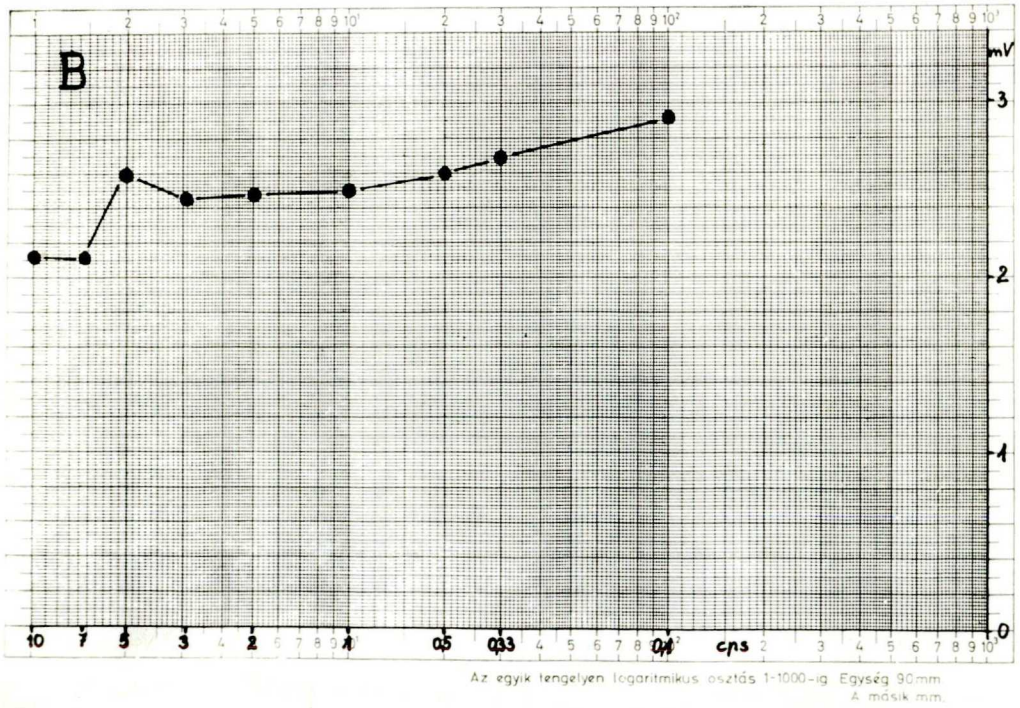
Ezen kisérletek kizárják az első két feltevést és arra utalnak, hogy synaptikus folyamatok felelősek a frekvenciafüggés létrehozásáért. Ennek további tisztázására olyan anyagok hatását vizsgáltam, melyek synaptikus folyamatokra és a membránra hatnak. Ilyen anyag a gamma-aminóvajsav /GAV/, L-glutaminsav és

L-polyglutaminsav. A GAV membrán stabilizáló és synaptikus gátló hatása jól ismert az irodalomban. Az L-glutaminsav /A. van Harreveld 1960./ és L-polyglutaminsav /én vizsgáltam először/ feltehetően membrán depolarizáló. Ezen anyagok hatására történt változás a pozitiv és negativ komponens frekvenciafüggésére vonatkozóan további bizonyitékokat szolgáltathat az egyes potenciál komponensek keletkezésére és terjedésére.

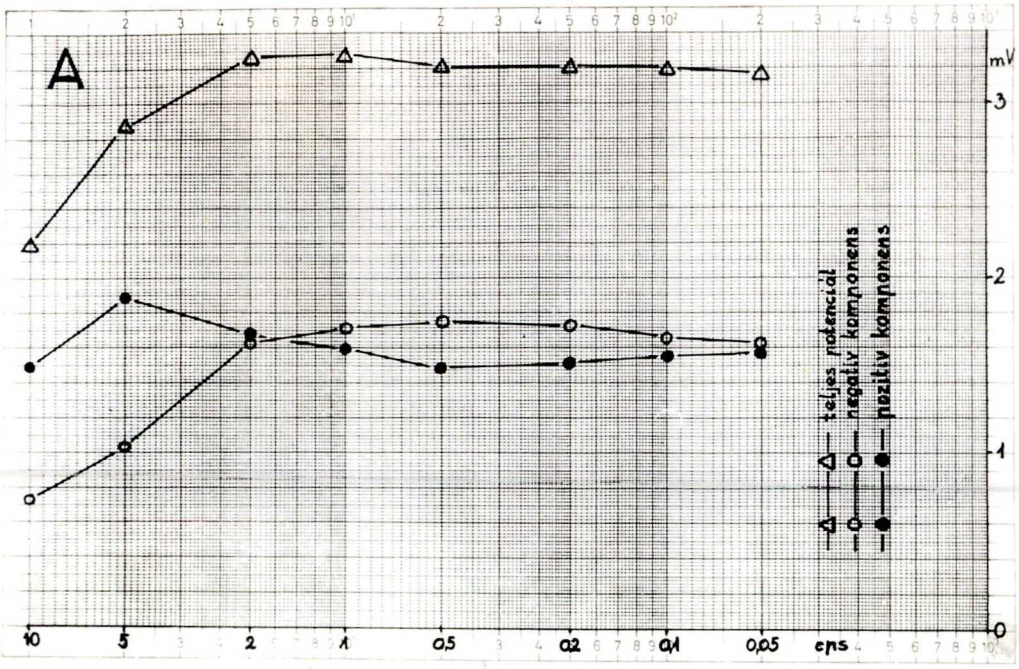
GAV 2 %-os oldatát applikálva az agy felszinére jelentős változást idéz elő CGM ingerlésre kiváltott potenciálok alapjában és ezáltal az egész frekvenciafüggés görbén. 2 %-os GAV hatására a negativ komponens teljesen eltünik és ezzel párhuzamosan a pozitiv hullám megnő /8. ábra/. A görbe lefutásából kitünik, hogy a pozitivitás fokozódása közel olyan mértékü, mint a negativ komponens. A görbe lefutása azonos, marad az inflexiós pontok módosulása nélkül. GAV 1/2 %-os oldatát alkalmazva ez a változás kisebb mértékü. A negativitás nem gátlódik teljesen, csak csökkent, a pozitiv komponens csak kisebb mértékben nő az inflexiós pontok nem tolódnak el /9. ábra/. A GAV hatása koncentrációjától látszik függeni.

