

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés

**Az egyensúlyozó rendszer agytörzsi
neuronhálózatainak morfológiai vizsgálata**

Dr. Deák Ádám



DEBRECENI EGYETEM

KLINIKAI ORVOSTUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Debrecen, 2010

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	6
2. Irodalmi áttekintés	10
2. 1. A vestibularis rendszer	10
2. 1. 1. A vestibularis rendszer perifériás receptorai	10
2. 1. 2. A vestibularis rendszer agytörzsi központjai és kapcsolatai	10
2. 1. 2. 1. A primer afferens vestibularis rostok agytörzsi végződési területe	10
2. 1. 2. 2. A másodlagos vestibularis neuronok centrális kapcsolatai	13
2. 1. 2. 2. 1. A másodlagos vestibularis neuronok felszálló kapcsolatai	13
2. 1. 2. 2. 2. A másodlagos vestibularis neuronok leszálló kapcsolatai	14
2. 1. 2. 2. 3. A másodlagos vestibularis neuronok kisagyi kapcsolatai	15
2. 1. 2. 2. 4. A másodlagos vestibularis neuronok egyéb kapcsolatai	15
2. 2. A szemmozgások idegi szabályozása	18
2. 2. 1. A szemmozgató izmok és beidegzésük	18
2. 2. 2. A szemmozgások típusai	22
2. 2. 2. 1. A vestibuloocularis reflex	22
2. 2. 2. 2. Az optokinetikus reflex	24
2. 3. Az agytörzsi vegetatív központok	25
2. 3. 1. A nucleus ambiguus	28
2. 3. 2. A nucleus ambiguus lokalizációja és cytoarchitectonikája békában	28
2. 3. 3. Az agytörzsi vegetatív központok és a vestibularis rendszer kapcsolata	30
3. Célkitűzések	32
4. Anyagok és módszerek	33
4. 1. Kísérleti állatok, a kísérletekhez szükséges engedélykés, az állatok altatása	33
4. 2. Fluoreszcens kettős jelölés	33
4. 2. 1. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis jelölése	33
4. 2. 2. A nervus vestibulocochlearis és a nervus glossopharyngeus, nervus vagus és nervus accessorius jelölése	36
4. 3. Neurobiotin jelölés	37
4. 3. 1. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis jelölése neurobiotinnal	37
4. 3. 2. A nervus vestibulocochlearis jelölése neurobiotinnal	38
4. 4. Elektronmikroszkópos vizsgálatok	38
5. Eredmények	40
5. 1. Az oculomotorius és a trochlearis motoneuronok közötti kapcsolatok vizsgálata	40
5. 1. 1. A n. oculomotorius és a n. trochlearis jelölése különböző fluoreszcens jelölőanyagokkal	40
5. 1. 2. A n. oculomotorius és a n. trochlearis jelölése neurobiotinnal	45
5. 1. 3. Elektronmikroszkópos vizsgálatok	45
5. 2. A nervus vestibulocochlearis és a nervus glossopharyngeus és vagus centrális kapcsolatai	48
5. 2. 1. A n. vestibulocochlearis és a nervus glossopharyngeus és vagus jelölése különböző fluoreszcens jelölőanyagokkal	48
5. 2. 2. A n. vestibulocochlearis jelölése neurobiotinnal	58
6. Megbeszélés	60
6.1. Az alkalmazott módszerek kritikai értékelése	60
6.1.1. A neuronális jelölési technikák	60

6.1.2. Mennyiben értékelhetők a különböző fluorokrómokkal jelölt neuronok közötti szoros összefüggések közvetlen kapcsolatoknak?	61
6.2. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis motoneuronjainak kapcsolata	62
6.3. A n. vestibulocochlearis, a n. glossopharyngeus és a n. vagus motoneuronjainak kapcsolata	65
Összefoglalás	68
Summary	69
Köszönetnyilvánítás	70
Irodalomjegyzék	71
Saját közlemények jegyzéke	80

Rövidítések jegyzéke

BON- nucleus basalis opticus
C- contralateralis oldal
CER- cerebellum
Cn- kisagyi magvak
FDA- fluorescein dextran amin
FR- formatio reticularis
GABA- gamma-amino-vajsav
G- gap junction
GGL/ggl- ganglion
Gr- kisagyi szemcsesejtek
GRA- glycyrrhetin sav
I- ipszilateralis oldal
K- kémiai szinapszis
Kp- középvonal
M.obl.inf.- musculus obliquus bulbi inferior
M.obl.sup.- musculus obliquus bulbi superior
MOS- musculus obliquus bulbi superior
M.rect.inf.-musculus rectus bulbi inferior
M.rect.lat.- musculus rectus bulbi lateralis
M.rect.med.- musculus rectus bulbi medialis
M.rect.sup.- musculus rectus bulbi superior
MRI- musculus rectus bulbi inferior
NA- nucleus ambiguus
n. FLM- nucleus fasciculus longitudinalis medialis
NVD- nucleus vestibularis descendens
NVL- nucleus vestibularis lateralis
NVM- nucleus vestibularis medialis
NTS- nucleus tractus solitarii
NVS- nucleus vestibularis superior
OKR- optokinetikus reflex
PB- foszfát puffer
P- Purkinje-sejtek,

RDA- tetramethylrhodamine dextran amin

Ret- retina

RVLM- rostro-ventrolateralis medulla

SMN- somatomotoros mag

TS- tractus solitarii

VMN- visceromotoros mag

VOR- vestibuloocularis reflex

n. III./III.- nervus oculomotorius

n. IV./IV.- nervus trochlearis

n. VI./VI.- nervus abducens

n. VII./VII.- nervus facialis

n. VIII./VIII.- nervus vestibulocochlearis

n. IX./IX.- nervus glossopharyngeus

n. X./X.- nervus vagus

n. XI./XI.- nervus accesorius

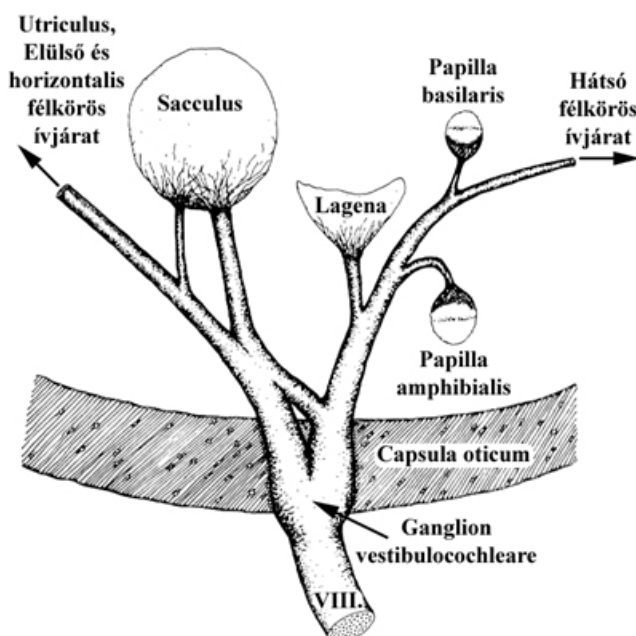
n. XII./XII.- nervus hypoglossus

2. VN- másodlagos vestibularis neuronok

BEVEZETÉS

Az élőlények állandó kapcsolatban állnak az őket körülvevő környezettel. A külvilágból folyamatosan érkező ingerek fogadása és ingerületté való átalakítása receptorok és specializálódott érzékszervek segítségével történik. Az érzékszervek egyike a vestibularis vagy egyensúlyozó rendszer, amely információt kap a test és fej mozgásáról, azok helyzetének megváltozásáról. A vestibularis rendszer működése fenntartja a test egyensúlyi helyzetét a gravitációval szemben, és a fej mozgásaival párhuzamosan koordinálja a szemmozgásokat.

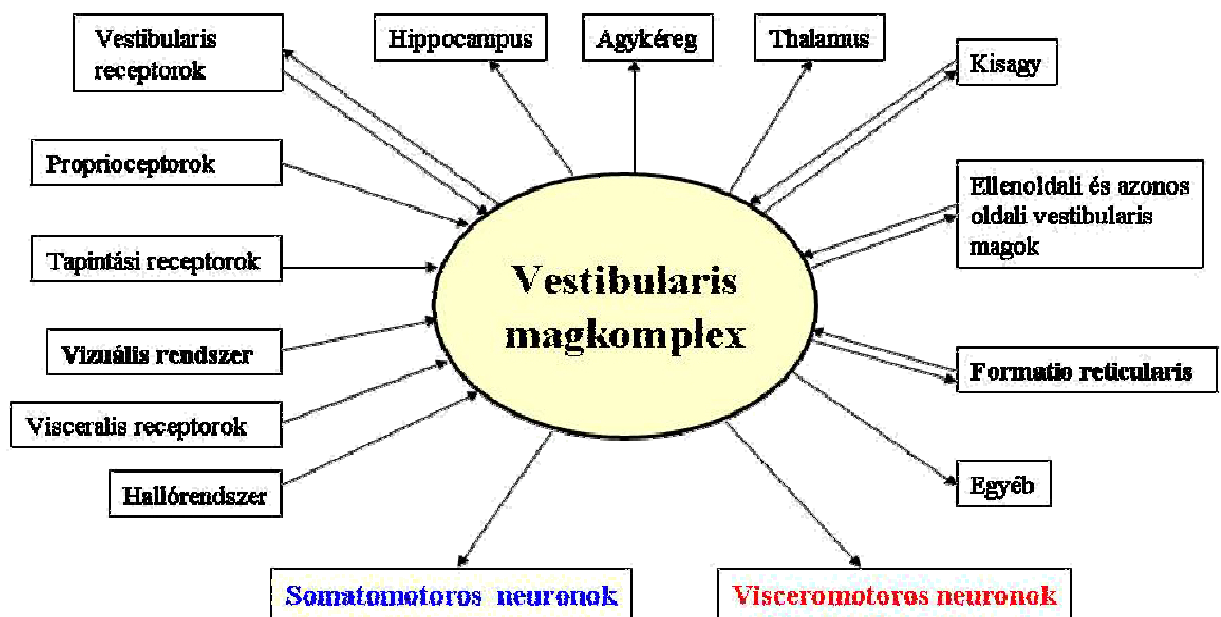
Az egyensúlyozó receptorok már a vízben élő állatoknál megtalálhatók (halak, metamorphosis előtt a kételtűek), amelyek ennek segítségével tájékozódnak egyrészt a víz áramlásáról, másrészt testüknek a környező vízhez való elmozdulásáról. Ezt teszi lehetővé a törzsön hosszanti vonalban elhelyezkedő, szőrsejteket tartalmazó mechanoreceptor, az oldalvonalszerv. A test belsejében elhelyezkedő, szőrsejt-receptorokkal működő vestibularis (egyensúlyozó) érzékszerv a filogenezis későbbi szakaszában alakult ki. A lineáris gyorsulást érzékelő receptorok emlősök esetében a sacculusban és az utriculusban találhatóak, míg békáknál az ilyen típusú receptorokat az előbbieket mellett a lagenában is megtaláljuk (1. ábra).



1. ábra: A vestibulocochlearis ganglion és a VIII. agyideg perifériás ágainak sematikus rajza (Capranica után módosítva, 1976).

Az egyensúlyozó receptorok közül azok, amelyek a szöggyorsulást érzékelik, a félkörös ívjáratokban helyezkednek el. A szőrsejteken a ganglion vestibulareban található bipoláris neuronok perifériás ágai végződnek, míg a centrális ágaik a nervus vestibulocochlearis vestibularis osztatát (pars vestibulare) hozzák létre. A vestibularis afferensek az agytörzs területén lévő négy vestibularis magban végződnek: nucleus vestibularis superior, medialis, lateralis és descendens. Ezek az egyensúlyozó rendszer működésében központi szerepet töltenek be azáltal, hogy szerteágazó afferens és efferens kapcsolataikon keresztül a test egyensúlyi helyzetének megtartása mellett, számos más létfontosságú funkciót is befolyásolnak (2. ábra). A fentiek alapján elmondható, hogy valamennyi érző rendszer közül az egyensúlyozó rendelkezik a legkiterjedtebb agytörzsi kapcsolatrendszerrel.

Számos vizsgálat ellenére ma sem ismerjük részleteiben az egyensúlyozó rendszerrel kapcsolatos agytörzsi neuronhálózatok szerkezetét és működését. Jelen munkában ezek közül két területet vizsgáltam neuromorfológiai módszerekkel. Vizsgálataink egyik részében választ kerestünk arra, hogy milyen kapcsolat biztosítja a külső szemmozgató izmok motoneuronjainak koordinált és szinkronizált működését. A test elmozdulása során ugyanis folyamatosan szükség van arra, hogy a tekintet az adott testhelyzetnek megfelelően fixálódjon. Ennek megvalósulásához a vestibularis rendszerből az információnak rendkívül gyorsan el kell jutnia a szemmozgató agyidegi magokhoz, annak érdekében, hogy a szemmozgató izmok motoneuronjainak gyors és összehangolt együttműködése révén a szem korrekciós mozgásai biztosítva legyenek. Ez a kapcsolatrendszer részleteiben máig sem ismert.



2. ábra: A vestibularis magkomplex kapcsolatai

Az általunk vizsgált másik kérdés az volt, hogy a vestibularis rendszer működésének hatása milyen útvonalon jut el a vegetatív központokba. Az egyensúlyozó rendszer információt juttat el ezen központokba, hozzájárulva a folytonosan változó testhelyzetben az életfontosságú szervek működésének korrekciójához. A testhelyzet változása mellett különböző környezeti ingerek is jelentősen befolyásolják az egyensúlyozó rendszer és ezen keresztül a vegetatív idegrendszer működését. Az egyik ilyen környezeti tényező a légnyomás, amelynek statikus vagy dinamikus változása az egyensúlyozó rendszer közvetítésével befolyásolja a vérkeringést és a vérnyomást. Emberek esetében is tudományosan elfogadott tény az időjárás frontok negatív/pozitív hatása. Ismert a hőmérséklet és változásának hatása az egyensúlyozó rendszer működésére, ugyanakkor a vestibularis receptoroknak szerepet tulajdonítanak a test hőszabályozásában is.

A klinikai gyakorlatban régóta ismert az a tény, hogy vestibularis izgalom hatására változások lépnek fel a cardiovascularis, légző és a gastrointestinalis rendszer működésében. Ennek ellenére nagyon keveset tudunk a háttérben lévő neuronális hálózat jellemzőiről. A vestibularis rendszer és a vegetatív funkciók kapcsolatával foglalkozó irodalom elég szegényes, ennek illusztrálására álljon itt egy majdnem harminc éves, de tartalmát tekintve ma is aktuális idézet: „...the surprising reluctance of essentially all

physiologists to look for an adaptive role of the definitely existing connections between the vestibular complex and the various subunits of the autonomic nervous system” (Erdélyi és mtsai., 1981). A megállapítás nemcsak a fiziológusokra és a fiziológiára igaz: a morfológiai kapcsolatok elemzése csak a modern neuronális jelölési technikák bevezetése után kezdődött és feltehetően a vestibularis rendszer bonyolultságának köszönhetően a mai napig nem vált a morfológusok kedvenc témájává.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A vestibularis rendszer

2.1.1. A vestibularis rendszer perifériás receptorai

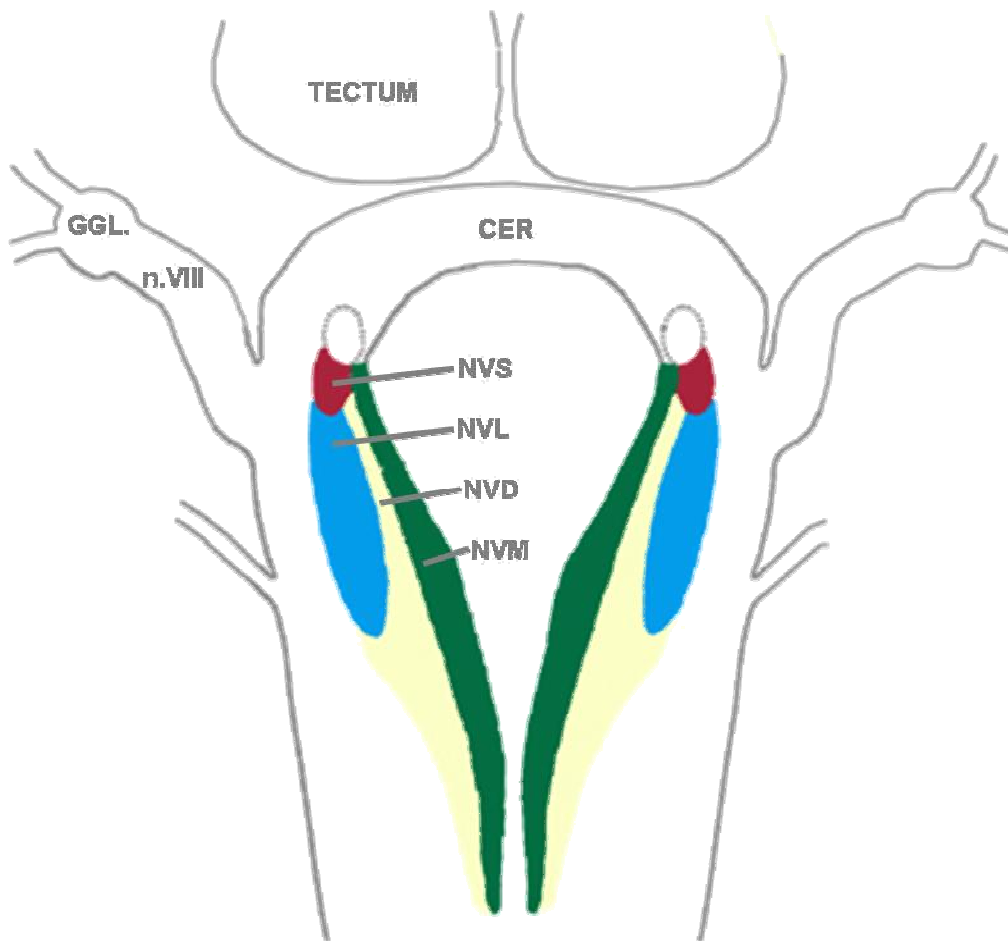
A vestibularis vagy egyensúlyozó receptorok vagy szőrsejtek olyan mechanoreceptorok, amelyek a vízben élő gerincesek áramlásregisztráló érzékszervéből származnak. Az egyensúlyozó receptorok közül a szöggyorsulást a félkörös ívjáratokban elhelyezkedő ampullaris receptorok érzékelik. A lineáris gyorsulásra érzékeny receptorok, az otolith vagy macularis szervek a sacculusban, utriculusban és alacsonyabb rendűekben a lagenában helyezkednek el. A receptorokat ellátó idegek ganglionsejtjei a ggl. vestibulareban találhatóak meg. Békában a vestibularis és a „cochlearis” ganglionsejtek együtt, az un. ggl. vestibulocochleareban találhatóak. A bipoláris ganglionsejtek centralis nyúlványai a nervus vestibulocochlearisban haladnak az agytörzs felé, ahol az egyensúlyozó és a halló magokban végződnek. A továbbiakban csak a vestibularis axonok további kapcsolatai kerülnek ismertetésre.

2.1.2. A vestibularis rendszer agytörzsi központjai és kapcsolatai

2.1.2.1. A primer afferens vestibularis rostok agytörzsi végződési területei

A primer afferens vestibularis rostok az agytörzsbe való belépés után emlősökben négy vestibularis magban végződnek. Ezek a nucleus vestibularis superior (NVS), lateralis vagy Deiters (NVL), medialis (NVM) és a nucleus vestibularis spinalis vagy inferior vagy descendens (NVD) (Brodal és Pompeiano, 1957; Voogd, 1998a). A filogenezis alacsonyabb fokán lévő élőlényekben a vestibularis magok elnevezése korántsem ilyen egységes, aminek egyik oka ezen élőlények idegrendszerének kevésbé differenciálódott jellege. A neuronális jelölési technikák alkalmazása segítségével igazolódott, hogy az alacsonyabb rendű élőlényeknél is hasonló a vestibularis magok elrendeződése (Matesz, 1979). Békában a négy mag részben a cytoarchitectonikai kép, részben a primer afferens rostok végződési mintázata alapján különböztethető meg (3.ábra). A NVL (Deiters mag) a n. VIII. belépésétől rostralisán kezdődik és a glossopharyngeus gyökér magasságában ér véget, nagyméretű neuronjai alapján jól elhatárolódik a környező struktúráktól. A benne

végződő rostok döntő többsége vastag rost (Matesz, 1979; Neuman és mtsai., 1986; Birinyi és mtsai., 2001). A NVL rostralis folytatásába eső, kis és közepes méretű sejteket tartalmazó terület a NVS, ahol ugyancsak döntően vastag rostok végződnek. A NVM subependymalisan helyezkedik el, a vestibularis magkomplex teljes hosszában. A magban kisméretű idegsejtek találhatóak, és kizárólag vékony rostok végződnek benne. A NVD közepes méretű sejteket tartalmaz, benne egyaránt végződnek vékony és vastag rostok.



3. ábra: A vestibularis magkomplex szerveződése békában.