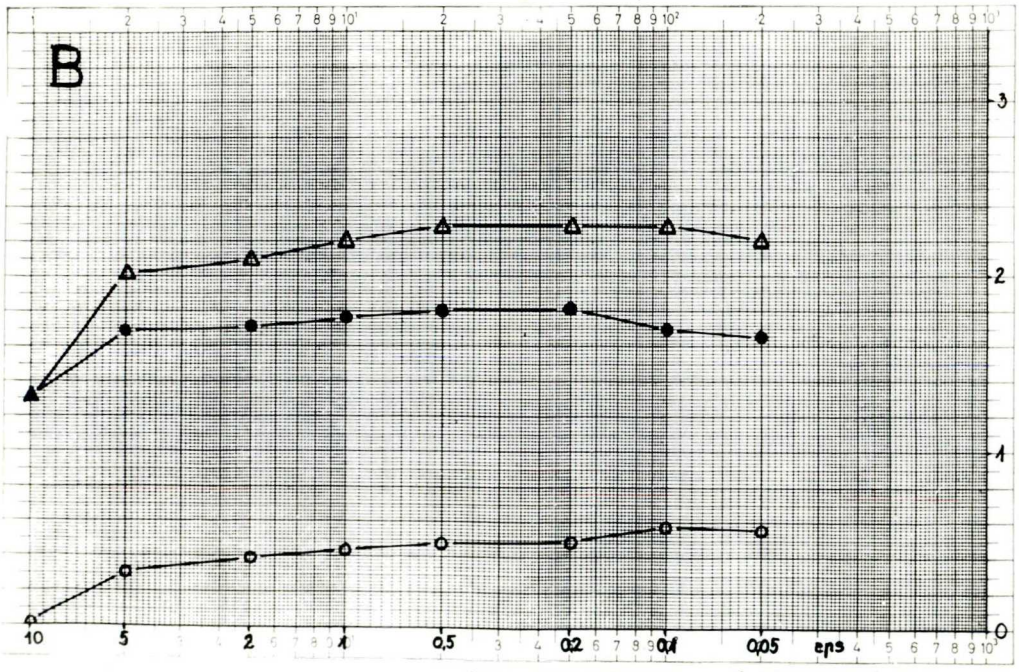
1 %-os L-glutaminsav hatása sokkal egyöntetübb, ugyanis mind a pozitiv, mind a negativ komponensre gátló hatást fejt ki. Hatása alatt kapott frekvenciafüg-



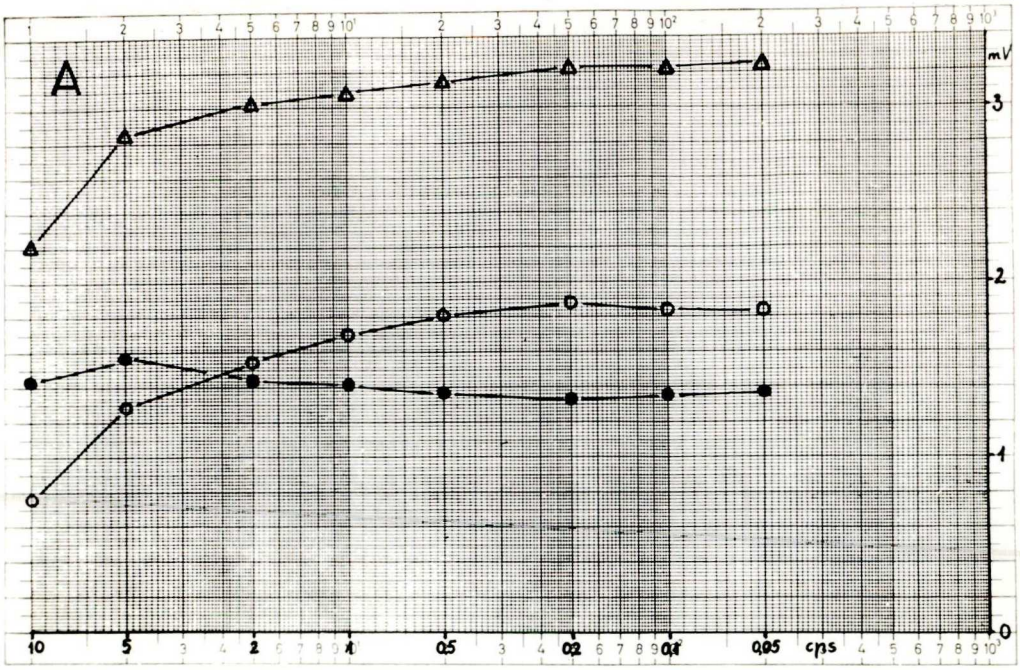


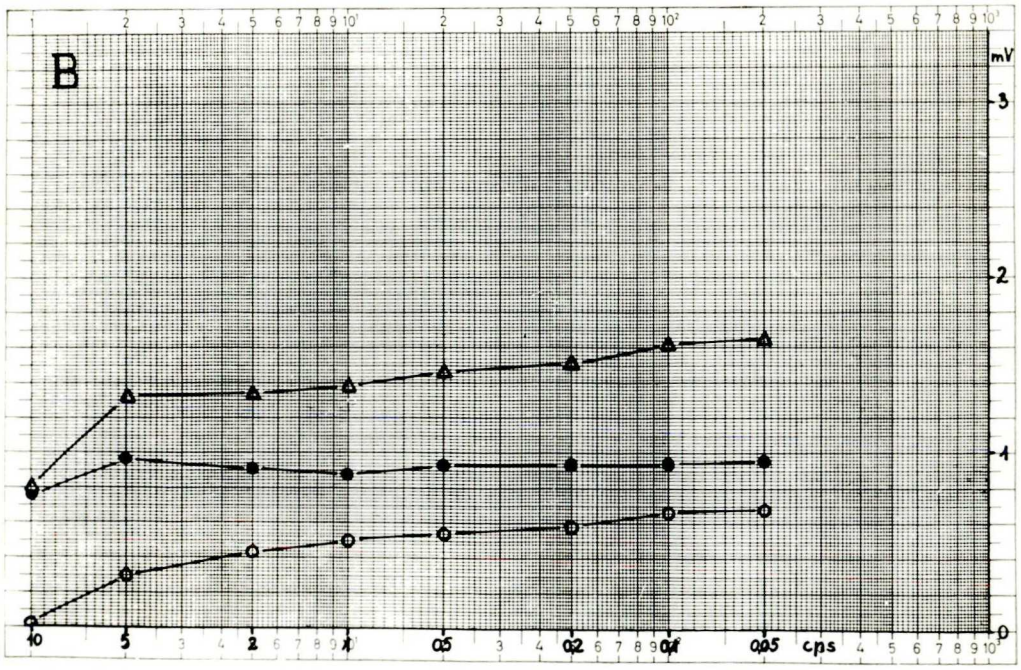
8. ábra. 2 %-os GAV hatása a kiváltott potenciál komponensekre. A. alapgörbe, B. 2 %-os GAV hatására bekövetkezett változás. Az ábrán a teljes potenciál /háromszögekkel jelzett/ ezen belül a pozitiv komponens /telt körök/ és negativ komponens /karikák/ frekvenciafüggése van feltüntetve.





9. ábra. Fél %-os GAV hatása kiváltott potenciál komponenseire A. alapgörbe B. 1/2 %-os GAV hatása /Jelmagyarázat a 8. ábrán./

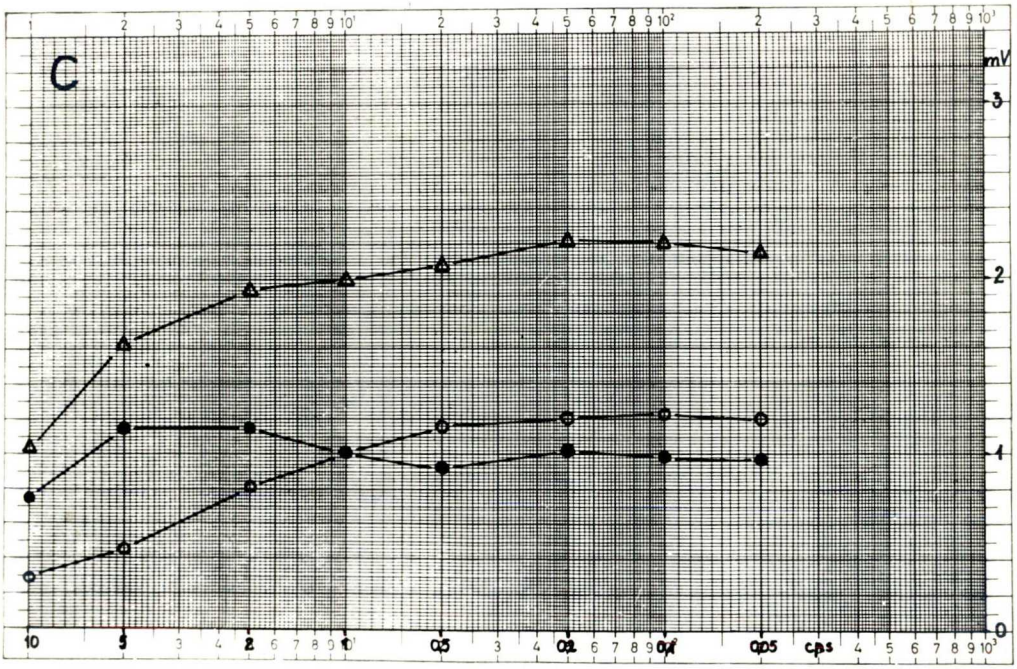




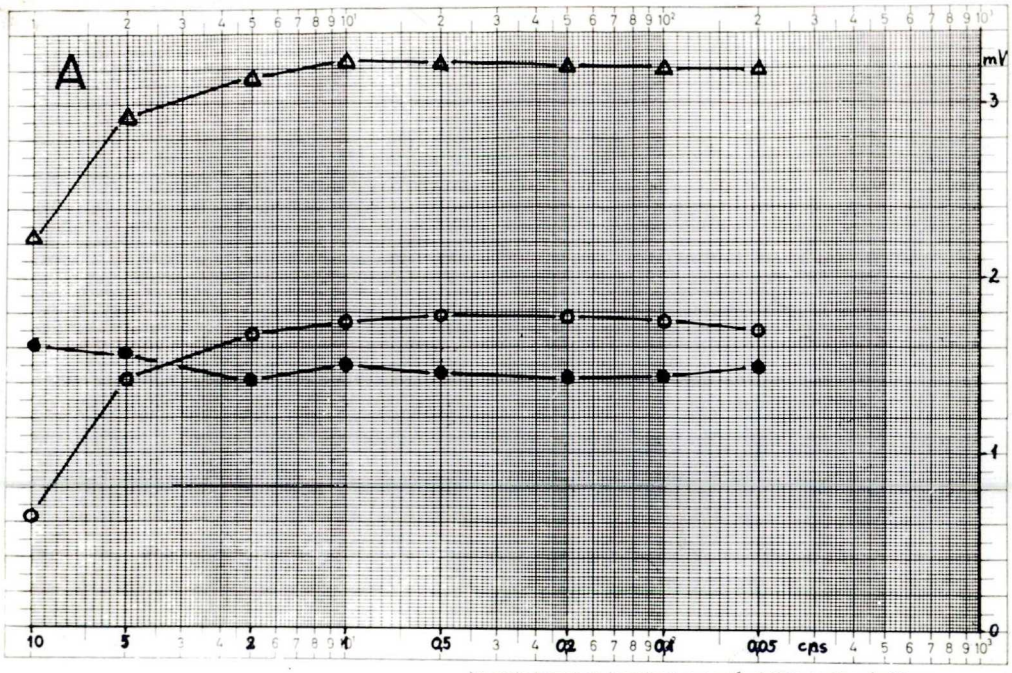
10. ábra. 1 %-os L-glutaminsav hatása kiváltott potenciálok komponenseire. A. alapgörbe. B. anyaghatás utáni görbe. /Jelmagyarázat a 8. ábrán./