Az egyedi receptorok végződési területei jelentős átfedést mutatnak az egyes magokon belül emlősökben és békában is (Matesz, 1979; Siegborn és mtsai., 1991; Birinyi és mtsai., 2001). A félkörös ívjáratok receptorainak mindegyike vetül mindegyik vestibularis magba, azonban a beérkező rostok mennyisége nem azonos, a horizontális és a hátsó félkörös ívjáratokból erőteljesebb a projekció, mint az elülső félkörös ívjáratból. A lagena és az utriculus projekciója is erőteljes mindegyik vestibularis magba, azonban a

sacculus rostjai csak a vestibularis gyökér belépésének magasságában végződnek a vestibularis magokban valamint egy, a vestibularis és a cochlearis magok közé eső területen, a nucleus saccularisban. Az ide érkező rostok végződési mintázata a cochlearis maghoz hasonló, így a sacculus kettős természetű, azaz vestibularis és halló receptor. Ugyanez mondható el a lagenáról is, amely a nucleus cochlearisba is küld rostokat. A primer afferens vestibularis rostok és a másodlagos vestibularis neuronok közötti kapcsolatokban a kémiai és az elektromos szinapszis egyaránt megtalálható békában, madárban és emlősökben is (Sotelo és Palay, 1970; Peusner, 1984; Matesz, 1988; Dieringer, 1995). A gap junction típusú kapcsolatok, amelyek az elektromos szinapszisok morfológiai megfelelői, legnagyobb arányban a NVL és a NVD területén találhatók, ahol a vastag rostok végződnek (Birinyi és mtsai., 2001; Straka és Dieringer, 1996). Fiziológiai vizsgálatok kimutatták, hogy az elektromos szinapszisok legnagyobb része olyan neuronokon található, amelyek a gerincvelő felé projiciálnak (Babalian és Shapovalov, 1984; Fanardijian és mtsai., 1999; Magherini és mtsai., 1974).

A primer afferens vestibularis rostok vestibularis magokon kívüli végződései a magok közelében vannak. Emlősökben ezeket a neuron-csoportokat fajoként eltérő módon g, l, x, y, z subnucleusnak nevezik. Békában primer afferens vestibularis rostok végződnek a vestibularis magokon kívül többek között a kisagy lobus auricularisában és az agytörzsi formatio reticularisban. Ez utóbbi különösen nagy számban fogad primer afferens vestibularis rostokat a n. VIII. belépése és a n. IX.-X. gyökerek kilépése közötti területen. A rostok kötegeket alkotva haladnak a vestibularis magkomplextől medialis irányba, a rostok mentén nagyszámú *en passant* buton található (Matesz, 1979). Emlősökben csak szórványosan mutattak ki primer afferens vestibularis projekciót a formatio reticularis területén (Carleton és Carpenter, 1984; Newlands és Perachio, 2003).

2.1.2.2. A másodlagos vestibularis neuronok centralis kapcsolatai

A vestibularis magokban kétféle neuron-csoport található. Az interneuronok axonjai a magokon belül végződnek, míg a másodlagos vestibularis neuronok vagy projekciós neuronok axonjai különböző központi idegrendszeri képletekkel létesítenek kapcsolatot.

A vestibularis magokban található másodlagos vestibularis neuronokból kiinduló projekciók a legáltalánosabban elfogadott csoportosítás szerint felszálló, leszálló, és kisagyi pályákat alkotnak. Ezek mellett a vestibularis magok között commissuralis és internuclearis összeköttetések is vannak, valamint egyéb agytörzsi központokkal való kapcsolataikat is kimutatták.

2.1.2.2.1. A másodlagos vestibularis neuronok felszálló kapcsolatai

A felszálló rostok legnagyobb része a NVS, NVM és NVD területén ered és a fasciculus longitudinalis medialisban (FLM) száll fel az eredéssel azonos és ellenoldalon. Végződési területük elsősorban a külső szemmozgató izmok agyidegi magjai, ahová serkentő és gátló impulzusokat egyaránt szállítanak. Ez a kapcsolatrendszer emlősökben részleteiben is aránylag jól ismert (Brodal és mtsai., 1962; McCrea és mtsai., 1987). Fiziológiai vizsgálatok azt mutatták, hogy a vestibularis magok közül a NVS, a NVM és a NVD projiciál az oculomotorius és a trochlearis maghoz (Spencer és Baker, 1992). Neuronális jelölési módszerekkel a NVL közvetlen kapcsolatát is sikerült kimutatni az oculomotorius és a trochlearis magokkal (Bácskai és mtsai., 2002). A szemmozgató agyidegi magok mellett a nucleus fasciculus longitudinalis medialis (n. FLM) és a nucleus ruber is fogad rostokat a vestibularis magokból.

A felszálló rostok egy része a thalamusig követhető, ahol elsősorban a ventrobasalis magokban végződik (Carpenter és Strominger, 1965; Lang és mtsai., 1979; Sans, 1976; Matesz és mtsai., 1997; Shiroyama és mtsai., 1999; Matesz és mtsai., 2002).

Alacsonyabb rendű élőlényekben is kimutatták a vestibuloocularis és a vestibulothalamicus összeköttetéseket, valamint a n. FLM-ba történő projekciót, de a rostok vestibularis magkomplexen belüli eredetét csak a NVL és NVS esetében vizsgálták és igazolták (Fuller, 1974; Montgomery, 1988; Matesz és mtsai., 2002). Fiziológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a középagyi szemmozgató agyidegi magokból a vestibularis

magkomplex rostralis része monoszintaptikusan ingerelhető (Straka és mtsai., 2000). Mivel a béka NVS-ban nagyon sok GABA-erg, de kevés glicinerg neuron van, úgy gondolják, hogy vestibuloocularis kapcsolatokban nagy szerepe van a GABA-erg neurotranszmisszióknak.

A vestibularis magok és a szemmozgató agyidegi magok kapcsolatainak részleteit a 2.2.2.1. fejezetben kerülnek ismertetésre.

2.1.2.2.2. A másodlagos vestibularis neuronok leszálló kapcsolatai

A vestibularis magokból eredő, gerincvelőbe leszálló rostok az általánosan elfogadott csoportosítás szerint három pályát alkotnak, amelyek részben fedik egymást a funiculus anterior területén. Az egyik pálya a FLM leszálló része, amely főleg a NVM-ből indul (Holstege, 1988) és ipsilaterális dominanciával halad a gerincvelőbe. A második a Deiters magból eredő ipsilaterális tractus vestibulospinalis, amihez kismértékben a NVD rostjai is csatlakoznak (Holstege, 1988; Rose és mtsai., 1992). A harmadik a tractus vestibulospinalis caudalis, amely a NVM-ban és a NVD-ben kezdődik (Peterson és Coulter, 1977) és mindkét oldalra projiciál. A tractus vestibulospinalis lateralis a sacralis gerincvelőig száll le, és a gerincvelő teljes hosszában a Rexed-lamina VII és VIII területén végződik (Nyberg-Hansen, 1966), míg a többi vestibulospinalis pálya végződési területe elsősorban a cervicalis gerincvelő területén a VII-IX laminák. Alacsonyabb rendű fajokban a vestibulospinalis projekció kétoldali, és a gerincvelő teljes hosszában követhető, de a rostok legnagyobb része a cervicalis szakaszon végződik (Corvajá és Grofová, 1972; Fanardijian és mtsai., 1999; Matesz és mtsai., 2002). Az egyre pontosabb részleteket feltáró neuronális jelölési technikák kimutatták, hogy a vestibulospinalis rostok a gerincvelő oldalsó és hátsó kötegében is megtalálhatók, és végződési területük az I-es lamina kivételével valamennyi Rexed-laminában kisebb-nagyobb mértékben detektálható (Donevan és mtsai., 1992 a, b; Matesz és mtsai., 2002). Általánosságban elmondható, hogy a vestibularis magokból eredő rostok az eredéstől függetlenül, legnagyobb számban, a végtagi szelvényekben végződnek, míg a thoracalis gerincvelő gyéren ellátott. Ugyancsak a neuronális jelölési technikák igazolták, hogy a NVS-nak is van gerincvelői projekciója (Matesz és mtsai., 1997).

2.1.2.2.3. A másodlagos vestibularis neuronok kisagyi kapcsolatai

A vestibularis primer afferens rostok csak alacsonyabb rendű élőlényekben végződnek a kisagyban (Larsell, 1967; Llinás és Precht, 1972; Matesz, 1979), emlősökben nincsenek erre vonatkozó irodalmi adatok. Békában a kisagynak két fő része van: a centralis helyzetű corpus cerebelli és a kétoldali lobus auricularis. A vestibularis primer afferens rostok legnagyobb része a lobus auricularisban végződik, a corpus cerebelli jóval kevesebb primer afferens vestibularis rostot fogad. Fiziológiai vizsgálatok kúszórost típusú végződésre utaló jeleket regisztráltak békában, azonban a morfológiai vizsgálatok kizárólag moharost típusú végződéseket mutattak. A moharostok a szemcsesejtek rétegében végződnek, azok dendritjeivel alkotnak serkentő szinapszisokat. A kémiai szinapszisok mellett a moharostok végződései gap junctionokkal is kapcsolódnak a szemcsesejtekhez, ahogy azt a dye-coupled kapcsolatok kimutatásával igazolták (Rácz és mtsai., 2006). Békában a kisagyi glomerulusokra jellemző szinaptikus elrendeződést nem mutattak ki. A cerebellum aktivitását a vestibularis rendszer felől érkező információk mellett a bőr, az izmok és az ízületek receptoraiból származó, békában primer afferens rostokon érkező szomatoszenzoros impulzusok is nagymértékben befolyásolják, melyek elengedhetetlenül szükségesek a gyors, célirányos mozgások megfelelő koordinációjához (Antal és mtsai., 1980; González és mtsai., 1984; Muñoz és mtsai., 1997). A másodlagos vestibularis rostok a kisagyban kizárólag moharostok formájában végződnek mind emlősökben (Brodal, 1981) mind békában (González és mtsai., 1984). Arról, hogy a rostok kémiai vagy elektromos szinapszisokat alkotnak-e, nincsenek adatok.

2.1.2.2.4. . A másodlagos vestibularis neuronok egyéb kapcsolatai

A commissuralis rostok a kétoldali vestibularis magkomplex különböző tagjai között létesítenek kapcsolatot mind emlősökben, mind békában. A kapcsolat erőssége rendkívül változatos mind a magok részvételét, mind a rostok mennyiségét illetően. A közlemények közös megállapítása, hogy mindegyik mag részt vesz a kapcsolat kialakításában és a kapcsolat jellege egyaránt lehet serkentő vagy gátló (Ito és mtsai., 1985; Epema és mtsai., 1988; Ladpli and Brodal, 1968; Vidal és mtsai., 1998; Grofová és Corvajá, 1972; Dieringer és Precht, 1979; Matesz és mtsai., 2002; Malinvaud és mtsai., 2010). Az azonos oldali vestibularis magok közötti internuclearis rostok az egyes magok között különböző erősségűek emlősökben (Rubertone és mtsai., 1983; Ito és mtsai., 1985,

Epema és mtsai., 1988). Békában csak a NVL esetében történtek ilyen vizsgálatok, ezek megállapítják, hogy a mag erőteljes projekciót alakít ki a másik három vestibularis maggal (Matesz és mtsai., 2002).

Különböző emlős fajokban a másodlagos vestibularis neuronok kiterjedt kapcsolatban állnak a formatio reticularissal (Yates és mtsai., 1995; Matesz és mtsai., 2002; Bácskai és mtsai., 2002; Balaban és Beryozkin, 1994). Feltételezik, hogy a vestibularis magoknak a formatio reticularisban végződő rostjai erőteljesen befolyásolják a cardiorespiratorius és a gastrointestinalis rendszer aktivitását. Ezt a megállapítást annak alapján gondolják, hogy a másodlagos vestibularis neuronokból igen gyér közvetlen projekciót találtak a nucleus dorsalis nervi vagi területére és a nucleus tractus solitarii-ba (Balaban és Beryozkin, 1994). A klinikai gyakorlatban jól ismert, hogy a vestibularis rendszer izgalma hányást és a szédülést vált ki. Valószínűsíthető, hogy ezek a hatások a formatio reticularison keresztül érvényesülnek. A formatio reticularis dorsolateralis része, amit lateral tegmental field-nek is neveznek, a légző és vasomotoros működések szabályozásában játszik fontos szerepet (Loewy és Spyer, 1990; Yates és mtsai., 1995). Irodalmi adatok szerint a NVL hatása a leggyengébb ezekre a funkciókra, míg a NVM és a NVD hatása a legerőteljesebb a vegetatív működésekre (Bácskai és Matesz, 2002; Balaban és Beryozkin, 1994; Yates és mtsai., 1995). A formatio reticularis dorsolateralis részét egyes leírások "vomiting" nucleusnak nevezik, mivel az itt lévő neuronokban megnő a c-fos gének aktivitása hányás alatt (Miller és Ruggiero, 1994). Az erre a területre érkező erőteljes vestibularis projekció azt jelentheti, hogy a vestibularis izgalom következményeként fellépő hányás a formatio reticularis közvetítésével alakul ki.

Ugyancsak fontos lehet a formatio reticularis területén végződő vestibularis rostrendszer szerepe a mozgás koordinációban is (Wilson és Melvill Jones, 1979). Ebben elsősorban a híd formatio reticularisának dorsomedialis része játszik szerepet (Aicher és mtsai., 1995; Miller és mtsai., 1995; Yates és mtsai., 1995).

A formatio reticularis ventralis része csak a rhombencephalon caudalis részében fogad vestibularis rostokat, amelyek szinte kizárólag a NVL-ből származnak (Bácskai és mtsai., 2002). Neuronális jelölési módszerrel kimutatták patkányban, hogy a nyúltvelő ventrocaudalis része a légzőizmokat beidegző motoneuronok felé projiciál (Aicher és mtsai., 1994). Ilyen módon a NVL a gerincvelői somatomotoros területre fejt ki hatását.

Békában csak a NVL esetében mutatták ki a formatio reticularis felé történő projekciót (Matesz és mtsai., 2002). A rhombencephalon területén a NVL-nak igen kiterjedt kapcsolatrendszere figyelhető meg a formatio reticularisban a zona reticularis

mediana, medialis és lateralis különböző magjaival. Ezek közül legtöbb rostot a zona reticularis lateralis fogadott. Jóllehet a béka formatio reticularisának kevésbé differenciálódott volta és a fiziológiai adatok hiánya miatt nehéz az emlősökkel való összehasonlítás, valószínű, hogy zona reticularis lateralis vagy annak egy része megfelel az emlősök lateral tegmental field-jének. Ennek alapján feltételezhetjük, hogy a formatio reticularisnak békában is fontos szerepe lehet a vestibularis ingerület közvetítésében.

A másodlagos vestibularis rostok emlősökben a kisgyi vestibulo-cerebellumban végződnek, békában ennek a lobus auricularis felel meg. A rostok mindkét esetben moharostok formájában végződnek (Brodal, 1981; Gonzáles és mtsai., 1984; Matesz és mtsai., 2002).

Az oliva inferior emlősökben fajoként eltérő arányban fogad bemenetet a vestibularis magokból, legnagyobb arányban a NVL-ből (Ito és mtsai., 1982; Balaban és Beryozkin, 1994; Bácskai és mtsai., 2002). Békában jól körülhatárolható oliva inferior nincs, de a formatio reticularisnak azon területei, - a nucleus reticularis inferior és a raphe magok -, amelyek a kisgyi kapcsolataik miatt az oliva inferiorinak tekinthetők, (Cochran és Hackett, 1977; Straka és Dieringer, 1992) jelentős számú rostot fogadnak a NVL-ből (Matesz és mtsai., 2002).

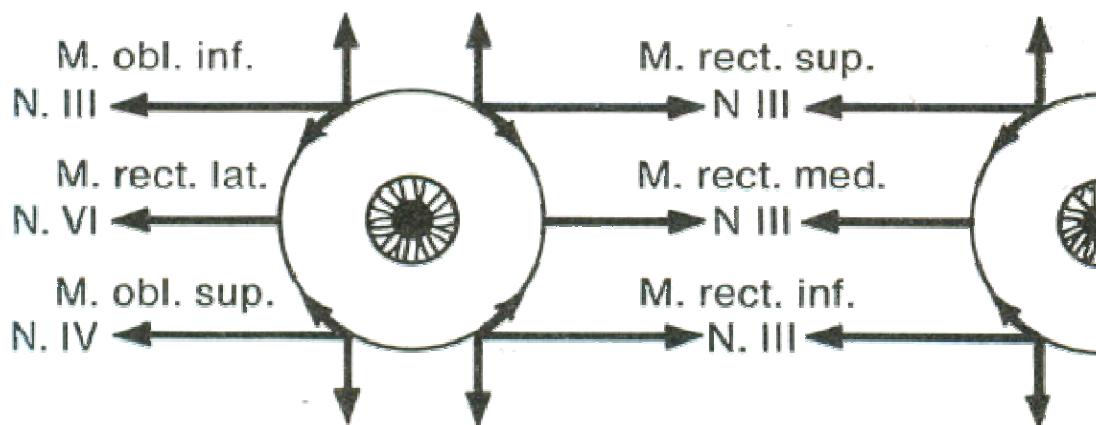
A rhombencephalon caudalis részében elhelyezkedő nucleus prepositus hypoglossi valamennyi vestibularis magból kap rostokat emlősben. Ez a terület egy fontos integratív központja a gerincvelői proprioceptív (McCrea és mtsai., 1987; Prihoda és mtsai., 1991) és a vestibularis (McCrea és mtsai., 1987) bemeneteknek, és az így feldolgozott információ kisagy felé való továbbításának (Blanks és mtsai., 1983; Lan és mtsai., 1995). Békában a nucleus prepositus hypoglossi a cytoarchitectonikai kép alapján nem definiálható, de a hypoglossus magtól medialisán és rostralisan fekvő területen kimutathatók a vestibularis rostok végződései. Kapcsolatainak jellege miatt ez a terület megfelel az emlősök nucleus prepositus hypoglossijának (Ebbesson és Goodman, 1981; Bangma és ten Donkelaar, 1982; Matesz és mtsai., 2002).

A vestibularis magok kapcsolatban állnak a hátsó kötegi magokkal és a nervus trigeminus érző magjaival mind békában, mind patkányban (Weinberg és Rustioni, 1989; Buisseret-Delmas és mtsai., 1999; Matesz és mtsai., 2002; Bácskai és mtsai., 2002).

2.2. A szemmozgások idegi szabályozása

2.2.1. A szemmozgató izmok és beidegzésük

Mind a konjugált, mind a konvergáló szemmozgások négy egyenes és két ferde külső szemizom közreműködésével valósulnak meg (lásd részletesen a 21. oldalon), a legegyszerűbb élőlényektől a főemlősökig (4. ábra).

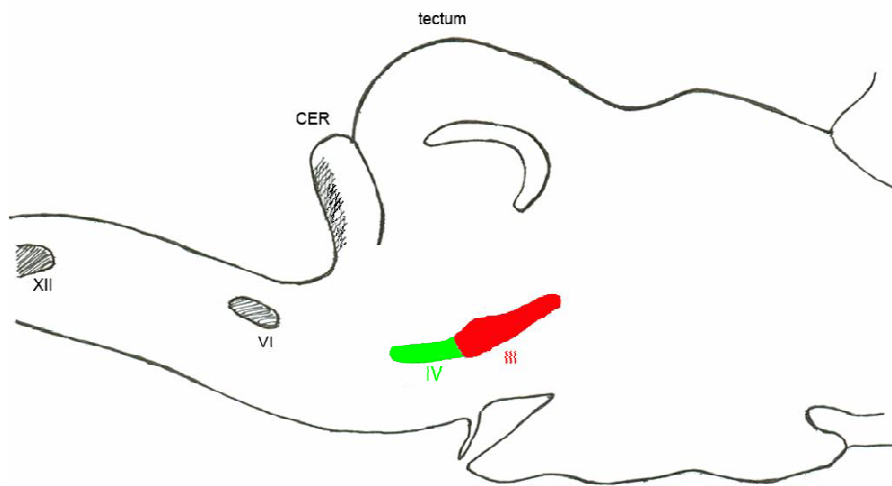


4. ábra: Szemmozgató izmok és azok működése

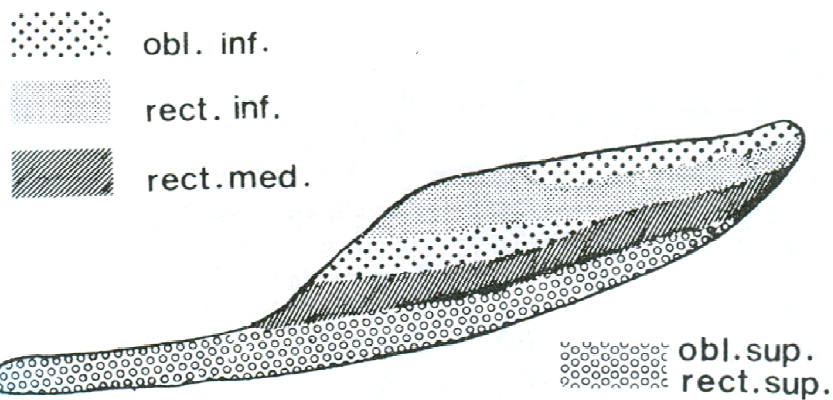
Az izmok beidegzése hasonlóképpen konzervatív: a nervus oculomotorius, trochlearis és a nervus abducens vesznek részt a beidegzésben (Ariëns Kappers és mtsai., 1936; Starck, 1982). A hat pár külső szemizom mellett a gerincesekben - a denevérek és a főemlősök kivételével - még egy izom tapad a szegolyóhoz, a m. retractor bulbi (Nishi, 1938) amely a szegolyót visszahúzza, ezáltal védi a corneát a kiszáradástól. A m. retractor bulbit a járulékos abducens mag idegzi be, amely a fő abducens magtól ventrolateralisan helyezkedik el. A n. oculomotorius, n. trochlearis és a fő abducens mag motoneuronjai a dorsomedialis motoros oszlopban találhatók. A n. III. és a n. IV. magja egymás folytatását képezi a mesencephalon területén (5.a. ábra). Az oculomotorius magon belül musculotopiás lokalizáció ismerhető fel (5.b.ábra) (Matesz és Székely, 1977). A sejttest mindegyik mag neuronjai esetben kisméretű, alakja ovális, vagy polygonális.