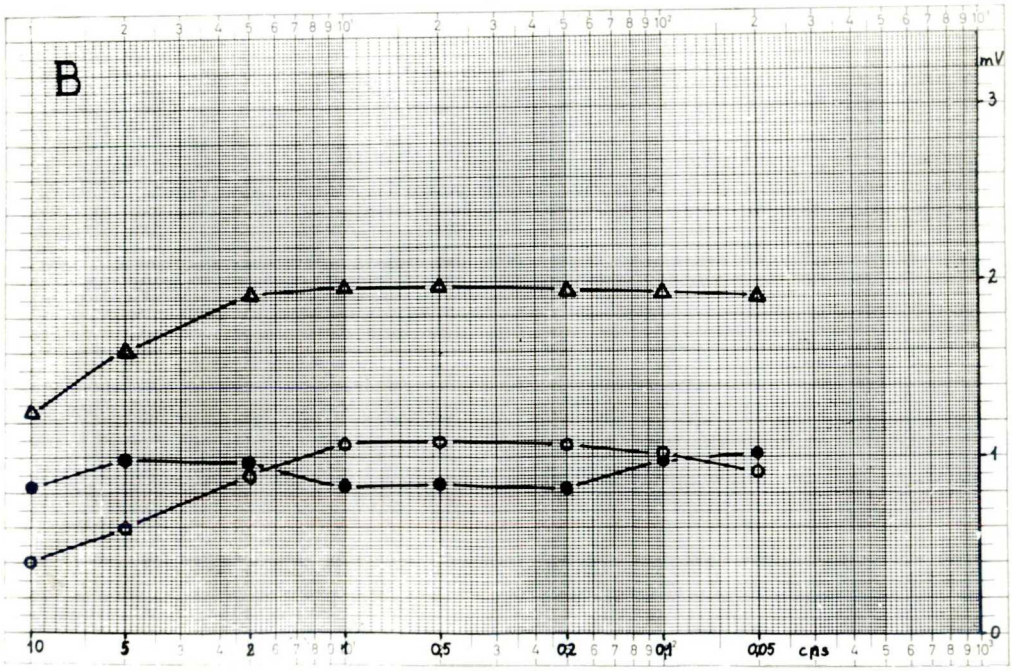
gés görbe ellaposodik, ezen belül a két komponens közel egyforma csökkenést mutat /10. A.B. ábra/. A görbe párhuzamos lefutású, kontroll görbével, az egyes komponensek tekintetében is. Az inflexiós pont helyét ez az anyag sem módositja. Lemosás után a görbe emelkedni kezd, az emelkedés erőteljesebb negativ komponens esetében /10. C. ábra/.

Hasonló eredményeket kaptam meg 1 %-os L-polyglutaminsav esetében is. /11. A.B.C. ábra/

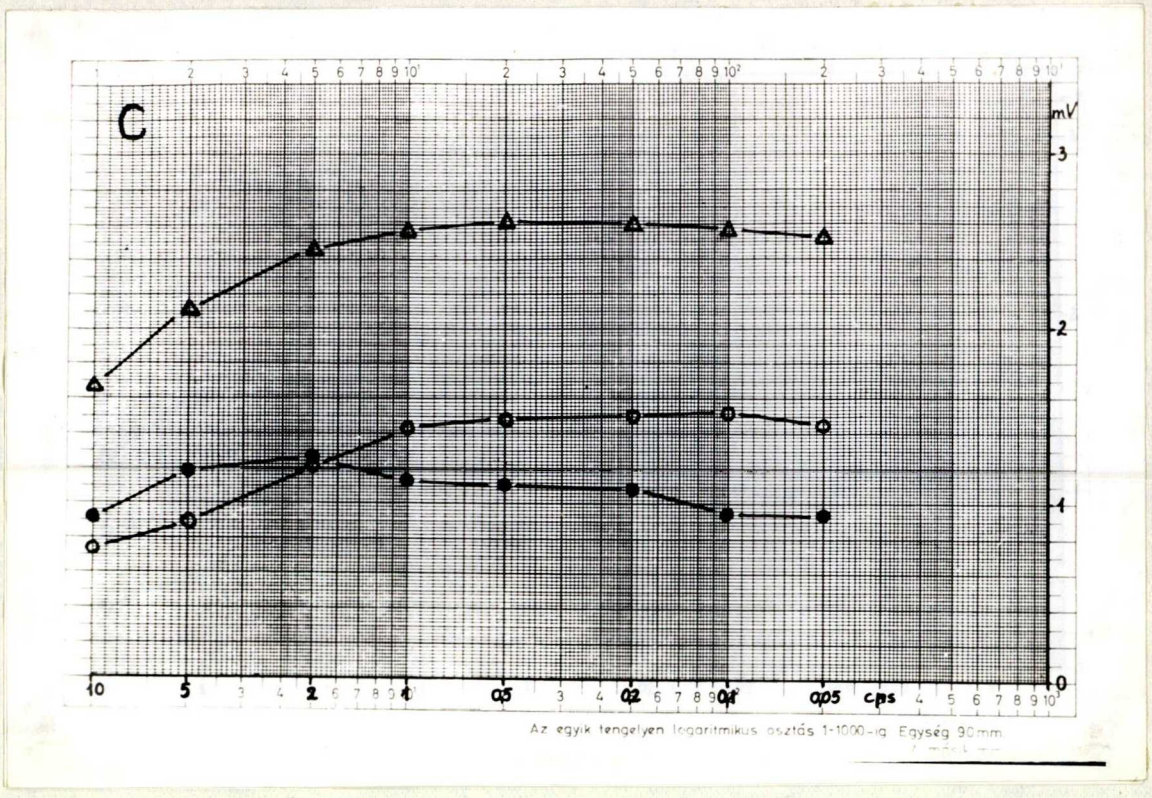


10. C. ábra. 1 %-os L-glutaminsav lemosása után kapott frekvenciafüggés görbe. /Jelmagyarázat a 8. ábrán/





11. ábra. 1 %-os L-polyglutaminsav hatása kiváltott potenciál komponenseire. A. alapgörbe B. anyaghatására nyert görbe. /Jelmagyarázat a 8. ábrán/



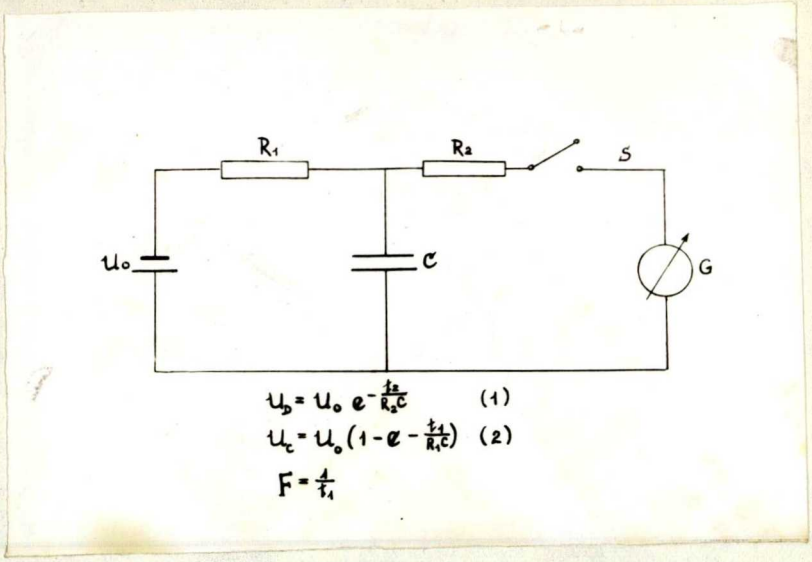
11. C. ábra. 1 %-os L-polyglutaminsav lemosása utáni frekvenciafüggés görbe. /Jelmagyarázat a 8. ábrán/

Megbeszélés

Patkányon CGM ingerléssel kiváltott potenciálok frekvenciafüggése megegyezik Fehérnek /1971/ macskán kapott hasonló eredményeivel. Ezekből kitünik, hogy a magasabb /1.0-10.0 cps/ ingerfrekvenciákra kapott potenciálok amplitudócsökkenése a synapsisokban lévő transmitter raktár kimerüléséből származik. Ezen elmélet alátámasztására Fehér és Hunya /1971/ modellrendszert dolgozott ki, mely analógizálni képes a synapsi-

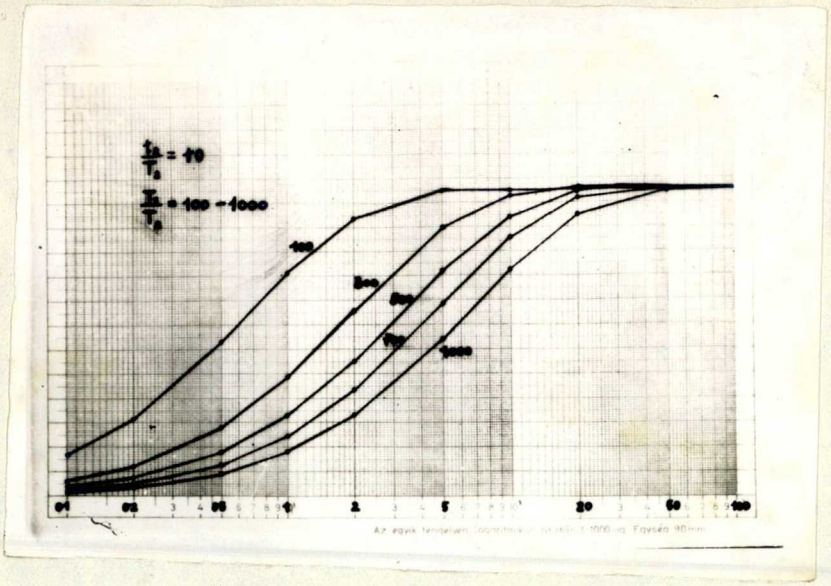
sokban létrejövő ilyen jellegü változásokat. A modell kiindulási alapját a következő előfeltételek képezik. A regisztrált potenciál azon post-synaptikus potenciálok /p.s.p./ összege, melyeket a thalamocorticalis végződéseken felszabaduló transmitter anyag kelt a IV-V. rétegbeli kérgi neuronokon, igy a regisztrált potenciálok amplitudója összefüggésben van az őt kiváltó transmitter anyag mennyiségével. A végződések ingerületi állapota mindig és mindenütt azonos ideig tart s egy-egy ingerlésre a transmitter mennyiség azonos hányada szabadul fel.

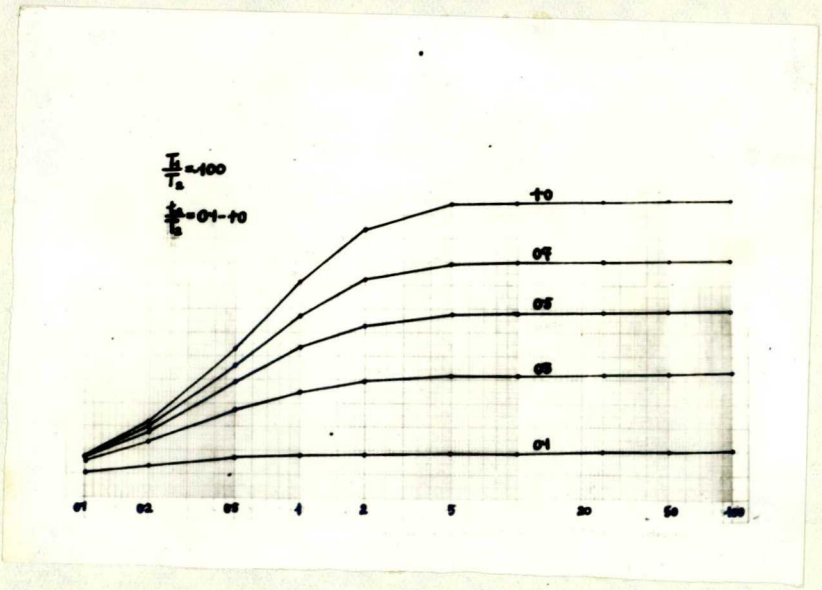
Ezen előfeltételek alapján a modell lényege a következő: Egy C kapacitású kondenzátor, mely R_1 ellenálláson keresztül töltődik fel és R_2 ellenálláson keresztül sül ki. /12. ábra/ A kondenzátor felel meg a synapsis transmitter raktárának, melynek egy bizonyos hányada inger hatására felszabadul /kisül/, nyugalmi stádiumban ujraképződik /feltöltődik/. Ha a kondenzátort fokozott frekvenciával sütjük ki az a kisülések közötti időben egyre kevésbé képes feltöltődni és egyre csökkenő feszültséget ad a kisülések esetén. Az elmélet szerint a synapsisok is hasonlóan müködnek. Ezt a feltevést igazolják a modellen végzett számitógépes vizsgálatok, melyek hasonló frekvenciafüggés görbéket adnak az in vivo rendszerével. Az analógiát kihasználva lehetőség nyilt a rendszer egyéb paramétereinek meghatározására. A kisérletek folyamán megállapitást nyert,