Az axonok általában a perikaryon ventralis részéből erednek és egyenes lefutás után ventralisan hagyják el az agytörzset. Ez alól kivétel a n. III. neuronjainak egy része, valamint a trochlearis mag teljes neuron populációja. A n. III. esetében a mag caudalis részében a neuronok egyik csoportjánál az axon a sejttest dorsalis részéből ered, keresztezi

a középvonalat és csatlakozik az azonos oldali mag axonjaihoz. A trochlearis motoneuronoknál az axonok a sejttest dorsolateralis részéből erednek, majd dorsalis és később medialis irányba haladva keresztezik a középvonalat és az ellenoldalon lépnek ki az agytörzsből. Az oculomotorius neuronok esetében a dendritfa elsősorban dorsomedialis és ventrolateralis irányba ágazódik el. Ezen kívül egy erőteljes dendritköteg caudalis irányban a trochlearis magba követhető, ahol a gyöngyszerűen megvastagodó dendritek szoros kapcsolatba kerülnek a trochlearis motoneuronokkal (6. ábra). A trochlearis neuronok dendritfája esetében a dorsomedialis dendritfa szegényes, feltehetően a tegmentalis szürkeállomány nagy tömege miatt a dendritek ventrolateralis irányba haladnak (9. ábra). Megfigyelhető egy erőteljes rostralis dendritfa is, amely az oculomotorius motoneuronok közé követhető (7-8. ábra)

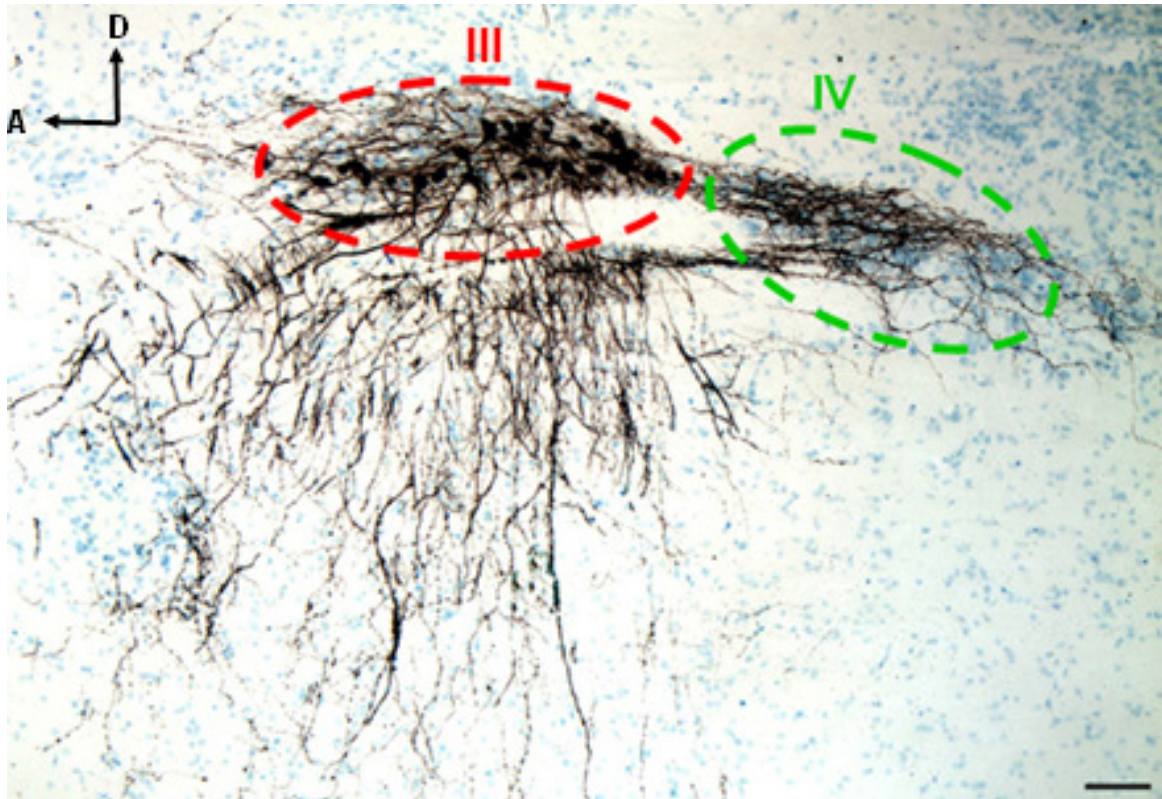


a.

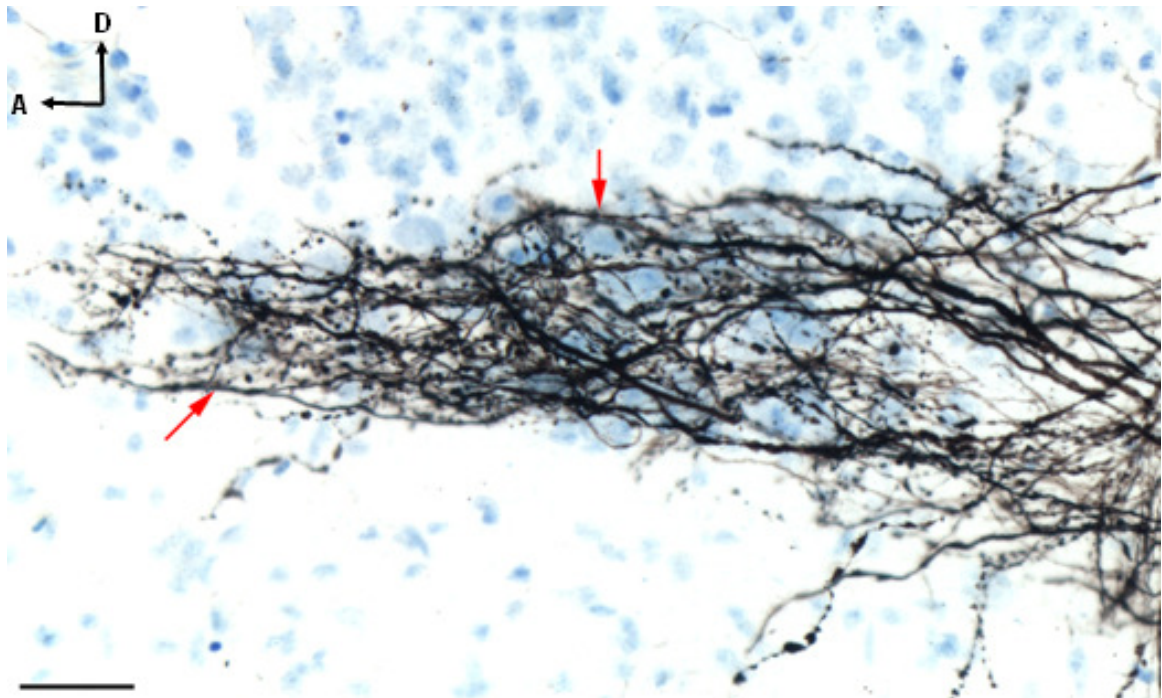


b.

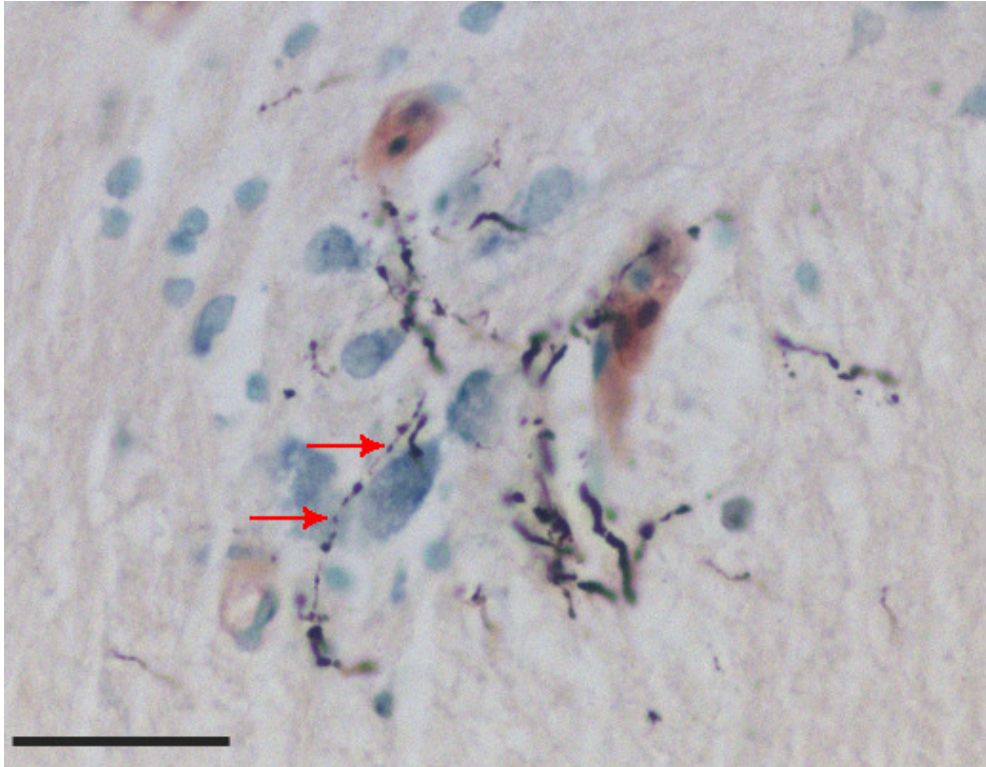
5.a. ábra: Béka agytörzs hosszanti metszete, amely a római számokkal jelzett agyidegek magjainak kiterjedését mutatja. 5.b. Külső szemizmok musculotopiás lokalizációja.



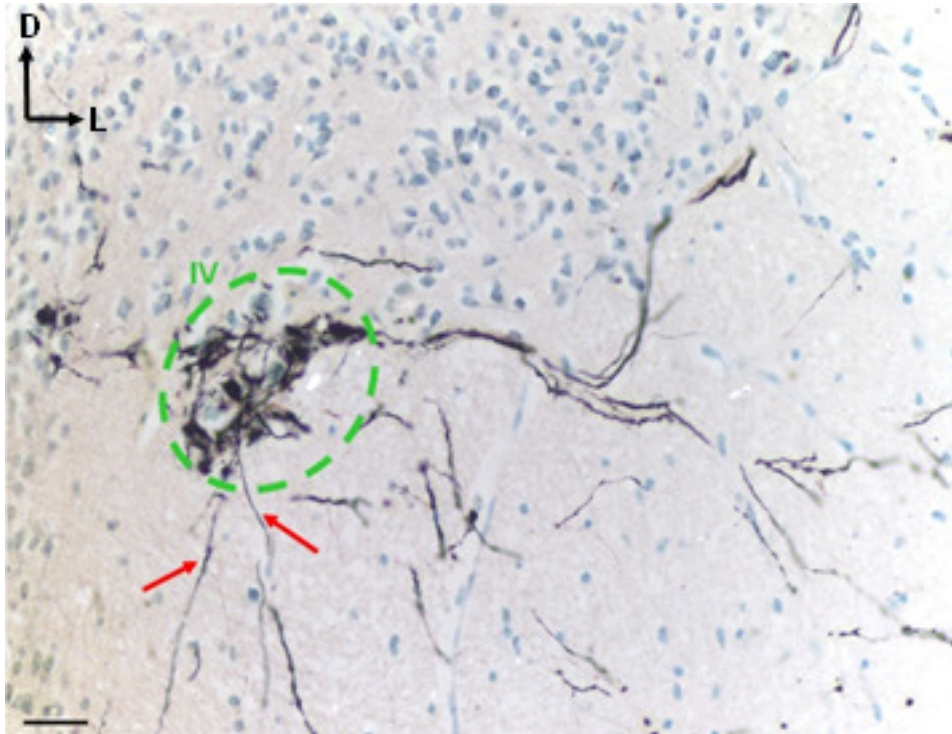
6. ábra: Az agytörzs hosszmetsete a n. III. és n. IV. magasságában kobalt-lizin jelöléssel (Prof. Lázár Gyula szívességéből). Kalibrációs vonal: 50 μ m.



7. ábra: Trochlearis dendritköteg az oculomotorius magban béka agytörzs hosszanti metsetében kobalt-lizin jelöléssel. A nyilak egyedi dendriteket mutatnak (Prof. Lázár Gyula szívességéből). Kalibrációs vonal: 50 μ m.



8. ábra: Az agytörzs keresztmetszeti képe a nucleus nervi oculomotorii szintjében. A nyilak a trochlearis mag irányából érkező dendriteket jelölik. Kobalt-jelölés (Matesz és mtsai., 1977). Kalibrációs vonal: 50 μm .



9. ábra: Az agytörzs keresztmetszeti képe a trochlearis mag szintjében. A nyilak a trochlearis neuronok ventralis dendritjeit jelölik. Kobalt-jelölés (Matesz és mtsai., 1977). Kalibrációs vonal: 50 μm .

2.2.2. A szemmozgások típusai

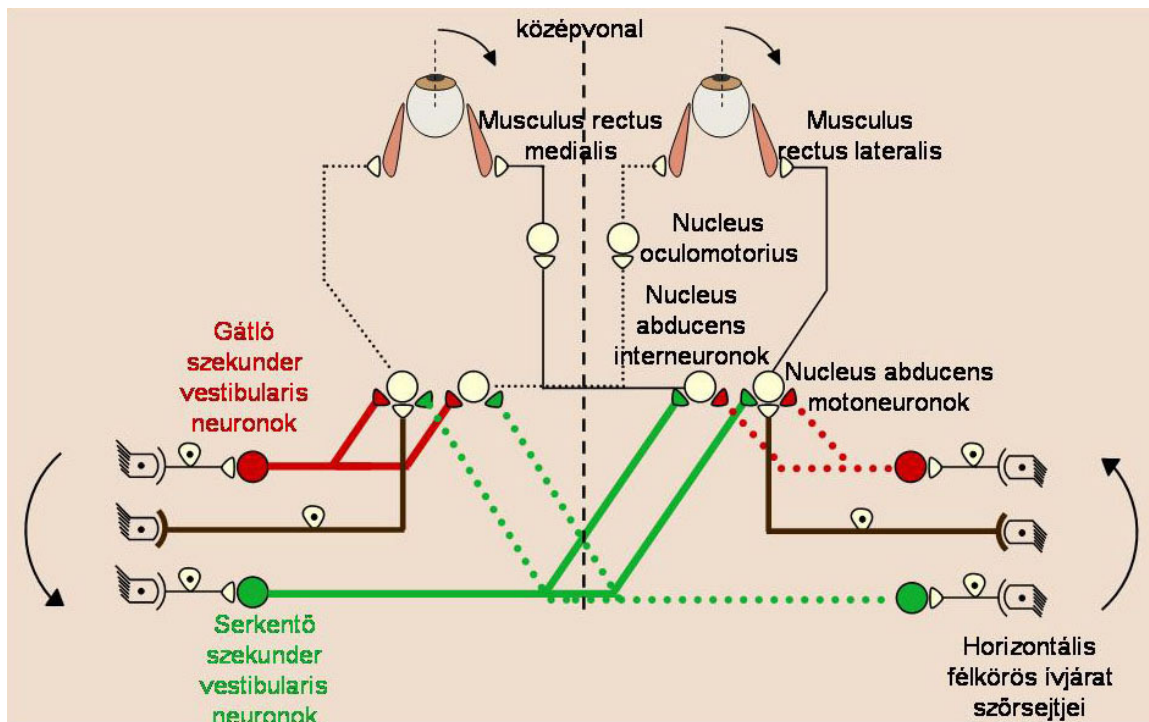
A szemmozgásoknak négy típusát különböztetik meg (Robinson, 1968; Noback és mtsai., 1991). A szakkádok vagy kereső, vagy parancsolt szemmozgások olyan szaggatott szemmozgások, amelynek során a tekintet egyik tárgyról a másikra ugrik, míg a sima követő szemmozgások a tárgy mozgását kísérik. A harmadik típusú szemmozgás a vestibuloocularis reflex, amelynek során a tárgy vizuális rögzítése történik. Ezt a három fajta szemmozgást konjugált szemmozgásnak nevezik, míg a konvergáló szemmozgás esetén a két szemgolyó egymás felé mozdul el, és a tekintet egy közeli tárgyra összpontosul.

Az éleslátás biztosításához szükség van arra, hogy a tárgy képe a retina fovea centrálisára vetüljön mind nyugalmi helyzetben, mind pedig a test elmozdulása során. Mozgás közben a tekintet fixálásához a szem nagyon pontos és gyors mozgására van szükség, amely a vestibuloocularis (VOR) és az optokinetikus (OKR) reflex közreműködésével valósul meg.

2.2.2.1. A vestibuloocularis reflex

Biológiai szempontból a kétfajta reflex közül, a gyors válasz miatt, a VOR a fontosabb. A reflex afferens rostjai a belső fül félkörös ívjáratának receptoraiból indulnak ki, és az agytörzsben található vestibularis magokban lévő szekunder vestibularis neuronokkal állnak szinaptikus kapcsolatban. Mint a vestibularis rendszer többi kapcsolata esetében is, a vestibuloocularis projekció is konzervatív a filogenezis során.

A VOR következtében kialakuló szemmozgás verticalis és horizontalis irányban is végbemehet, és a fej elmozdulásának irányától függően a különböző szemizmok változatos mértékű és arányú részvételével zajlik le. A klinikai gyakorlatban és kísérletes körülmények között is a legkönnyebben a VOR során lezajló horizontalis szemmozgás tanulmányozható.



10. ábra: A horizontális félkörös ívjárat szőrsejtjeinek ingerülete következtében kialakuló vestibuloocularis reflex vázlatos rajza (Straka és Dieringer, 2004. után módosítva).

A 10. ábra mutatja békában a VOR vázlatát (Straka és Dieringer, 2004). A horizontális félkörös ívjárat receptor-sejtjeiből kiinduló ingerület a ganglion vestibulare közvetítésével serkentő és gátló másodlagos vestibularis neuronokhoz érkezik. Ezeknek az axonjai közvetlenül, illetve az abducens magban található intranuclearis neuronokon átkapcsolódva futnak a m. rectus medialis és a m. rectus lateralis innerváló agyidegek motoneuronjaihoz a fasciculus longitudinalis medialison keresztül. Fiziológiai vizsgálatok azt mutatták, hogy az abducens motoneuronok és intranuclearis neuronok serkentő bemenetet kapnak az ellenoldali, és gátló bemenetet az ipsilateralis NVL-ből és NVM-ből (Highstein, 1973; Magherini és mtsai., 1974; Straka és Dieringer, 1993), tehát a vestibuloocularis reflex poliszinaptikus útvonalon keresztül valósul meg. A VOR-nak azt a komponensét, amely a félkörös ívjáratok közvetítésével valósul meg, angularis VOR-nak nevezi a szakirodalom, míg az utriculus részvételével lezajló formáját linearis VOR-nak nevezik. A sacculus részvételét a VOR-ban nem mutatták ki (Straka és Dieringer, 2004).