12. ábra. Synaptikus frekvenciafüggésre kialakitott modell vázlata. /Fehér-Hunya nyomán. Jelmagyarázat a szövegben/

hogy az inflexiós pont eltolódását milyen komponensek befolyásolják. Ennek értelmében az alábbi eredményeket kapták. Ha a töltőkör /T_1/ és a kisütőkör /T_2/ időállandójának hányadosát /$\frac{T_1}{T_2}$/ 100 és 1000 között változtatták, az inflexiós pont a hányados növekedésével arányosan balról jobbra tolódik. Más szóval az R_1 ellenállás növekedése a görbe jobbra tolódását eredményezi. Ha viszont a kisülési időt /t_2/ és a kisütő kör állandójának /T_2/ hányadosát /$\frac{t_2}{T_2}$/ változtatták a többi paraméter változatlanul hagyása mellett 0,1-1,0 értékek között a görbe meredeksége nőtt az inflexiós ponton helyének módosulása nélkül, vagyis a R_2 érték csökkenésével nő a görbe meredeksége. /13. ábra/





13. ábra. Géppel számitott frekvenciafüggés görbék az ábrán jelzett paraméterek mellett. /Fehér-Hunya nyomán/

A fent leirt kisérletekből kiindulva külön vizsgáltam a patkány CGM ingerlésére kapott potenciálok egyes komponenseinek viselkedését. Frekvenciafüggés tekintetében az egyes komponensek nagy eltérést mutatnak.

Az ábrán jól látható, hogy a negativ komponens frekvenciafüggése jóval nagyobb, mint a pozitiv komponensé, sőt egyes esetekben a pozitiv komponens amplitudója egyáltalán nem változik az ingerfrekvencia növekedésével. GAV hatás csak a felszin negativ komponenst befolyásolja, mig a pozitiv komponenst csak kissé és részlegesen emeli. A GAV hatása csak az agykéreg legfelső rétegére terjed ki, valószinüleg az első, vagy molekularis rétegre, amely főleg apikalis dentritekből és kis horizontális sejtekből áll, hatás nélkül mélyebb strukturákra. Ezt a tényt Iwama és Jasper kisérleti uton is igazolta, oly módon, hogy kiváltott potenciálokat regisztráltak az agykéreg felszinéről és mélyebb rétegekről egy időben azt találták, hogy a GAV potenciál módositó hatása nem jelentkezik 300-500 u mélységben még akkor sem, ha az anyagot mikró-pipettával mélyebb rétegekhez juttatták. Ez az eredmény és a frekvenciafüggésre gyakorolt hatás alátámasztja azt a feltételezést, hogy a felszin negativ komponens a felszini agykérgi réteg synaptikus végződéseiből erednek, mint p.s.p.-k, mig a felszin pozitiv komponens mélyebb eredetü. A pozitiv komponens egyidejü növekedésére a legelfogadhatóbb magyarázatot a térfogati vezető /volume conductor/ elve adja, mely szerint a befutó inger egy vertikálisan orientált piramis sejtet ingerel, melynek teste negativá válik, közben felszini dendritje pozitiv lesz, s köztük megindul egy áramkör. Ekkor az indifferens helyhez viszonyitva a felszin pozitiv töltést

mutat. GAV hatása esetén - mivel ez az anyag valószinüleg membrán stabilizátor, igy az apikális dendritek rétege stabilizálódik és ingerléskor a negativitás csak mélyebb rétegekben alakulhat ki. Ezáltal az áramkör két pólusa távolodik egymástól, s a kialakuló potenciálkülönbség nagyobb lesz. Euler és Ricci a potenciál komponenseinek terjedésénél szintén hangsúlyozzák, a térfogati vezető szerepét. Feltételezésük szerint a regisztrált potenciálok visszatükrözik az extracellularis térben folyó áramot, mely áramkör intracellularisan egészül ki a neuronokban. Membránon kifelé folyó áram, ugy regisztrálható, mint pozitivitás és a membránon befelé folyó áram, mint negativitás az aktive depolarizált részeken a referens elektródra vonatkozóan. Ezek szerint a focalis elektród közel a dentritek distalis részéhez pozitivitást fog mutatni, amikor a soma depolarizálódik. Hasonlóan a negativitást a depolarizált részhez közel fogjuk regisztrálni, ahol az áram befelé irányul a membránon keresztül. A kifelé és befelé folyó áram fázisának sorrendje információt ad arról, hogy az ingerület a neuronok mentén és a regisztráló elektród felé vagy attól távolodva vezetődik-e.

GAV hatására történt potenciál változásokat összehasonlitva a modellen kapott eredményekkel kitünik, hogy a frekvenciafüggés olyan módosulást szenved, mint ha a modell t_2/T_2 értékét csökkentjük. A t_2 az

egész kisérlet alatt állandó, abból az előfeltételből kiindulva, hogy végződések ingerületi állapota mindig és mindenütt azonos ideig tart, így csak a T_2 növekedésével kell számolni.

A $T_2 = R_2 \times C$ összefüggésből a C érték szintén változatlan a kisérlet alatt, mivel ugyanarról a synapsisról van szó, így csak a R_2 érték lehet felelős ezen módosulás létrehozásáért. Ez az R_2 érték az átvivő anyag felszabadulásával szembeni ellenállást képviseli, s ennek növekedése azt reprezentálja, hogy az átvivő anyag felszabadulásával szembeni ellenállás nő, a transmitter raktár csökkenő hányada szabadul fel egyetlen impulzusra.

Ha a GAV hatás csak az agykéreg legfelső rétegére terjed ki és ezáltal csak a felszin negativ komponenst befolyásolja frekvenciafüggés tekintetében, ez az eredmény külön interneuronokra utal és alátámasztja Euler és Ricci azon elképzelését, mely szerint a kiváltott potenciál egyes komponensei különböző utakon haladva érik el az agy felszinét. Ezt igazolják páros ingerre kapott eredményeim, melyből szintén kitünik, hogy a kiváltott potenciálok felszin pozitiv és felszin negativ komponense nem egyformán viselkedik a teszt és kondicionáló inger közötti időtől függően.

L-glutaminsav és L-polyglutaminsav sokkal általánosabb hatást fejt ki és ez nehezebben értelmezhető.

A rekvenciafüggés görbén nem figyelhető meg egyes komponensek vonatkozásában eltérő hatás. Az eredményekből arra lehet következtetni, hogy depolarizáló hatásuk kiterjedhet a cortex mélyebb rétegeire is, csökkentve a pozitiv komponens amplitudóját. Az agyról történt lemosás után azonban először a negativ komponens emelkedik erőteljesebben, ami szintén a negativ komponens felszini eredetére utal.

Morphológiai alapon közelitve meg a kérdést a CGM-ből jövő potenciálok ingerületbe hozzák egyrészt a pyramis sejteket, másrészt rövid interneuronokon keresztül a felszin felé vezetődnek. GAV hatás körülbelül a kis pyramis sejtek rétegéig fejti ki hatását, igy valószinünek látszik, hogy a pyramis sejtek axonjai elágaznak és a mellékágak synapsisokon keresztül érik el az agy felszint. Ezáltal a kiváltott potenciál pozitiv komponense, amely a kéreg mélyéből származik, a neuron szómák lokális depolarizációját jelenti, mig a negativ komponens az ingerneuronokon keresztül érkezik az agy felszinése. Erre a következtetésre fentebb leirt kisérletek következő eredményei adják az alapot.

1. Frekvenciafüggést főleg a negativ komponens mutat, tehát synapsisokon keresztül kell, hogy az agy felszinére érkezzenek, mig a pozitiv komponens nem mutat jelentős frekvenciafüggést.

2. GAV hatására csak a negativ komponens gátlódik, tehát a GAV synapsis gátló hatása csak a negativ komponenseknél jelentkezik.

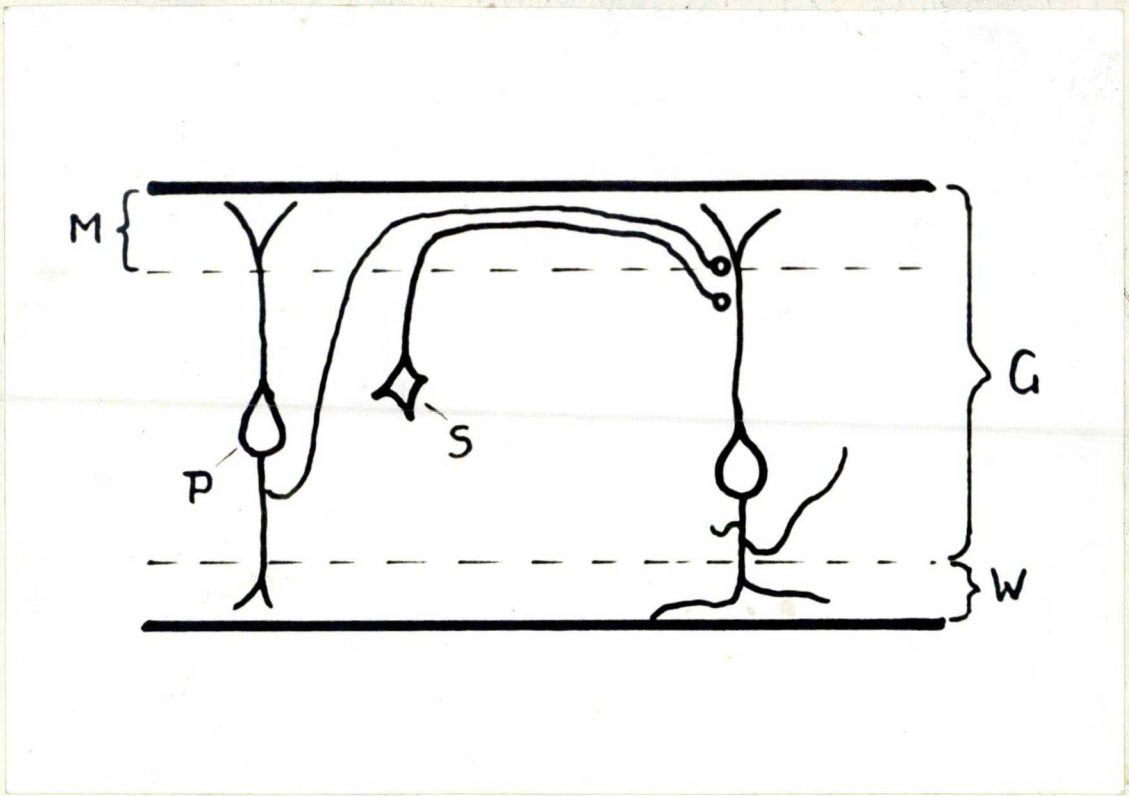
3. A két komponenst külön lehet regisztrálni.

4. Páros inger másodikánál a két komponens különböző változást mutat.

Ezen eredmények azt is igazolják, hogy azok a synapsisok, melyek a frekvenciafüggésért felelősek az agykéreg legfelső rétegében helyezkednek el és alátámasztják a modell felállításának azt az előfeltételét, mely a kérgi synapsisok funkciónális tulajdonságaira utal.

Ezek a feltételezések összhangban állnak a direct kérgi válaszokból /DCV/ levont következtetésekkel, melyek a molekuláris rétegben lejátszódó ingerületvezetésre vonatkoznak. /Ochs és Suzuki 1965/ Arra a következtetésre jutottak, hogy a molekuláris réteg elemei elősegitik a DCV negativ hullámának lokális agykérgi terjedését, azonban ezekről az elemekről csak hypothezisek vannak. Két lehetséges láncról beszélnek, melyek a pyramidalis sejtek ismétlődő kollaterálisai, vagy a csillag sejtek axonjai. Maguknak a csillagsejteknek sejttestük van az alsóbb rétegekben és axonjaik először felfelé, majd laterálisan futnak a molekuláris rétegben. Ezek a laterálisan futó elemek synapsisokon keresztül kapcsolódnak az apikális dentritekhez, igy valószinüséget szolgáltatnak arra, hogy a thalamikusan

kiváltott válaszok is azonos uton érhetik el az agyfelszinét. /14. ábra./



14. ábra. A DCV negativ hullám keletkezésének és terjedésének lehetséges neuronális sémája. /P/ pyramis sejt, /S/ csillag sejt, /M/ molekuláris réteg, /G/ szürke állomány, /W/ fehér állomány./ Ochs és Suzuki nyomán/