Mivel a vestibularis ingerre bekövetkező szemmozgások nagyon gyorsak, ezért feltételezhető, hogy a poliszinaptikus útvonal mellett monoszinaptikus kapcsolatok is lehetnek, illetve a kémiai úton történő szinaptikus transzmisszió mellett elektromos jelátvitel is történhet. A feltételezett monoszinaptikus kapcsolatok meglétét morfológiai

vizsgálatok is igazolták. Hunyadi és mtsai. (2008) monoszínaptikus kapcsolat jelenlétét írták le vestibularis afferensek és az abducens mag között. A gyors ingerület-átvitelt biztosíthatja a primer vestibularis rostok és a secunder vestibularis neuronok között meglévő gap junction típusú kapcsolat, amit a morfológiai és fiziológiai vizsgálatok is igazoltak (Sotelo, 1977; Dieringer, 1995; Birinyi, 2002; Bácskai és Matesz, 2002). További lehetőség a gyors ingerület-átvitelre a motoneuronok közötti dendrodendritikus kapcsolat. Béka gerincvelőben azok között a motoneuronok között találtak dendrodendritikus kapcsolatokat, ahol a beidegzett izmok gyors, pontos és szinkronizált működésére van szükség a különböző végtagmozgások során (Silver 1942; Erulkar és Soller, 1980). Fiziológiai vizsgálatok elektrotónusos kapcsolatot igazoltak a szomszédos dendritek között, de a gap junctionok jelenlétét elektronmikroszkópos vizsgálatokkal nem sikerült igazolni (Grinnell, 1966; Erulkar és Soller, 1980). Hasonló dendrodendritikus (és dendroszomatikus) kapcsolatokat mutattak ki intézetünkben a kétoldali hypoglossus motoneuronok között, amely kapcsolat lehet a morfológiai háttere a zsákmányszerző magatartás során végbemenő rendkívül gyors és koordinált nyelvmozgásoknak (Bácskai és mtsai., 2010). A dendrodendritikus kapcsolatok szinkronizáló jellegét emlősökben is leírták a szaglórendszerben, a hypothalamusban és a gerincvelőben (Theodosis és mtsai., 1981; Rose és Collins, 1985; Campbell és mtsai., 2009). Nincs irodalmi adat arról, hogy a különböző szemizmokat beidegző motoneuronok között van-e valamilyen közvetlen kapcsolat.

2.2.2.2. Az optokinetikus reflex

Az optokinetikus reflex a VOR-nál lassúbb időbeli választ mutató reflex, amely a fej alacsony frekvenciájú elmozdulását képes érzékelni (Masseck és Hoffmann, 2009). A VOR esetében a kép elmozdulását követően történik a korrekció, míg az OKR fő feladata a tárgyak térbeli helyzetének meghatározása, a szemmozgások koordinációja, a tekintet fixálása. Amikor a test vagy a környezet egymáshoz képest elmozdul, akkor a szem és a test kompenzációja válik szükségessé, hogy a retinán keletkezett kép egy helyben maradjon. A VOR-hoz hasonlóan az OKR esetében is konjugált szemmozgás alakul ki. Az OKR esetében emlősökben a retinából származó rostok a colliculus superiorba jutnak, majd átkapcsolódás után a szemmozgató agyidegi magvakhoz jut el az információ. Nem emlős fajokban a colliculus superior funkcionális megfelelője a járulékos optikus rendszer,

amelynek részei fajoként változnak. Békában a nucleus pretectalis (más néven nucleus lentiformis mesencephali) és a nucleus basalis opticus (BON) tartozik ezen járulékos látó rendszerhez. A nervus opticusban haladó rostok békában 90%-ban kereszteződnek (Dunlop és Beazley, 1984), az átkereszteződés után alakul ki a tractus opticus accessorius, mely a köztiagy ventralis oldalán haladva eljut a BON-ba, ami a hypothalamus és a mesencephalon tegmentumának ventralis része közötti átmenet közelében található, és csak contralateralis opticus rostokat fogad. A nucleus pretectalis a tectum mesencephali dorsomedialis részében helyezkedik el és csekély számú rostot fogad a nervus opticusból. A nucleus pretectalis elsősorban a horizontális elmozdulást, míg a BON a verticalis elmozdulást érzékeli, és ilyen módon vesz részt az optokinetikus reflex kialakításában és szabályozásában (Lázár és Tóth, 1983).

A nucleus basalis opticus számos agyi régióval áll kapcsolatban, úgymint az area pretectalisal, a tegmentum mesencephalival, valamint a szem és a fej mozgásában részt vevő központokkal. Fő afferensei a retina ganglion sejtjeinek axonjai, de emellett afferenciát kap a thalamus elülső magjaiból is. Efferenseket küld a fasciculus longitudinalis medialis magjához, a III és IV. agyidegek magjaihoz, az ellenoldali BONhoz, a pretectalis területhez, a cerebellum hátsó lebenyeihez, az oliva inferiorhoz, a nucleus interstitialishez és a vestibularis magokhoz (Montgomery és mtsai., 1981).

2.3. Az agytörzsi vegetatív központok

Az agytörzsi vegetatív központok szerepe a szervezet homeosztázisának fenntartása. Ennek keretében szabályozza a cardiovascularis, a légző és az emésztőrendszer működését. Ezeknek a központoknak a szerkezetét és működését elsősorban az emlősök idegrendszerében írták le (Fonyó, 2003). Általánosságban elmondható, hogy a központok afferenciája a n. facialis, n. glossopharyngeus és a n. vagus viscerosensoros rostjain keresztül történik, amely rostok elsődlegesen a nucleus tractus solitariiban végződnek. A központok efferenciája vagy a fenti agyidegek visceromotoros és/vagy somatomotoros neuronjain keresztül jut el a szervekhez, vagy leszálló rostokon keresztül befolyásolják a gerincvelői visceró- vagy somatomotoros neuronok működését.

Ennél a pontnál szeretnék néhány mondatban kitérni az agyidegi magok, ezen belül is a motoros agyidegi magok elnevezésében meglévő ellentmondásokra (Székely és Matesz, 1993). A neuroanatómiai összefoglaló munkák általában három csoportra osztják a

motoros agyidegi magokat: az occipitalis myotomokból fejlődő somatomotoros magokra (a n. oculomotorius, n. trochlearis, n. abducens és n. hypoglossus magjai), a kopolyútv eredetű harántcsíkt izmok specifikus visceromotoros magjaira (a n. trigeminus, n. facialis, n. glossopharyngeus, n. vagus és n. accessorius magjai), és végül a simaizmot és mirigyeket beidegző általános visceromotoros magokra (a n. facialis, n. glossopharyngeus és a n. vagus magjai). Az ellentmondások egyike a n. hypoglossus esetében fedezhető fel: somatomotoros neuron lát el egy zsigert. Ugyanakkor a kopolyútvból fejlődő izmot visceromotoros neuronok idegzik be, holott nem minden kopolyútvból fejlődő izom lesz zsigeri izom. Az értekezés további részében az egyszerűség kedvéért a visceromotoros (VMN) elnevezést használtuk azon agytörzsi motoneuronok elnevezésére, amelyek a sima- és szívizom, valamint a mirigyek ellátását végzik, és a somatomotoros (SMN) terminológiát használtuk a vázizmot ellátó motoneuronok esetében.

A légzés szabályozásának központjai a nyúltvelőben és a hídban, a formatio reticularis területén helyezkednek el. A nyúltvelőben un. respirációs neuron-csoportok helyezkednek el a nucleus tractus solitarii mellett a formatio reticularis területén. A respirációs neuron-csoport dorsomedialis neuronjai belégzéskor aktívak, axonjaik a gerincvelőbe projiciálnak és monoszintaptikus kapcsolatba kerülnek a rekeszizmot beidegző motoneuronokkal. Ugyanezen a területen található azok a visceromotoros, paraszimpatikus neuronok is, amelyek a bronchusok simaizomzatát látják el. A ventrolateralis csoporton belül rostralis, középső és caudalis alcsoportokat különböztetnek meg, az egyes alcsoportok neuronjai a légzés különböző fázisában aktívak. A híd területén a nucleus parabrachialis és a Kölliker-Fuse-féle mag sejtjeinek a belégzés/kilégzés váltásában van szerepe. A légzésben résztvevő neuronok afferens beidegzésüket egyrészt a tüdő receptoraiból a n. vaguson keresztül kapják, másrészt pedig a perifériás kemoreceptorokból a n. glossopharyngeuson és a n. vaguson keresztül.

A cardiovascularis agytörzsi központ a nyúltvelői formatio reticularis rostro-ventrolateralis (RVLM) neuron-csoportjában található. A neuronok axonjai a gerincvelő oldalsó szarvába projiciálnak, és serkentik a szimpatikus preganglionáris neuronok aktivitását. A caudalis részben lévő neuron-csoportot korábban depresszor-központnak nevezték, miután a gátolják a RVLM neuronok és a szimpatikus preganglionáris neuronok aktivitását. A caudalis neuron-csoportban található azok a visceromotoros paraszimpatikus működésű neuronok, amelyek a n. vaguson keresztül érik el a szívet, és a szívfalban lévő intramuralis ganglionokban kapcsolódnak át. A szimpatikus működésű visceromotoros neuronok a thoraco-lumbalis gerincvelő oldalsó szarvában helyezkednek

el, és axonjaik a paravertebralis elhelyezkedő truncus sympathicusba jutnak. Átkapcsolódás után a posztganglionáris rostok az artériák mentén érik el a beidegzési területüket. A nyúltvelői cardiovascularis központok afferenciája a sinus caroticusban és az aortaívben elhelyezkedő baroreceptorok felől a n. glossopharyngeuson és a n. vaguson keresztül történik.

A gastrointestinalis rendszer működésének agytörzsi kontrollja a n. vaguson keresztül valósul meg. Az afferens neuronok axonjai a nucleus tractus solitarii-ban végződnek, az efferens neuronok pedig a nucleus dorsalis nervi vagiban találhatóak. A preganglionaris neuronok a szervek falában vagy azok közelében lévő ganglionsejteken kapcsolódnak át. A postganglionaris rostok simaizmot és mirigyeket idegeznek be.

A neuroanatómiai könyvek az agyidegek jól definiálható és lokalizálható parasymphicus magjairól írnak. Ezek közül a mesencephalonban található a n. oculomotorius visceromotoros magja az Edinger-Westphal mag, amely belső szemizmokat lát el. A n. facialis nucleus salivatorius superior-ja a fajtól függően könnymirigyet és a fej területén található kisebb-nagyobb nyálmirigyeket látja el a parotis kivételével, melynek parasymphikus beidegzője a n. glossopharyngeus nucleus salivatorius inferior-ja. A nervus vagus parasymphikus neuronjainak ellátási területe a mellkasi zsigerek és a hasi zsigerek nagyobbik része. Visceromotoros magjaként a tankönyvek a nucleus dorsalis nervi vagit jelölik meg, hozzátéve, hogy a nucleus ambiguusban lévő neuronok egy része is visceromotoros neuron. A neuronális jelölési módszerekkel nyert adatok szerint kompakt neuron-csoport csak a nucleus dorsalis nervi vagi esetében található, míg a többi agytörzsi parasymphikus neuron a formatio reticularis kissejtes részében szétszórtan található, sok esetben keveredve a nucleus ambiguus neuronjaival (Contreras és mtsai., 1980; Bieger és Hopkins, 1987; Székely és Matesz, 1993).

2.3.1. A nucleus ambiguus

A nucleus ambiguus a n. glossopharyngeus és a n. vagus közös magja, ami a nevét onnan kapta, hogy sejtjei nem különülnek el élesen egymástól. A mag neuronjainak változatossága és a perifériás beidegzési terület fajokénti eltérése tovább fokozza a „bizonytalan” jelleget. Számos neuroanatómiai könyv, mint ahogy az a neuronális jelölési technikák alkalmazásával kiderült, helytelenül sorolta a n. accessorius motoneuronjait is a nucleus ambiguushoz.

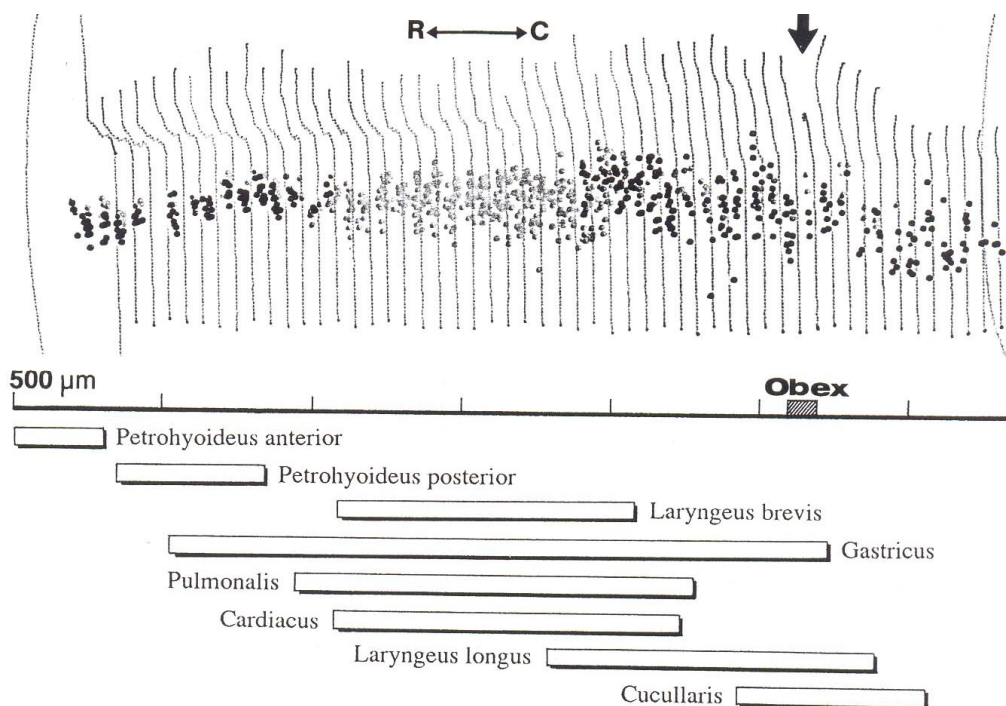
A n. glossopharyngeus és n. vagus neuronjai azokat az izmokat idegzik be, amelyek a nyelvben, emlősök esetében, a hangadásban is részt vesznek. Ezek a funkciók nyilvánvalóan különböznek egymástól fajként, például a nyelv másképpen történik, ha már szeparálódott az orrüreg és a szájüreg, illetve ha már kifejlődtek a rágóizmok. A nyelvvel és hangadással kapcsolatos struktúrák a harmadik-hatodik kopoltyúív származékai, amelyek különböző fajokban különbözőképpen fejlődtek.

A filogenezis során békában szeparálódnak el először a glossopharyngeus-vagus magcsoportban a visceromotoros neuronok, bár ez a szétválás még korántsem teljes. Békában a n. glossopharyngeus a m. petrohyoideus anterior, a n. vagus pedig a m. petrohyoideus posterior idegzi be (Gaupp, 1904). Ezek az izmok, különösen a petrohyoideus anterior erőteljes constrictor működést végez, és fontos szerepe van a nyelvben. Ezen kívül valamennyien részt vesznek a belégzésben azáltal, hogy felemelik a géget. Békában a gége négy izmot tartalmaz: egy dilatort és három sphinctert. A dilatator kinyitja a gégebemenetet és a rima glottidist, valamint megfeszíti a hangszalagot, a sphincterek ezzel szemben zárják a hangrést és a gégebemenetet. A dilatort a nervus laryngeus brevis (superior) idegzi be és valószínűleg kap néhány rostot a nervus laryngeus longustól (inferior) is. A sphinctereket a nervus laryngeus longus látja el. Mivel a nervus laryngeus brevis a negyedik kopoltyúív idege, a longus pedig a hatodiké, a két izom a negyedik illetve a hatodik kopoltyúív származékának tekinthető (Starck, 1982).

2.3.2. A nucleus ambiguus lokalizációja és cytoarchitectonikája békában

A nucleus ambiguus rostrálsan a fő abducens mag caudalis pólusánál kezdődik és 300-400 µm hosszan követhető caudalis irányba. Az itt található motoneuronok a n. glossopharyngeus-hoz tartoznak. Ezt követően mintegy 100-150 µm-es távolság után folytatódik a magoszlop és az obextől caudálsan 300 µm-re caudálsan végződik. Ennek a

magoszlopnak a motoneuronjai a n. vagushoz tartoznak. A sejtszlopon belül a perikaryonok mérete és a dendritarborizáció alapján többféle neuron típust lehet megkülönböztetni (Matesz és Székely, 1996). A nucleus ambiguus legrostralisabb részében nagyméretű sejtek vannak, amelyeknek dendritfája dorsomedialis-ventrolateralis irányú lefutást mutat. Ezek a neuronok látják el a garat izmait. A második csoportban kis és közepes méretű neuronok találhatóak változatos dendrit elágazódási mintázattal. Ez a típus legnagyobb számban a mag középső részében található, de a caudalis szakasz kivételével mindenütt előfordulnak. Legnagyobb részük a nervus vagus ramus gastricus, cardiacus és pulmonalis felől jelölődött, kisebb számban, pedig a nervus laryngeus brevis felől. A harmadik csoportba tartozó idegsejtek az obex környékén találhatóak. A polygonalis vagy orsó alakú sejtestestből eredő dendritek dorsoventralis irányú elágazódást mutatnak, a dorsalis dendritek legyező-szerűen terjednek szét. Ezek a sejtek főleg a nervus laryngeus longus, kisebb részben a nervus laryngeus brevis felől jelölődtek (Matesz és Székely, 1996) (11. ábra).



11. ábra: A nucleus ambiguus cytoarchitectonikai szerveződése és beidegzési területe békában. A nagy méretű neuronokat sötét, a kis méretűeket világos pontok jelölik (Matesz és Székely, 1996).

2.3.3. Az agytörzsi vegetatív központok és a vestibularis rendszer kapcsolata

A testhelyzet változása következtében különböző receptorok aktivációja következik be. Ezek a receptorok részben a labirintusban helyezkednek el, részben proprioceptorok, vagy a bőrben elhelyezkedő receptorok, de aktiválódik a látórendszer és bizonyos zsigeri receptorok is. Klinikai vizsgálatok igazolták, hogy az otolith receptorok ingerlése megnöveli a szimpatikus idegrendszer aktivitását a baroreflexek aktivitásától függetlenül (Ray, 2000). Klinikai tapasztalatok és állatkísérletek egyaránt igazolták, hogy a labirintus károsodása hatással van a vegetatív idegrendszer működésére. A receptorokban keletkező ingerület az agytörzsi vestibularis magokba jut, amely magok közvetítésével egy adaptív válasz alakul ki a cardiovascularis, a gastrointestinalis és a légző rendszerben (Yates és mtsai., 2002; Yates és Bronstein, 2005; Raffai és mtsai., 2009). A vestibularis magkomplexen belül ún. autonóm régiót írtak le, amely fajoként változó módon a nucleus vestibularis medialis és inferior területére lokalizálható, a nucleus vestibularis lateralistól caudalisan (Yates és Miller, 1994; Shiba és mtsai., 1996; Jian és mtsai., 2005). Nem egységes az irodalom abban a tekintetben, hogy a vestibularis ingerületek milyen útvonalon jutnak el a vegetatív központokba. Békában a primer afferens vestibularis rostok erőteljes projekciót adnak a formatio reticularis területére, elsősorban a n. glossopharyngeus gyökerétől caudalisabban (Matesz, 1979). Emlősökben csak nagyon kevés primer afferens vestibularis rost végződik a formatio reticularisban.

A másodlagos vestibularis neuronok axonjai közül kevés számú végződik a nucleus dorsalis nervi vagi és a nucleus tractus solitarii területén emlősökben (Balaban és Beryozkin, 1994), így feltételezik hogy a vestibularis magoknak a formatio reticularisban végződő rostjai azok, amelyek erőteljesen befolyásolják a cardiorespiratorius rendszer aktivitását. A klinikai gyakorlatban jól ismert, hogy a vestibularis rendszer izgalma hányást és a szédülést vált ki és valószínűsíthető, hogy ezek a hatások is a formatio reticularison keresztül érvényesülnek. Neuronális jelölési módszerekkel igazolható, hogy a formatio reticularis igen erőteljes projekciót kap valamennyi vestibularis magból, azonban a projekció erőssége nem azonos az egyedi vestibularis magokat tekintve (Bácskai és mtsai., 2002; Matesz és mtsai., 2002). A híd és a nyúltvelő területén ez a projekció a formatio reticularis dorsalis részében található bilaterálisan, ezen belül a nucleus paragigantocellularis-ban, a nucleus reticularis intermedius-ban és a nucleus reticularis parvocellularis-ban. A formatio reticularis dorsolateralis részét lateral tegmental field-nek is nevezik. Ez a terület fontos szerepet játszik a cardiovascularis rendszer ellenőrzésében, a

légzés és a hányás folyamatának szabályozásában is (McCrimmon és mtsai., 1986; Barman és Gebber, 1987; Loewy és Spyer, 1990; Miller és Ruggiero, 1994; Yates és mtsai., 1995). Neuronális jelölési módszerrel kimutatták patkányban, hogy a nyúltvelő ventrocaudalis része a légzőizmokat beidegző motoneuronok felé projiciál (Aicher és mtsai., 1994). Békában csak a NVL projekciójáról vannak adatok, amelyek azt mutatják, hogy nagy számú axon projiciál a formatio reticularis területére (Matesz és mtsai., 2002).

3. CÉLKITŰZÉSEK

A vestibularis rendszer közvetlen és közvetett agytörzsi kapcsolatai fontos szerepet játszanak a test egyensúlyi helyzetének fenntartásában. Ezzel egyidejűleg a vestibularis rendszer a fej mozgásaival párhuzamosan koordinálja a szemmozgásokat annak érdekében, hogy a tekintet az adott testhelyzetnek megfelelően fixálódjon. Az agytörzsi egyensúlyozó rendszer információkat juttat el a vegetatív központokba is, és ezzel biztosítja, hogy az állandóan változó testhelyzetben az életfontosságú szervek működésének folyamatos korrekciója biztosítva legyen.

Mindezek figyelembevételével munkánk során, neuronális jelölési módszerek felhasználásával, békában, az alábbi kérdések megválaszolását tűztük ki célul:

1. Van-e közvetlen kapcsolat a n. oculomotorius és a n. trochlearis motoneuronjai között?
2. Milyen a kapcsolatok morfológiai jellemzője?
3. Van-e közvetlen kapcsolat a primer afferens vestibularis rostok és a n. glossopharyngeus és n. vagus motoneuronjai között?
4. Milyen a kapcsolatok morfológiai jellemzője?

A vestibularis rendszer közvetlen és közvetett kapcsolatainak felderítése nemcsak az elméleti neurobiológia szempontjából érdekes, de klinikai szempontból is jelentős lehet, mert a vestibularis rendszer kapcsolatrendszerének feltérképezése, és így a meglévő adatok újakkal történő kiegészítése hozzájárulhat ahhoz, hogy pontosabb ismeretekkel rendelkezünk a vestibularis károsodás tüneteinek kialakulásáról és az azok kompenzációjában részt vevő mechanizmusok működéséről.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Kísérleti állatok, a kísérletekhez szükséges engedélyek, az állatok altatása

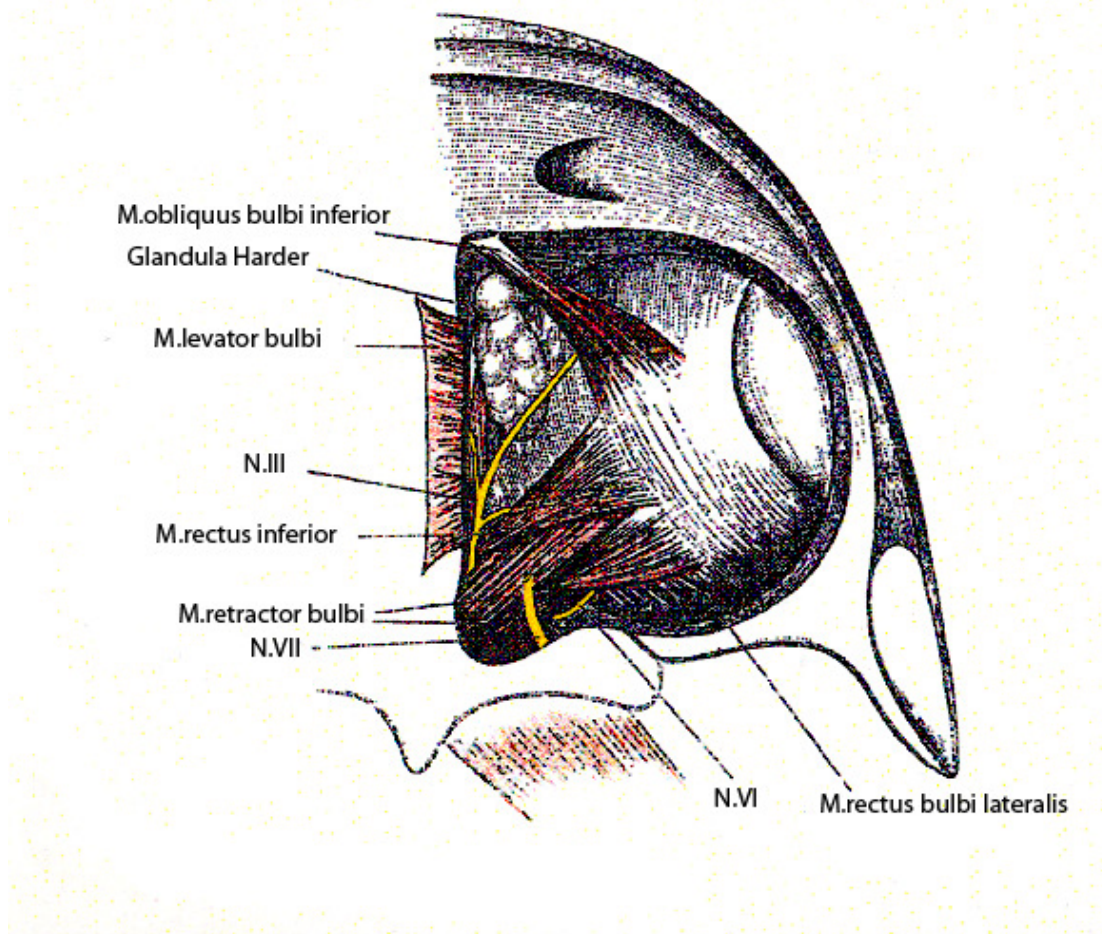
Kísérleteink alanya a valódi békák családjába (*Ranidae*) tartozó kecskebéka (*Rana esculenta*) volt. A vizsgálatokat mindkét nemből származó felnőtt békákon végeztük el, összesen 43 állaton. Az altatáshoz 0,01%-os MS-222 (tricain-metán-szulfonát; Sigma, St. Louis, MO) oldatot használtunk, amelyet az állatok hátbőrére csepegtettünk.

Az állatkísérletek végzéséhez az adott időszakban a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának 18/2006/DEMÁB számú érvényes engedélyével rendelkezünk.

4.2. Fluoreszcens kettős jelölés

4.2.1. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis jelölése

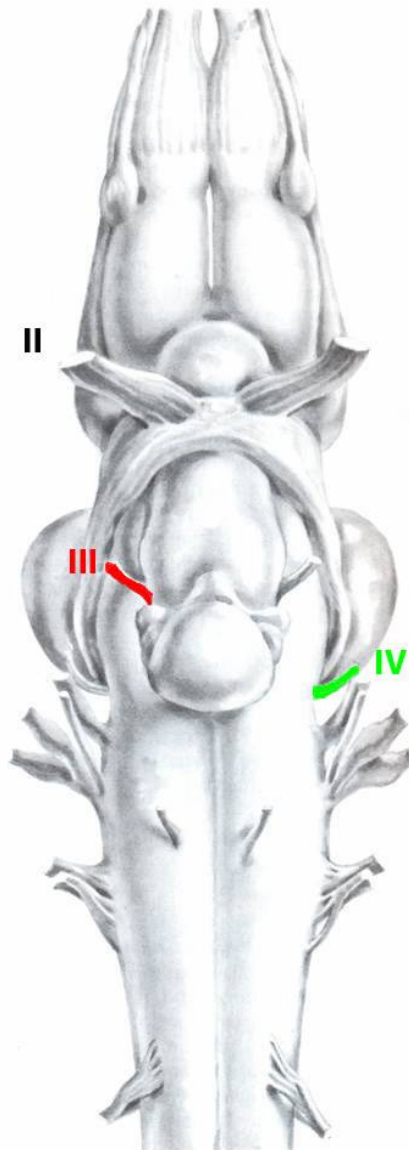
Kísérleteinkhez 15 kecskebékát használtunk fel. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis preparálását oropharyngealis irányból végeztük el, melynek során hosszanti metszést ejtettünk a szájpád nyálkahártyáján. Sztereomikroszkóp alatt a koponyát a parasphenoidealis csontok eltávolítása után felnyitottuk, az agyhártyákat eltávolítottuk, majd kipreparáltuk a jobb oldali nervus oculomotoriust és a bal oldali nervus trochlearist (Gaupp, 1896) majd az idegeket mikrosebészeti ollóval átvágtuk. A nervus oculomotorius átvágása közvetlenül a koponyából való kilépésnél történt (12.ábra). A dorsalisán eredő n. trochlearis az ellenoldali tectum opticum lateralis oldalán kerül a látótérbe; itt történt az ideg átvágása.



12. ábra: A béka szemmozgató idegeinek anatómiai viszonyai oropharyngealis irányból, a szájnyalkahártya átvágása után, a n. trochlearis mélyebb rétegekben található (Gaupp, 1896).

Annak érdekében, hogy az idegekre helyezendő különböző jelölőanyagok ne keveredjenek egymással, és ne kerülhessenek a környező agyidegekre esetleges aspecifikus jelelőldést eredményezve, szilikonolaj és zsír keverékéből mindkét ideg számára külön-külön kis „vályút” képeztünk. Ezt követően kristályos tetramethylrhodamine dextran amint (RDA, 3000 MW, Molecular Probes) helyeztünk a n. III proximalis csonkjára, a nervus trochlearis esetében, pedig fluorescein dextran amint (FDA, 3000 MW, Molecular Probes) használtunk (13. ábra). A folyamat végén az ideget tartalmazó vályút szilikonolaj és zsír keverékével lefedtük, majd a szájnyalkahártyát szövetragasztó segítségével illesztettük össze. Ezt követően az állatokat 12°C fokon tartottuk (Llinás, 1976), majd 5 nap túlélési időt követően a fent leírt módon újra elaltattuk. A mellkas felnyitása után a pericardiumot felvagtuk és a szívkamrába vezetett kanülön keresztül 0,6%-os fiziológiás sóoldattal perfundáltuk az állatot kb. 2-3 percig, majd intracardialis perfúzióval juttattuk be a fixáló

oldatot (4% paraformaldehid 0,1 M foszfát pufferben oldva, pH 7.4) is.



13. ábra: A contralateralis szemmozgató agyidegek fluoreszcens kettős jelölése;piros- RDA, zöld- FDA.

Ezután az agyat eltávolítottuk, és a mesencephalont tartalmazó részből egy szövetblokkot készítettünk. A blokkot egy éjszakára, a perfúzióra használt fixálószerben tartottuk hűtőszekrényben, majd 0, 1 M foszfát pufferben (PB) mostuk, majd 10%-os, ezt követően 20%-os szacharóz oldatban tartottuk leülepedésig. A mintából Vibratom segítségével 50 µm vastag metszeteket készítettünk, a szeleteket tárgylemezre helyeztük és Vectashielddel lefedtük (Vector, Burlingame, CA).

A mintákról 40x olajimmerziós objektívvel (numerikus apertúra = 1,3) felszerelt, Olympus FV1000 konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével felvételeket

készítettünk. Az RDA-val és a FDA-val jelölt részek kapcsolatának feltérképezése 1 μ m vastag optikai szeletek készítésével történt. A kapcsolatokat akkor tekintettük szoros appozíciónak, ha a vizsgált profilok ugyanabban a fókusz síkban voltak, és nem volt észrevehető távolság közöttük (Wouterlood és mtsai., 2002). A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis motoneuronjai közötti kapcsolatokat manuális számolását a rétegfelvételesorozatok áttekintésével végeztük.

4.2.2. A nervus vestibulocochlearis és a nervus glossopharyngeus, nervus vagus és a nervus accessorius jelölése



14. ábra: A vizsgálni kívánt ipsilateralis agyidegek fluoreszcens kettős jelölésének sémás ábrázolása;zöld-FDA, piros-RDA.

Kísérleteinket 16 kecskebékán végeztük el. Altatás után oropharyngealis megközelítésből az állatok szájnyálkahártyáját a középvonalban átvágtuk. Jobb oldalon felnyitottuk a capsula oticumot és a falának egy részét eltávolítottuk. Ezáltal láthatóvá vált a nervus vestibulocochlearis, amelyet a ganglion vestibulare-től medialisán átvágtunk. A részben eltávolított capsula oticum mögött láthatóvá vált a n. glossopharyngeus, a n. vagus és a n. accessorius egyesült idegtörzse, amelyet a ganglion jugularetől (n. X.) proximalisan átvágtunk (14. ábra). Az idegek izolálása, jelölése, a seb zárása az 5.2. fejezetnek megfelelően történt. A nervus vestibulocochlearist fluorescein dextran aminnal (FDA, 3000 MW, Molecular Probes), a nervus glossopharyngeust, a nervus vagust és a nervus accessoriust, pedig tetramethylrhodamine dextran aminnal (RDA, 3000 MW, Molecular Probes) jelöltük meg. Az 5 napos túlélési idő után a minták feldolgozása a fent leírtaknak megfelelően történt. Az eltávolított agyból a kisagy alatti agytörzs részletet használtuk fel.

4.3. Neurobiotin jelölés

Irodalmi adatok alapján ismert, hogy bizonyos kis molekulatömegű anyagok átjutnak a gap junctionokon, és ilyen módon a jelölőanyag kimutathatóvá válik a pre- és a postszinaptikus neuronban is. A jelenséget dye-coupled kapcsolatnak nevezték el (Pereda, 1995) és a módszert a gap junction kapcsolatok fénymikroszkópos szintű kimutatására alkalmazzák (Birinyi és mtsai., 2001; Bácskai és Matesz, 2000; Rácz és mtsai., 2006), miután a gap junction való átjutás bekövetkeztét fiziológiai és elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményei is bizonyították. Annak eldöntésére, hogy a n. III. és a n. IV. motoneuronjai, illetve a n. VIII. rostjai és a n. IX.- n. X. motoneuronjai között vannak-e gap junction típusú kapcsolatok, a következő vizsgálatokat végeztük el.

4.3.1.A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis jelölése neurobiotinnal

Ezekben a kísérletekben, egy állatban csak az egyik agyideget jelöltük. Mind a n. nervus oculomotorius mind a nervus trochlearis esetében 3-3 állatot használtunk. Az állatokat elaltattuk és a megfelelő ideget az 5.2. fejezetben leírt módon preparáltuk ki és vágtuk át. Az izolálásra használt szilikon olaj és zsír keverékéből készített vályúba egy vékony, az egyik végén leforrasztott üvegcsővet helyeztünk, amelybe előzőleg 5%-os

neurobiotin-oldatot (Vector) töltöttünk. Kihegyezett végű rovartű segítségével az ideget a folyadékot tartalmazó csőbe helyeztük és a cső végét a szilikonos keverékkel lefedtük. A sebet a korábbiakban leírt módon zártuk. A 12 °C-on tartott békákat 3 nap múlva újraaltattuk a korábban leírt módon. Ezt követően fiziológiás sóoldattal, majd 4%-os paraformaldehiddel (pH=7,4) transcárdialisan perfundáltuk. Az agyat eltávolítottuk és egy éjszakán át az előzőekben leírt módon fixáltuk. A mintát 0,1 M foszfát pufferben (PB) mostuk, majd 10% és 20%-os szacharóz oldatban tartottuk ülepedésig. Vibratom segítségével 60 µm vastag metszeteket készítettünk. A szeleteket 10 percig 0,1 M PB-ben illetve PBS-ben mostuk, és egy órán át 0.001% Extravidint (Sigma, St. Louis, MO) tartalmazó PBS-ben inkubáltuk. A mintákat ezután 10 percig mostuk PBS-ben, 0.1 M PB-ben és 0.05 M TRIS pufferben (pH=8), majd 0.075% diaminobenzidint (Sigma, St.Louis, MO), 0.6% nickel-ammonium szulfátot, és 0.015% hidrogén peroxidot tartalmazó 0.05 M TRIS pufferbe helyeztük a fekete színű csapadék megjelenéséig. A metszeteket végül TRIS pufferben mostuk és zselatinnal borított fedőlemezre tettük. A mintákat egy éjszakán át, száradni hagytuk és DPX-szel (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo) fedtük le. A metszetekről Nikon Eclipse 800 típusú mikroszkóp segítségével készítettünk képeket.

4.3.2. A nervus vestibulocochlearis jelölése neurobiotinnal

A vestibularis afferens rostok és a nucleus ambiguus motoneuronok közötti gap junction típusú kapcsolatok vizsgálatához a nervus vestibulocochlearist a 4.2.2. fejezetben leírt módon kipreparáltuk és a ggl. vestibulare-tól medialisán átvágtuk. A neurobiotin alkalmazása, a túlélési idő és a feldolgozás a 4.3.1.-ban .

A békákat (n=3) 5 napig 12°C-n tartottuk, ezután újraaltattuk. A neurobiotinos minták feldolgozása a fent leírtaknak megfelelően történt.

4.4. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

A nervus oculomotorius és n. trochlearis motoneuronjai közötti dendrodendritikus és dendroszomatikus kapcsolatok morfológiai részleteinek tanulmányozásához elektronmikroszkópos vizsgálatokat végeztünk. A kísérletekhez 3 kecskebékát használtunk. Az állatok altatását a korábban leírt módon végeztük, majd fiziológiás sóoldattal, illetve 2%-os paraformaldehydet és 1,25%-os glutáraldehydet tartalmazó

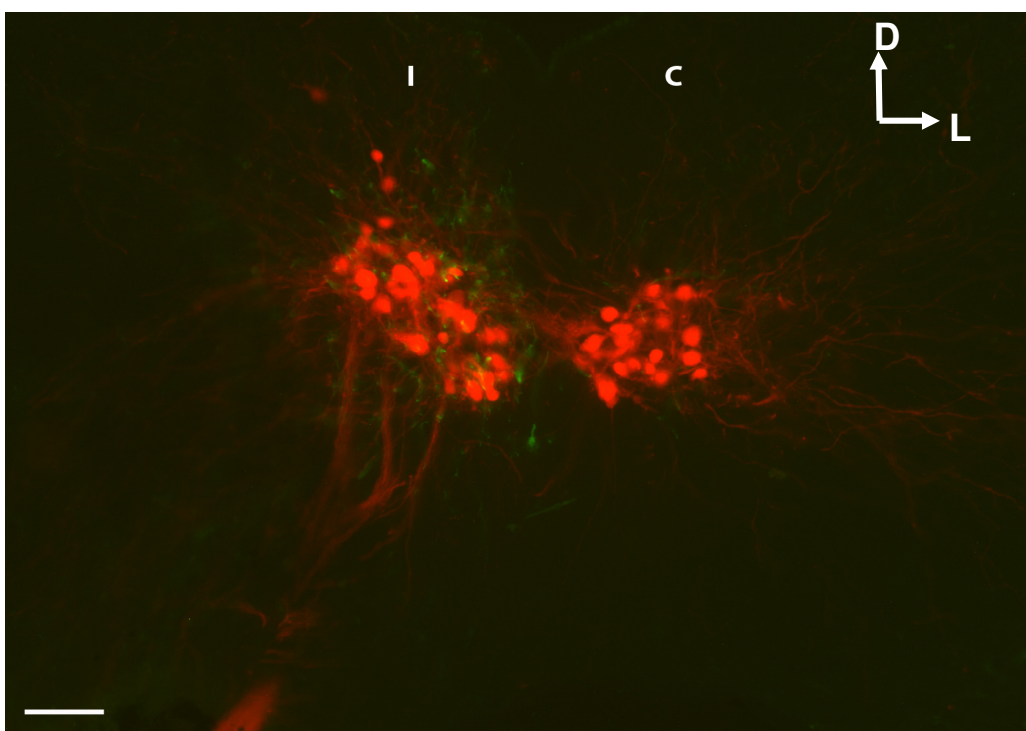
fixálószerrel (pH=7,4) transcardialisan perfundáltunk. A mesencephalonból kivágtuk a nucleus oculomotorius tartalmazó részt, majd 1%-os 40 perces osmium-tetroxiddal (TAAB, 0,1 M PB-ben, pH=7,4-ben oldva) történő utófixálásnak vetettük alá. Ezt követően felszálló alkohol sorban dehidráltuk és epoxi-gyantába, (Durcupan ACM, Fluka) ágyasztuk. A blokkokból félvékony metszeteket készítettünk, majd az oculomotorius és trochlearis magokat tartalmazó területekből ultravékony metszeteket készítettünk Reichert ultramikrotóm segítségével. A hártás gridre helyezett (Formvar-coated nikkel grid) metszeteket, ezt követően uranyl-acetáttal (5,0%-os abszolút alkoholban oldva) 20 percig és ólomcitráttal (Reynolds-oldat) 10 percig kontrasztoltuk. Az elektronmikroszkópos felvételeket Jeol 1010 elektronmikroszkóppal készítettük.

5. EREDMÉNYEK

5.1. Az oculomotorius és a trochlearis motoneuronok közötti kapcsolatok vizsgálata

5.1.1. A n. oculomotorius és a n. trochlearis fluoreszcens jelölése

A nervus oculomotorius RDA-val történt jelölése után a mesencephalon tegmentumának ventromedialis részében jelölődtek a motoneuronok (15. ábra).

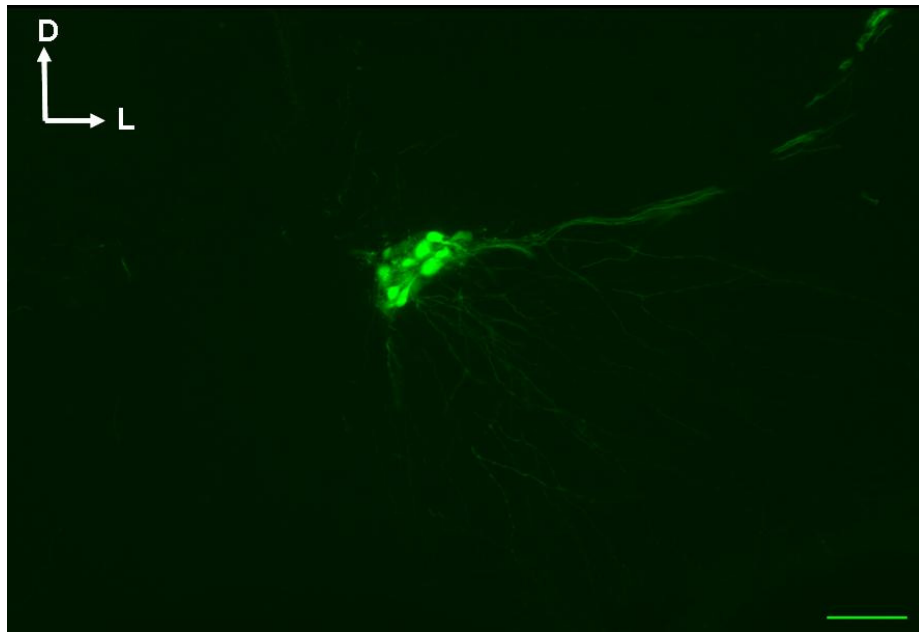


15. ábra: Fluoreszcens mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről az oculomotorius mag szintjében. (I: ipsilateralis oldal, C: contralateralis oldal). Kalibrációs vonal: 50 μm .