A kérgi synapsisok szerepét hangsúlyozzák más szerzők is /Purpura és tsi. 1962./ a fejletlen agykéregen végzett vizsgálataik során. Arra a következtetésre jutottak, hogy az ujszülött macskában a felszini negativitás a felszinesen elhelyezkedő axodentricus pályák érésének tulajdonitható. A GAV hatására a fel-

szin negativitásnak gyors, reverzibilis gátlása azt mutatja, hogy közvetlenül a szülés utáni periodusban a thalamocorticalis pályák aktivitása az ülőideg ingerlése után elsősorban a felszines dentrit elemeken érvényesül, minden valószinüséggel az apikalis dentriteket összekötő több agykérgi interneuronális synapsison keresztül. Az axodentriticus synapsisok már a születés utáni első héten jól felismerhetők a macska agykérgében és ezzel egyidőben erős synapticus tevékenység kezdődhet a felszin alatti elemekben. Ugyanezek a szerzők rámutatnak, hogy a somesztetikus agykéreg specifikus kiváltott válaszainak kiemelkedő felszin negativitása ujszülött macskákban az elsődleges pozitivitástól mentes. A felszini agykérgi válasz esetében a nyert adatok megegyeznek azzal a hypothezissel, hogy ezek a válaszok a postsynapticusan keltett potenciálokat képviselik az apikális dentritekben. Tekintettel a periferiásan kiváltott válaszok pozitiv-negativ sorrendjére az elsődleges projekciós agykéregben továbbá mivel az első komponens nem található születés utáni első hét végéig a macska agykérgén, bizonyitottnak tekintik, hogy az elsődleges kiváltott válasz felszin pozitiv és felszin-negativ komponensei egymástól függetlenül keletkeznek az olyan elemekben, melyek a mély, illetve felszini neuropilhez tartoznak.

Összefoglalás

Frekvenciafüggés kisérleteket végeztem patkányon CGM ingerléssel. A kiváltott potenciálok amplitudója az ingerfrekvencia növekedésével csökken, melynek oka a synapsisokban létrejövő változás lehet. Ez a tény lehetőséget szolgáltat arra, hogy a kiváltott potenciálok komponenseinek keletkezéséről és terjedéséről információkat szerezzünk. Ochs és Suzuki /1965/ a közvetlen agykérgi ingerlés során arra a következtetésre jutottak, hogy az igy kiváltott potenciálok negativ komponense a pyramis sejtek axonjairól synapsisokon keresztül leágazó apikális dentritekben keletkezik, mig a pozitiv komponens közvetlenül éri el a felszint. A thalamikusan kiváltott válaszok szintén áthaladnak az agykérgen, igy lehetséges, hogy ugyanazokat az elemeket érintik, mint a közvetlen agykérgi ingerlésre adott válaszoknál. Ha ez igaz, akkor az előbbi tényből kiindulva csak a kiváltott potenciál negativ komponensének kell frekvenciafüggést mutatni. Ennek tisztázására külön vizsgáltam a kiváltott potenciálok pozitiv és negativ komponensének frekvenciafüggését és a következő eredményeket kaptam:

1. A kiváltott potenciálok negativ komponense erős, mig a pozitiv komponens nem, vagy csak minimális frekvenciafüggést mutat.

2. Gamma-aminovajsav hatására - mely az agykéreg legfelső rétegére terjed ki - csak a negativ komponens gátlódott.

3. L-glutaminsav és L-polyglutaminsav - mely mélyebben fejti ki hatását - egyformán gátolta a pozitiv és negativ komponens megjelenését.

Ezekből az eredményekből arra a következtetésre jutottam, hogy a thalamikusan kiváltott potenciálok pozitiv és negativ komponense nem azonos strukturákban keletkezik és más-más uton érheti el az agyfelszint.

I r o d a l o m j e g y z é k

1. Bures-Petráni-Zachar: Elektrophysiological methods in biological research. Praga, 1960. Primary cortical responses 335-349 p.
2. Bures-Petráni-Zachar: Elektrophysiological methods in biological research. Praga, 1960. Responses of the celebral cortex to direct electrical stimulation. 350-355 p.
3. Euler, C.-Ricci, G.F: Cortical evoked responses in auditory area and significance of apicaldentrites. Journal of neurophysiology. 21/1958/ 231-246 p.
4. Fehér O.-Hunya P.: A hallókérgi kiváltott potenciálok frekvenciafüggésének vizsgálata és modellezése. Számitástechnikai és kibernetikai módszerek alkalmazása az orvostudományban és biologiában. /Kollokvium/ Szeged, 1970. 141-161 p.
5. Grundfest, H.: The ingerpretation of electrocortical potentials Annales of the New York Academy of Sciences 92/1961/ 877-889 p.
6. Harrevald A.: Physiological effects of glutamete and some related compounds. Inhibition in the nervous aystem and gammaaminobutric acid. Ocford, New York 1960. 454-460 p.
7. Iwama K.-Jasper H.H.: The action of gamma aminobutric acid upon cortical electrical activiti in the cat. Journal of Physiology 138/1957/ 365-380 p.
8. Ochs S.-Clark F.J.: Interaction of direct cortical responses. A possible dentritic site of inhibition. Elektroencephalography and Clinical Neurophysiology 24/1968/ 108-115 p.
9. Ochs S.-Clark F.J.: Tetrodoxin analysis of direct cortical responses. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology 24/1968/ 101-107 p.
10. Ochs S.-Suzuki H.: Transmission of direct cortical responses. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology 19/1965/ 230-236 p.
11. Pupura D.P.: Pharmacological action of W-amino acid drugs on different cortical synaptic organisation. Inhibitin in the nervous system and gamma-aminobutric acid. Oxford, New York 1960. 495-515 p.
12. Purpura D.P.: Synaptic organization of immature cerebral cortex. World Neurology 3/1962/ 275-298 p.

13. Purpura D.P.-Girado M.-Grundfest H.: Analysis of synaptic organisations in cat celebral cortex dy selektrive synaptic blokade with gamma-aminobutric acid. Transaction American Neurological Association 1957, 78-82 p.

14. Ramos J.C.: On the organization of the auditory cortex. II. The direct cortical responses and the effects of direct currents gallanine and gamma--aminobutric acid. Acta Physiologica Latino America 14/1965/ 6-15 p.

15. Sales M.-Desa L.-Gusman-Flores C.: Interaction of evoked potentials in the visual cortex. Bulletin del Instituto de Estudios Medicos y Biologicos 23/1965/ 283-296 p.

Szegedi Orvostudományegyetem Könyvtára
SZEGED