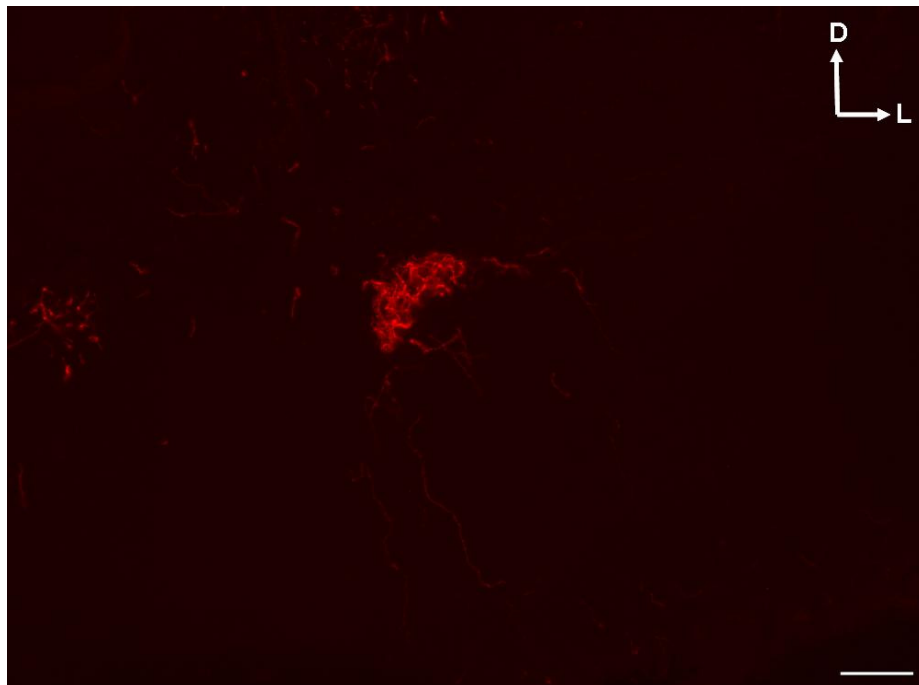
A jelölt sejtek legnagyobb számban az azonos oldalon voltak, ezeknek a sejteknek az axonjai egyenes lefutás után hagyták el az agytörzset. Az RDA alkalmazásával ellentétes oldalon is jelölődtek perikaryonok az oculomotorius mag caudalis végében, amelyeknek az axonjai térdet képeztek az azonos oldali sejtek körül és a jelölés oldalán, hagyták el az agytörzset. A dendritek legyezőszerűen ágazódtak el, ezen belül a legtöbb ágat és a leggazdagabban elágazódó dendritfát dorsomedialis és ventrolateralis irányban találtuk. Mindezek mellett, egy erőteljes dendritköteg a mag caudalis pólusától indulva benyomul a

trochlearis motoneuronok közé (17. ábra).

A n. trochlearis FDA-val történt jelölése után a trochlearis motoneuronok a mesencephalon caudalis részében jelölődtek (16. ábra).



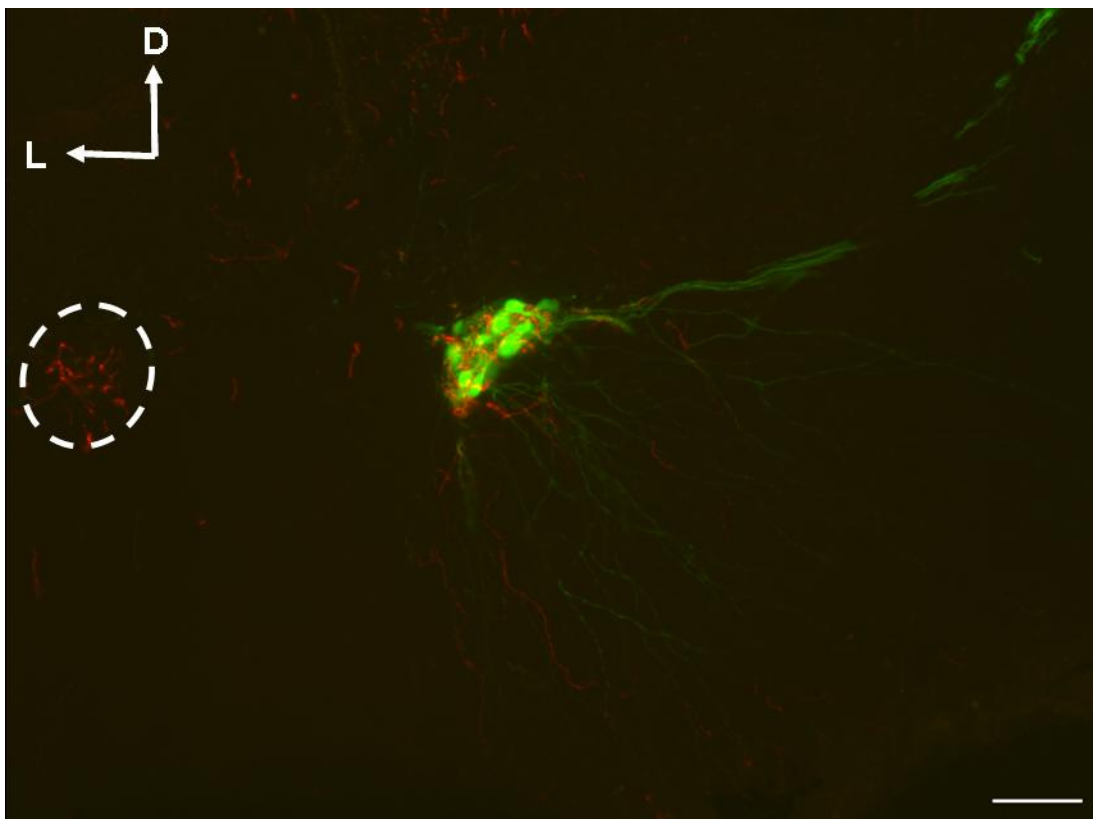
16. ábra: Fluoreszcens mikroszkópos felvétel a n. trochlearis (FDA) magjának szintjében, agytörzs keresztmetszetben. Kalibrációs vonal: 50 μm .



17. ábra: A n. oculomotorius dendritjei a trochlearis mag szintjében. Kalibrációs vonal: 50 μm .

Az axonok dorsolateralis eredés után a szürke és a fehérállomány határán haladtak dorsalis irányba, majd az ellenkező oldalra kereszteződve léptek ki az agytörzsből. A

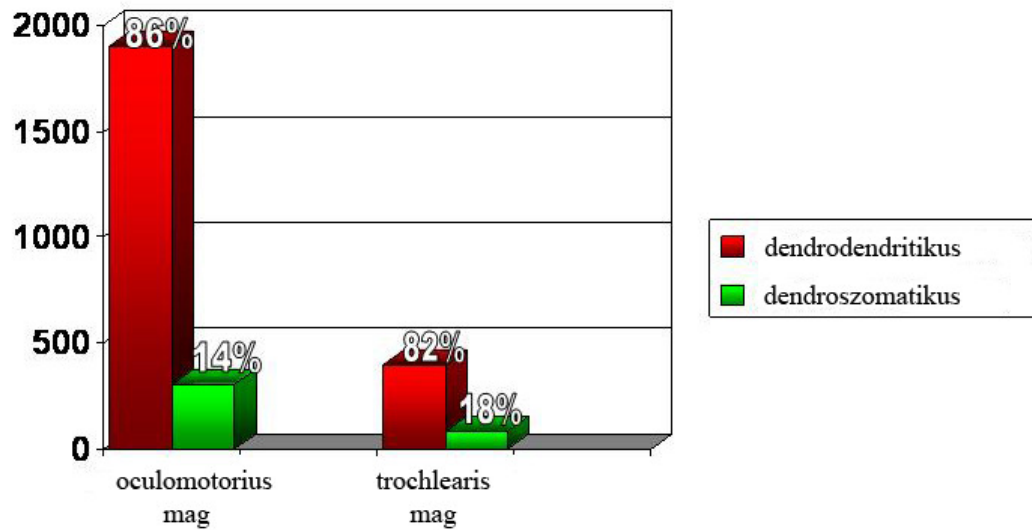
dendritek kisebb része dorsalis, nagyobb része lateralis irányba követhető, ezen kívül egy rostral felé irányuló dendritköteg is megfigyelhető, amely az oculomotorius mag perikaryonjai közé követhető (15. ábra). Mindkét mag esetében a jelölődött motoneuronok elhelyezkedése és morfológiája hasonló volt, mint amit korábban kobalt-jelöléses technikával kaptak (Matesz és Székely, 1977). A kétféle jelöléssel készült felvétel egymásra vetítésekor megfigyeltük, hogy az oculomotorius perikaryonok és dendritek között nagy számban voltak trochlearis dendritek (15. ábra), és fordítva: a trochlearis motoneuronok sejttestei és dendritjei között az RDA-val jelölődött oculomotorius dendritek voltak jelen (18. ábra). Az oculomotorius és trochlearis neuronok dendritjei nagy számban keveredtek egymással a magok által határolt területen kívül is.



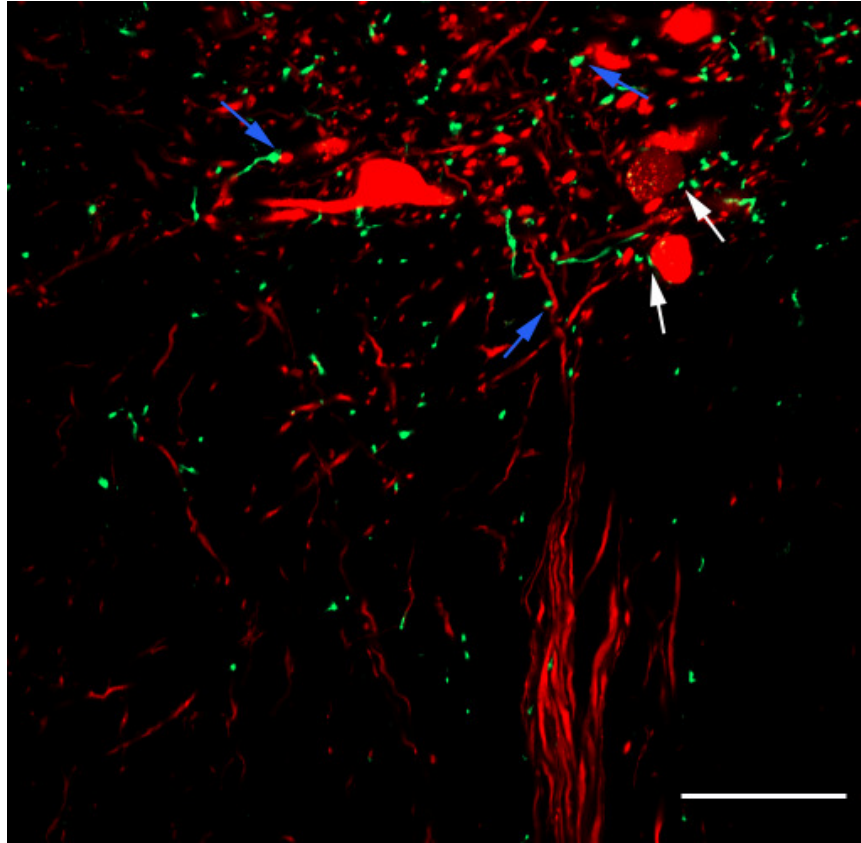
18. ábra: Fluoreszcens mikroszkópos felvétel a trochlearis mag szintjében. Zöld színnel a trochlearis motoneuronok, pirossal az oculomotorius dendritek láthatók (összevetített ábra). A szaggatott vonal az ellenoldali oculomotorius magot mutatja. Kalibrációs vonal: 50 μ m.

Konfokális mikroszkópos felvételeken nagyszámú érintkezést tudtunk detektálni mindkét mag területén (19. ábra). Az oculomotorius magban 2210 kapcsolatot számoltunk meg, amelynek 86%-a dendrodendritikus volt, a maradék 14% dendroszomatikusnak bizonyult (20. ábra). Hasonló eloszlást tapasztaltunk a trochlearis mag területén is: az ide érkező oculomotorius dendritek 82%-a dendrodendritikus kapcsolatot alakított ki, a maradék 18% pedig dendroszomatikus kontaktusokat létesített (21. ábra). A trochlearis

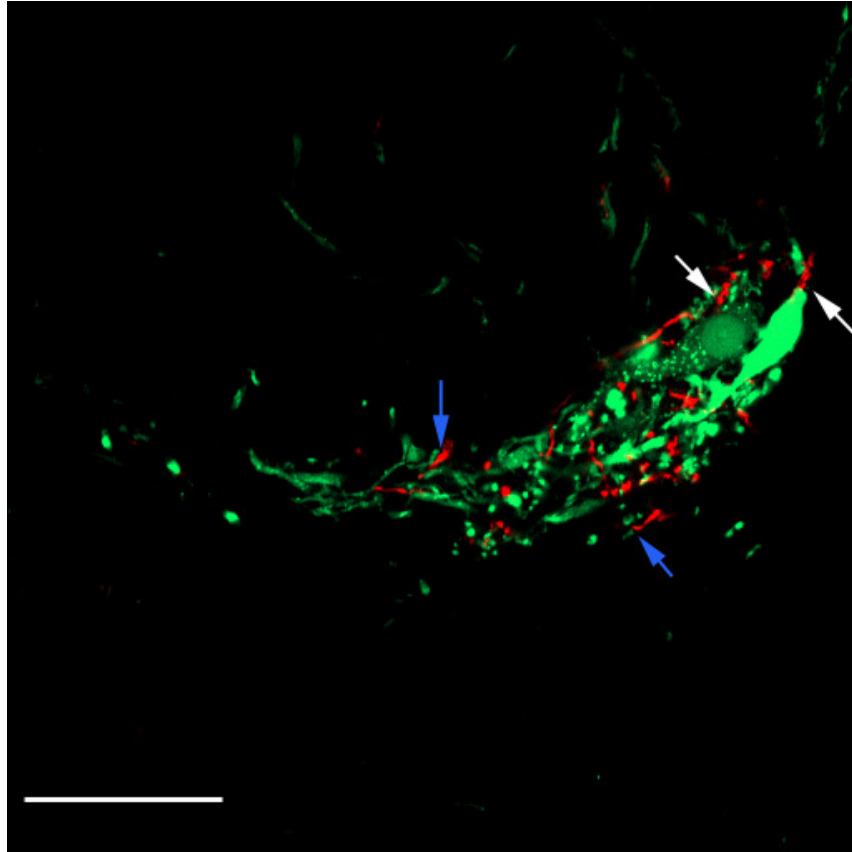
magban összesen 485 szoros összefekvést találtunk $0,1 \text{ mm}^2$ -en. A kapcsolatok száma és azok típusának aránya hasonló volt az egyes állatokból származó mintákban. Az egymással szomszédos részletek közötti távolság a membránok igen közeli elhelyezkedésére utalt.



19. ábra: A dendrodendritikus és dendroszomatikus kapcsolatok százalékos megoszlása az oculomotorius és a trochlearis magokban.



20. ábra: Konfokális mikroszkópos felvétel az oculomotorius mag területéről. A dendrosomatikus kapcsolatokat fehér, a dendrodendritikus kapcsolatokat pedig kék nyilak jelölik. A piros szín n. oculomotoriust, a zöld szín a n.trochlearist jelöli. Kalibrációs vonal: 1 μ m.



21. ábra. Konfokális mikroszkópos felvétel a trochlearis mag területéről. A dendroszomatikus kapcsolatokat fehér, a dendrodendritikus kapcsolatokat pedig kék nyilak jelölik. A piros szín n. oculomotoriust, a zöld szín a n.trochlearist jelöli. Kalibrációs vonal: 1 μ m.

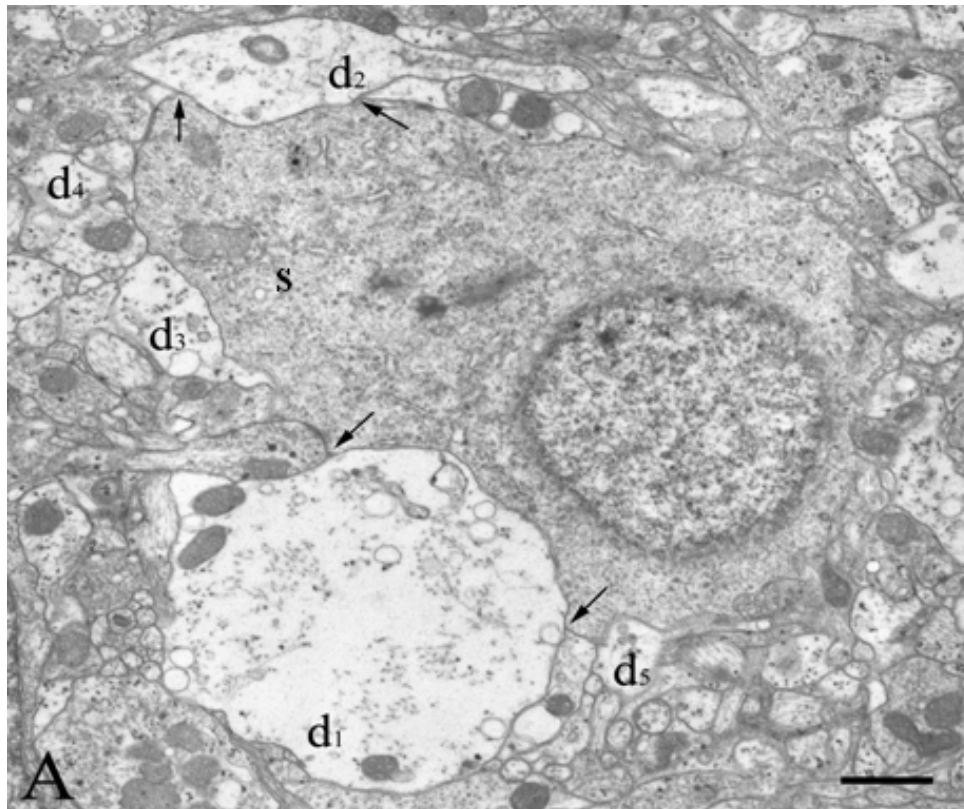
5.1.2. A n. oculomotorius és a n. trochlearis jelölése neurobiotinnal

A nervus oculomotorius neurobiotinnal történő jelölése esetén csak ott jelölődtek motoneuronok, ahol azokat korábban akár kobalt jelöléssel, akár RDA-val láttuk. Hasonlóképpen, amennyiben a nervus trochlearis jelöltük meg, a jelölőanyag csak a trochlearis motoneuronokban volt kimutatható. Tehát egyetlen esetben sem találtunk dye-coupled kapcsolatokat az oculomotorius és a trochlearis mag motoneuronjai között.

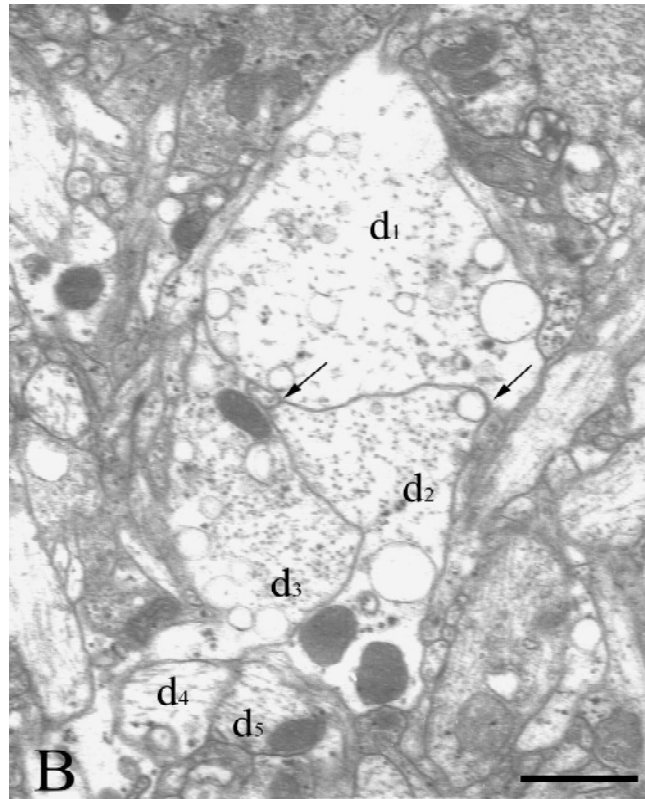
5.1.3. Elektronmikroszkópos vizsgálatok

Az oculomotorius és a trochlearis mag területéről származó elektronmikroszkópos mintákban a neuronok a jól ismert morfológiai képet mutatták. A sejttesteken és a

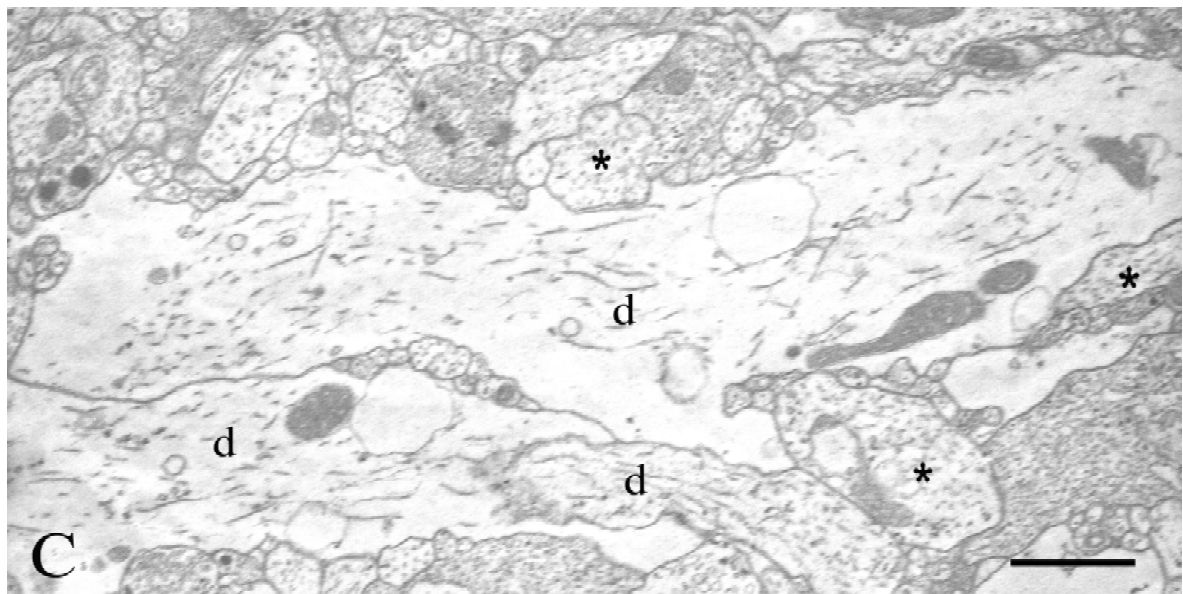
dendriteken végződött axonterminálisok egy része kerek, más része lapos vesiculákat tartalmazott. A neuropil területén számos, egymáshoz közel elhelyezkedő dendritet lehetett megfigyelni. Gyakori volt, hogy 4-8 szomszédos dendrit kötegeket alkotott. Ezeket az aggregátumokat a szakirodalom dendrodendritikus "thickets"-eknek nevezte el (Stensaas és Stensaas, 1971). Ezen "thickets"-ben, az egymással összefekvő dendritek párhuzamosan vagy merőlegesen futottak egymáshoz képest. A dendritek átmérője 0,5- 4,5 μm között volt, és viszonylag nagy felületen, 2-3 μm hosszú membránszakaszokon, érintkeztek egymással. Az összefekvő membránok közötti rés vastagsága egyenletes volt, nem találtunk gap junctionra utaló keskeny réseket. Ugyancsak nem találtunk szinaptikus denzitásra jellemző képleteket, sem pedig szinaptikus vesiculákat (22-24. ábra).



22. ábra: Dendroszomatikus kapcsolat az oculomotorius mag szintjében, d_1 - d_5 a szoros kapcsolatban lévő dendriteket jelölik, közbeékelődő gliális elemek nélkül, S- oculomotorius motoneuron szómája. A nyilak az összefekvéseket mutatják a sejttest és a dendritek között. Kalibrációs vonal: 1 μm .



23. ábra: A közeli kapcsolatokat létesítő dendritek keresztmetszeti képe (d₁-d₅: dendritek). A nyilak az összefekvéseket mutatják a szomszédos dendritek között. Kalibrációs vonal: 1 μm.



24. ábra: Az egymással szoros kapcsolatban lévő dendritek hosszszetszeti képe (d), a csillagok dendrit-keresztmetszeteket jelölnek. Kalibrációs vonal: 1 μm.

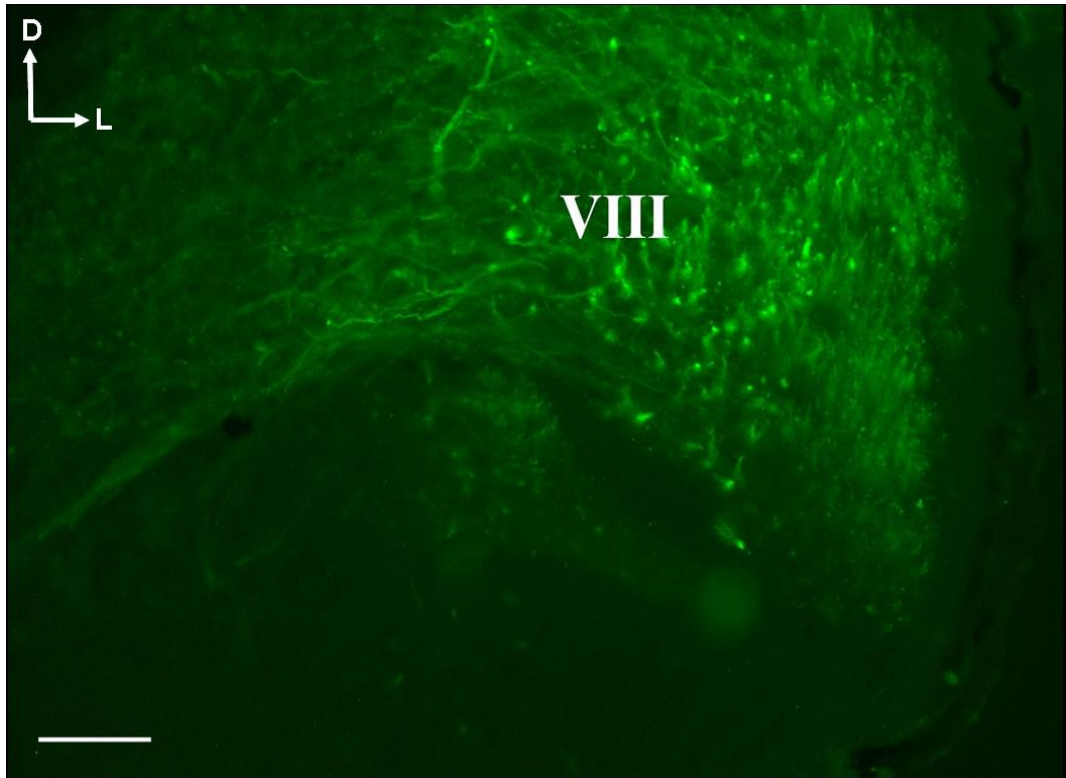
5.2.A nervus vestibulocochlearis, nervus glossopharyngeus és nervus vagus centralis kapcsolatai

5.2.1. A n. vestibulocochlearis és a nervus glossopharyngeus és vagus jelölése különböző fluoreszcens jelölőanyagokkal

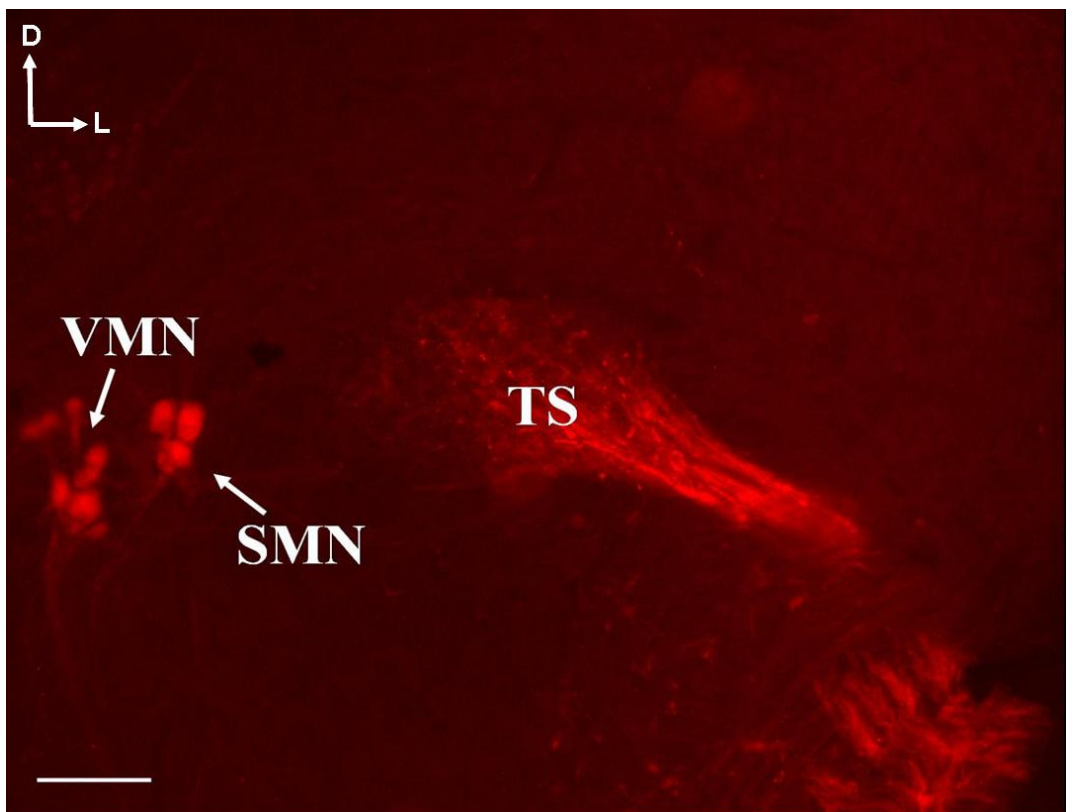
Az FDA-val jelölt vestibularis afferens rostok a korábbi kísérletek (Matesz, 1979; Birinyi és mtsai., 2001) során leírt mintázatnak megfelelő eloszlást mutattak.

A n. IX., n. X. és n. XI. RDA-val történő jelölése is hasonló megoszlást mutatott, mint amit a kobalt-klorid vagy kobalt-lizin alkalmazásával tapasztaltak (Matesz, 1979; Matesz és Székely, 1996) (25-26. ábra). A n. IX., n. X. és n. XI. esetében a magassági és a keresztmetszeti lokalizáció megállapításához azokat az eredményeket használtuk, amelyekben az egyes ágakat szeparáltan jelölték, és amelyben feltérképezték a nucleus ambiguus cytoarchitektonikáját és musculotopiás lokalizációját (Matesz és Székely, 1996).

Az RDA és FDA jelölés együttes vizsgálata azt mutatta, hogy a n. accessorius perikaryonjai és azok dendritjei a vestibularis rostok végződési területén kívül esnek, így az accessorius motoneuronokat a továbbiakban nem elemezzük. A n. vestibulocochlearis rostjainak valamint a n. IX. és n. X. motoneuronjainak és érző rostjainak átfedési területe az obextől kb. 2400 μm -re rostralisán kezdődött, és caudalis irányba 1400 μm hosszúságban folytatódott (26. ábra).



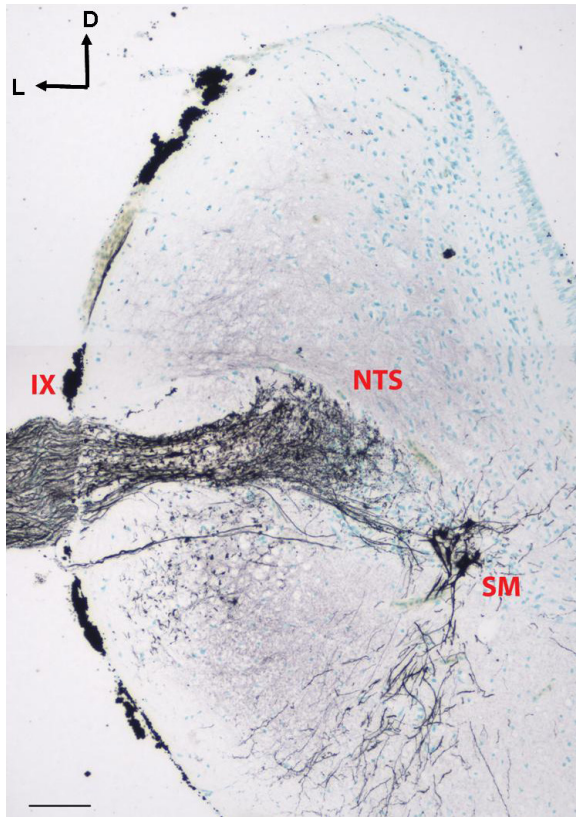
25. ábra. Fluoreszcens mikroszkópos felvétel a n. glossopharyngeus kilépési szintjénél agytörzs keresztmetszetben ;VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA). Kalibrációs vonal: 50 μ m.



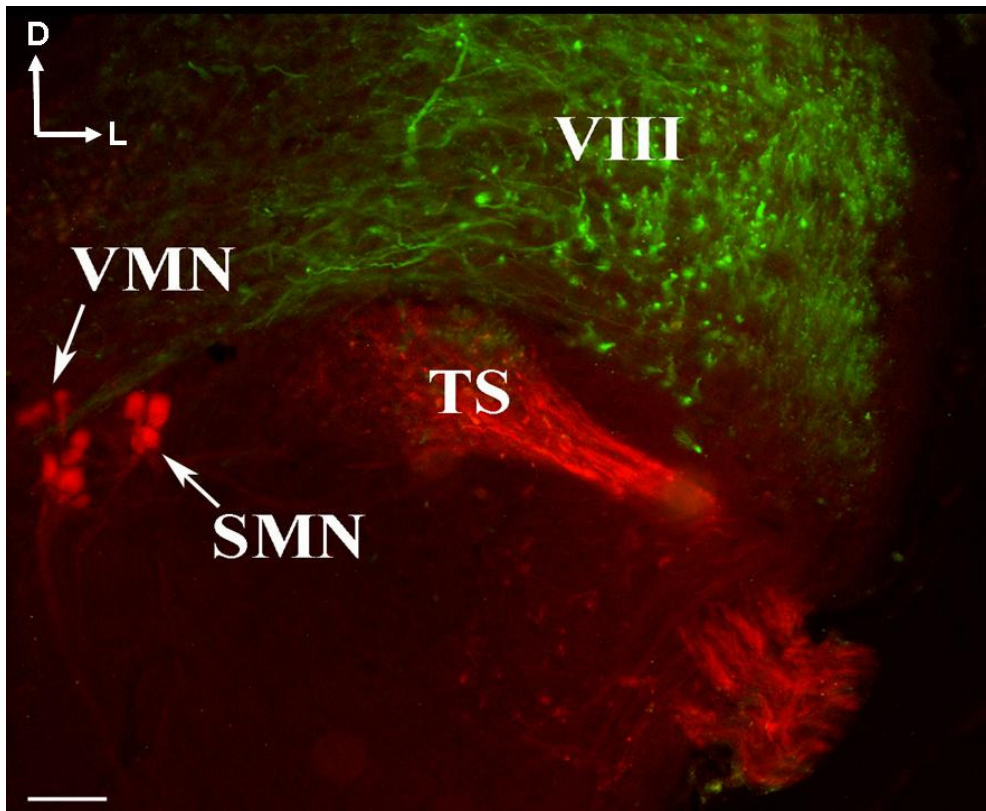
26. ábra: Keresztmetszet az agytörzsből a n. glossopharyngeus (RDA) kilépésénél. (TS: tractus solitarius, SMN: somatomotoros mag, VMN: visceromotoros mag). Kalibrációs vonal: 50 μ m.

Ezen a területen belül az FDA-val jelölődött primer afferens vestibularis rostokat, amelyek vastag rostok voltak, a vestibularis magkomplexbe tudtuk követni. A rostok egy része, körbevéve a nucleus tractus solitarii dorsalis vagy dorsomedialis oldalát, medial felé folytatódott a formatio reticularis területére, ahol nagyszámú, vékony kollaterálist adtak. A n. glossopharyngeus gyökerének belépésénél a vestibularis rostok keveredtek a motoneuronok sejttesteivel és dendritjeivel (27-28. ábra). Ezek a motoneuronok a garat m. petrohyoideus anteriorját látják el. A n. IX. gyökerétől caudalisabban a vestibularis rostok jelentős része eléri a formatio reticularis zona reticularis lateralejét, ami egy kissejtes területet a nucleus tractus solitarii közelében (Opdam és mtsai., 1976). Ezen a területen RDA-val jelölődött kisméretű idegsejtek voltak, hasonló elhelyezkedésben és rostrocaudalis magasságban, mint ahogy a ramus gastricus, cardiacus és pulmonalis szelektív jelölése esetén voltak a kisméretű neuronok (Stuesse és mtsai., 1984, Matesz és Székely, 1996) (29-32. ábra). Ezen kívül vestibularis rostokat találtunk azoknak a nagy sejteknek a perikaryonjai és a dorsomedialis dendritjei között is, amelyek a garat m. petrohyoideus posteriorját és a gége izmokat látják el. Nagy számban figyeltünk meg a nucleus tractus solitarii-ba futó, FDA-val jelölt vestibularis rostokat is (33-34. ábra).

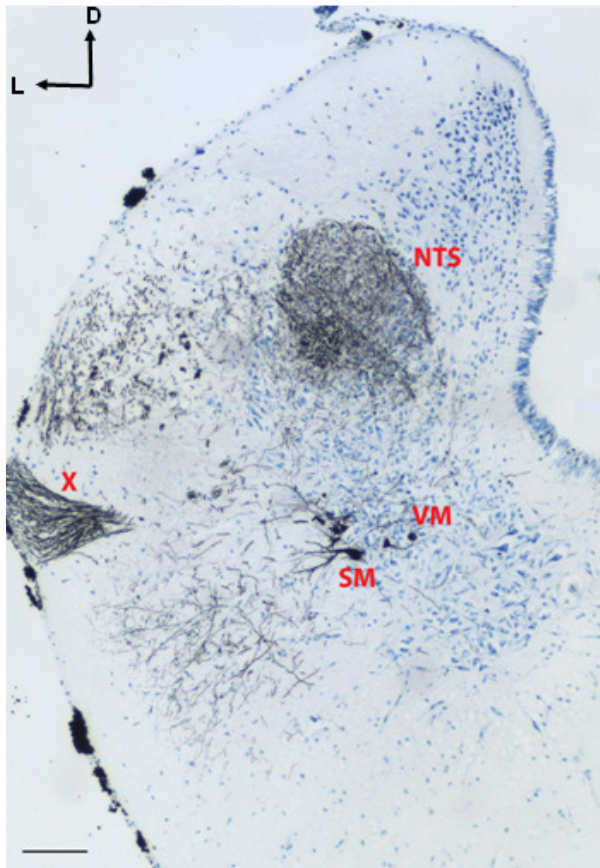
Konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével nagyszámú kapcsolatot tudtunk kimutatni a vestibularis afferens rostok és a nucleus ambiguus sejtteste (35-38. ábra) és dendritjei (39-41. ábra) között. A kétdimenziós (XY) felvételeken nem fedeztünk fel részt az FDA/RDA-al jelölt részletek között, ami arra utal, hogy a szoros kapcsolatok közé nem ékelődnek be gliasejtek és neuronális elemek. Megszámoltuk a közeli kapcsolatokat a nucleus ambiguus rostralis részén, ahol a garatizomzat (m. petrohyoideus anterior) somatomotoros neuronjai helyezkednek el, itt a közeli kapcsolatok száma $48,3 \pm 3,6$ volt $0,1 \text{ mm}^2$ – es területen. A nucleus ambiguusnak a gyomor, a szív és a tüdő visceromotoros neuronjait magában foglaló középső területén, az obextől rostralisán körülbelül $1300 \mu\text{m}$ -re, a közeli kapcsolatok száma $59,4 \pm 3,4$ volt $0,1 \text{ mm}^2$ -enként. Ugyanebben a magasságban a garat m. petrohyoideus posteriorját és a gégeizmokat beidegző somatomotoros neuronok valamint a vestibularis rostok közötti szoros kapcsolatok száma $46,5 \pm 3,8$ volt $0,1 \text{ mm}^2$ –es területen.



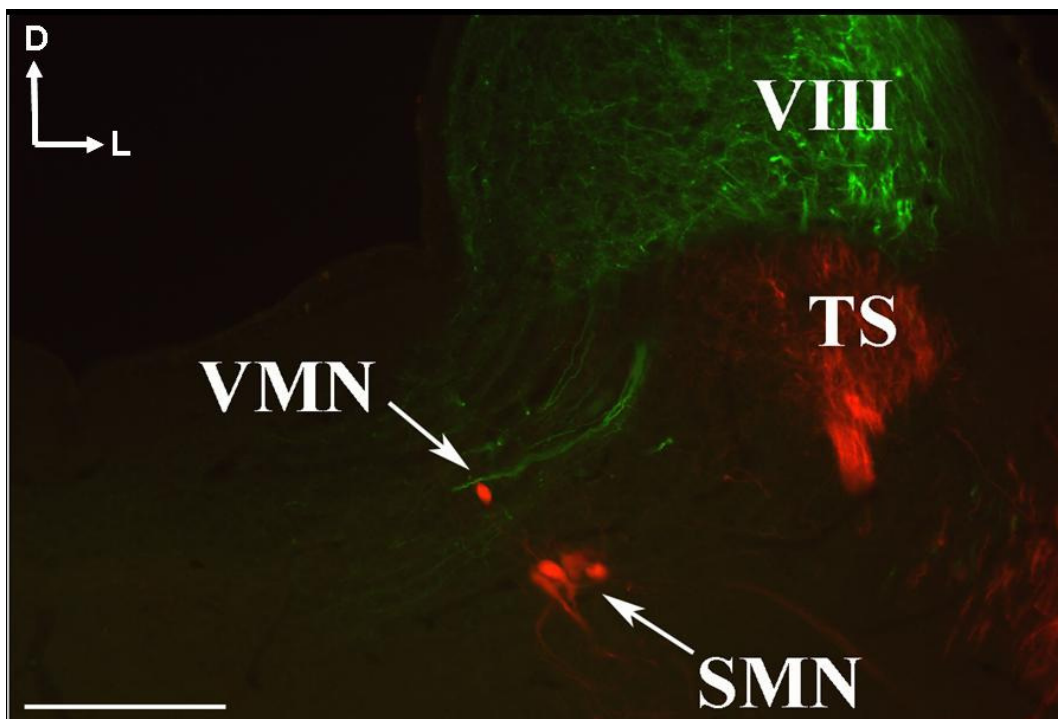
27. ábra: Keresztmetszet az agytörzsből a n. IX. kilépésének magasságában. A n. IX. kobalt jelölése (Matesz és mtsai.,1996). IX.: n.glossopharyngeus, NTS: nucleus tractus solitarii, SM: somatomotoros neuronok. Kalibrációs vonal: 50 µm.



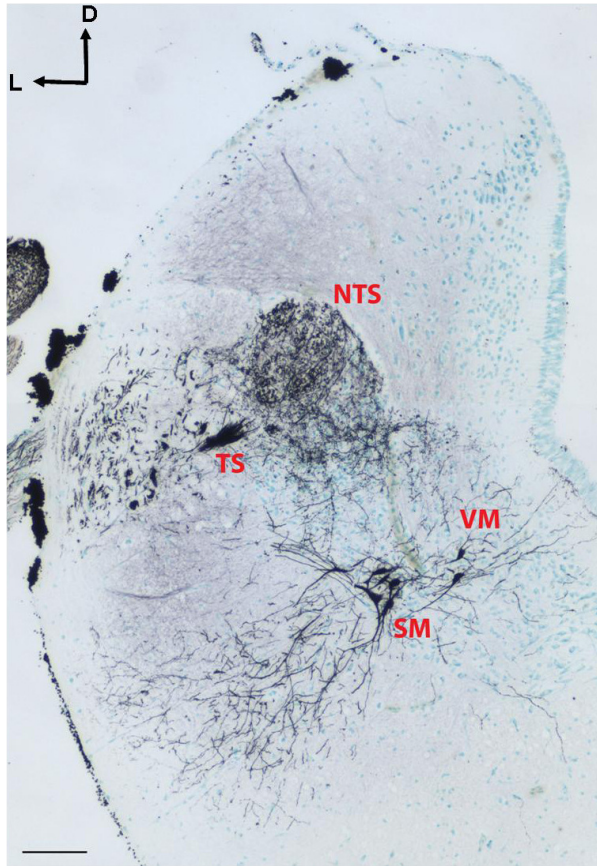
28. ábra. Fluoreszcens mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről a n. glossopharyngeus kilépésének magasságában VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA), IX.: n. glossopharyngeus (RDA), TS: tractus solitarius, SMN: somatomotoros neuronok, VMN: visceromotoros neuronok. Kalibrációs vonal: 50 µm.



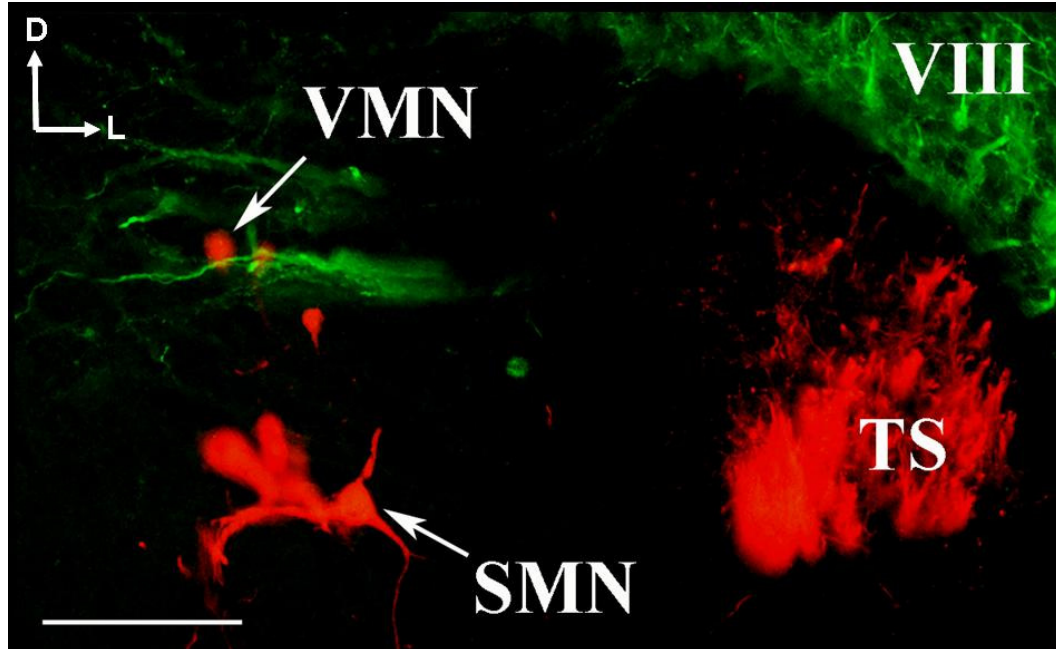
29. ábra: Keresztmetszet az agytörzsből az obextől rostralisan 1600 μm távolságra. A n.X. kobalt jelölése (Matesz és mtsai., 1996), X: n. vagus, NTS: nucleus tractus solitarii, VM: visceromotoros neuronok, SM: somatomotoros neuronok. Kalibrációs vonal: 50 μm .



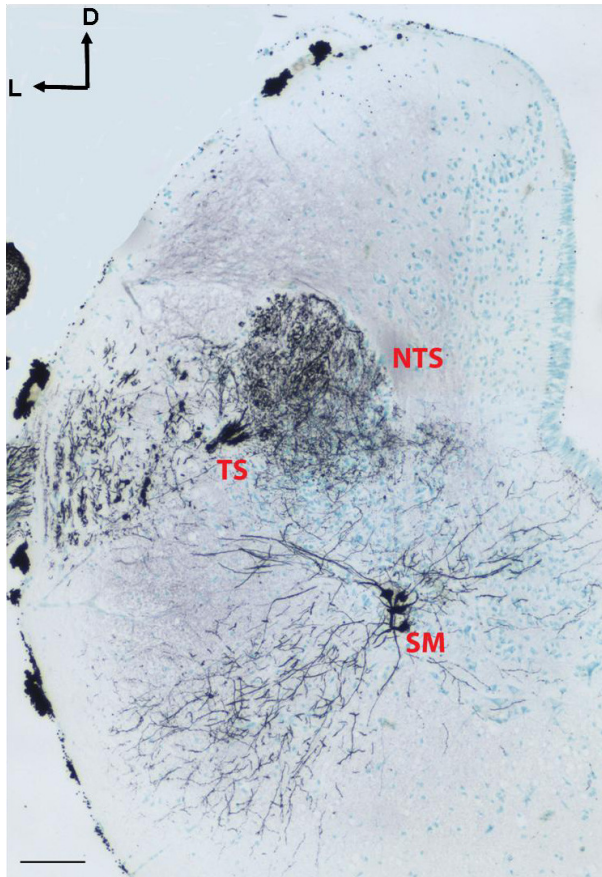
30. ábra. Fluoreszcens mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről az obextől rostralisan 1600 μm távolságra, VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA), TS: tractus solitarius, SMN: somatomotoros neuronok, VMN: visceromotoros (RDA) neuronok. Kalibrációs vonal: 50 μm .



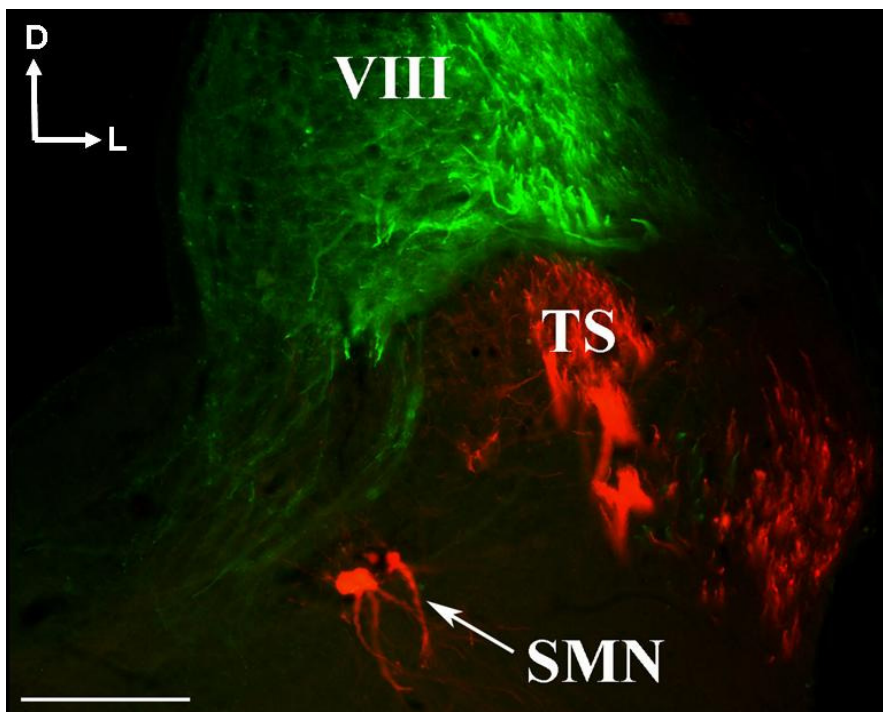
31. ábra. Keresztmetszet az agytörzsből az obextől rostralisan 1300 μm -re. A n. X. kobalt jelölése (Matesz és mtsai., 1996), TS: tractus solitarius, NTS: nucleus tractus solitarii, VM: visceromotoros neuronok, SM: somatomotoros neuronok. Kalibrációs vonal: 50 μm .



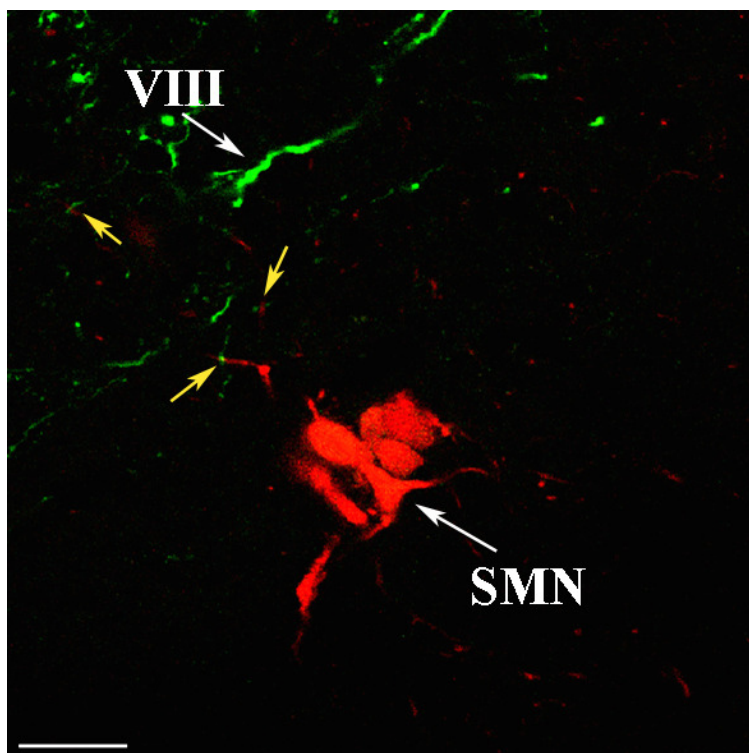
32. ábra: Fluoreszcens mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről az obextől rostralisan 1300 μm távolságra, VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA), TS: tractus solitarius, SMN: somatomotoros neuronok, VMN: visceromotoros (RDA) neuronok. Kalibrációs vonal: 50 μm .



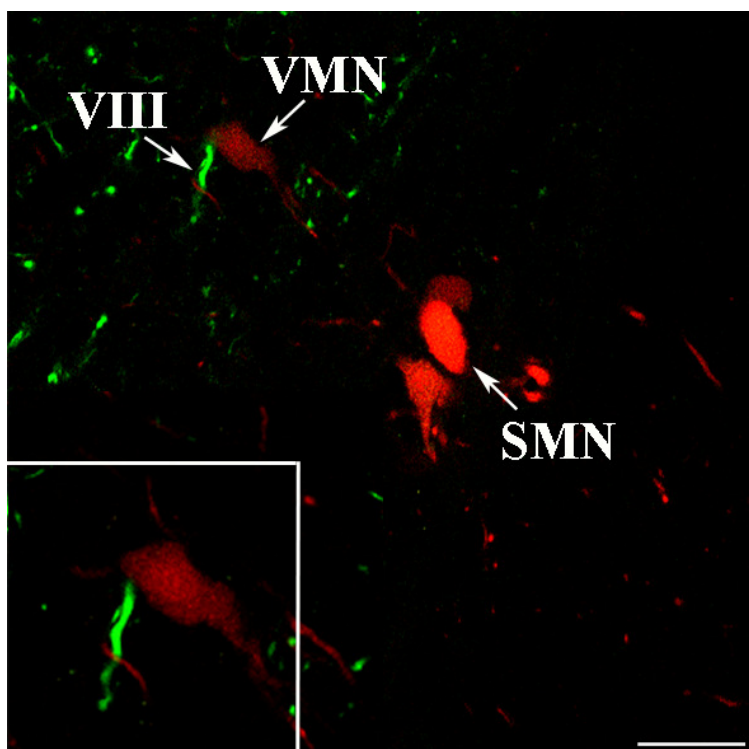
33. ábra. Keresztmetszet az agytörzsből az obextól rostralisan 1000 μm -re. A n. X. kobalt jelölése (Matesz és mtsai., 1996), TS: tractus solitarius, NTS: nucleus tractus solitarii, SM: somatomotor neuronok. Kalibrációs vonal: 50 μm .



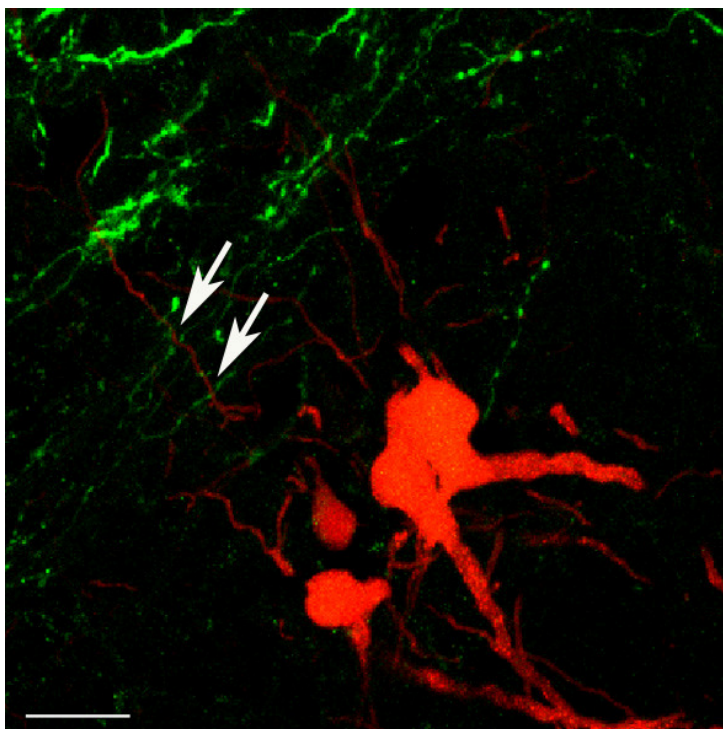
34. Ábra: Fluoreszcens mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről az obextól rostralisan 1000 μm -re. VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA), TS: tractus solitarius, SMN: somatomotoros (RDA) neuronok. Kalibrációs vonal: 50 μm .



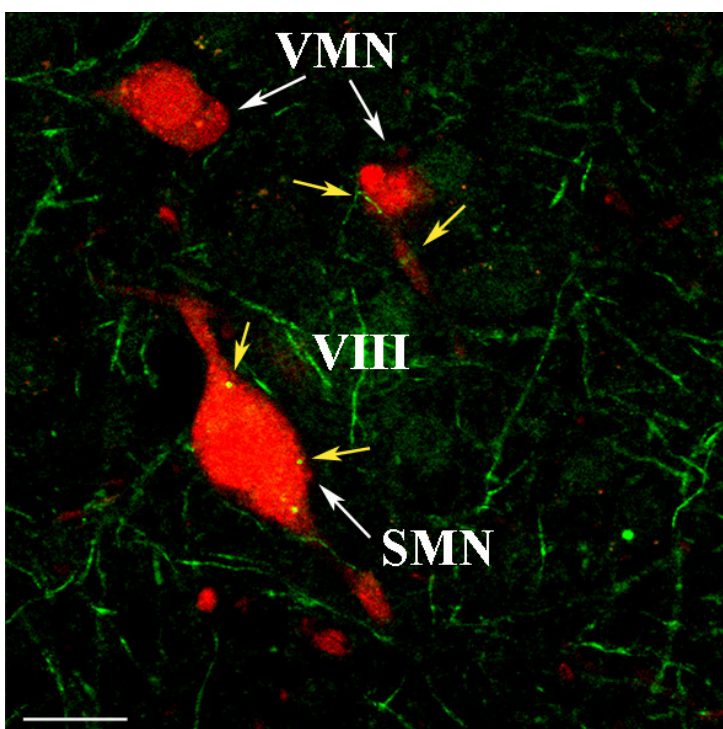
35. ábra: Konfokális mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről az obextól rostralisán 1300 μm távolságban. VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA), SMN: somatomotoros (RDA) neuronok. A sárga nyilak a szoros appozíciókat jelölik. Kalibrációs vonal: 100 μm .



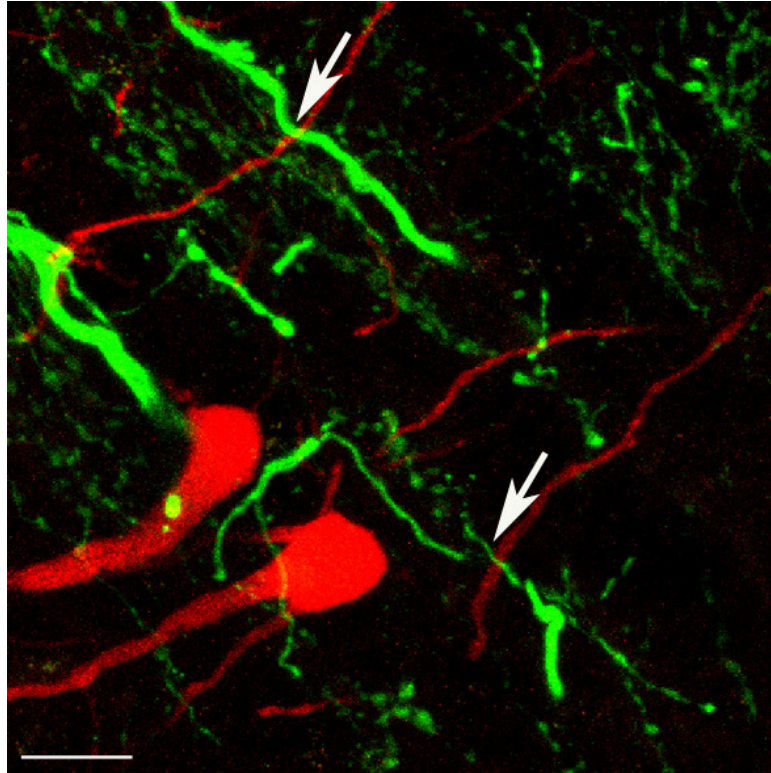
36. ábra: Konfokális mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről az obextól rostralisán 1300 μm távolságban. VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA), SMN: somatomotoros neuronok, VMN: visceromotoros (RDA) neuronok. Az inzerten axosomatikus appozíció látható. Kalibrációs vonal: 100 μm .



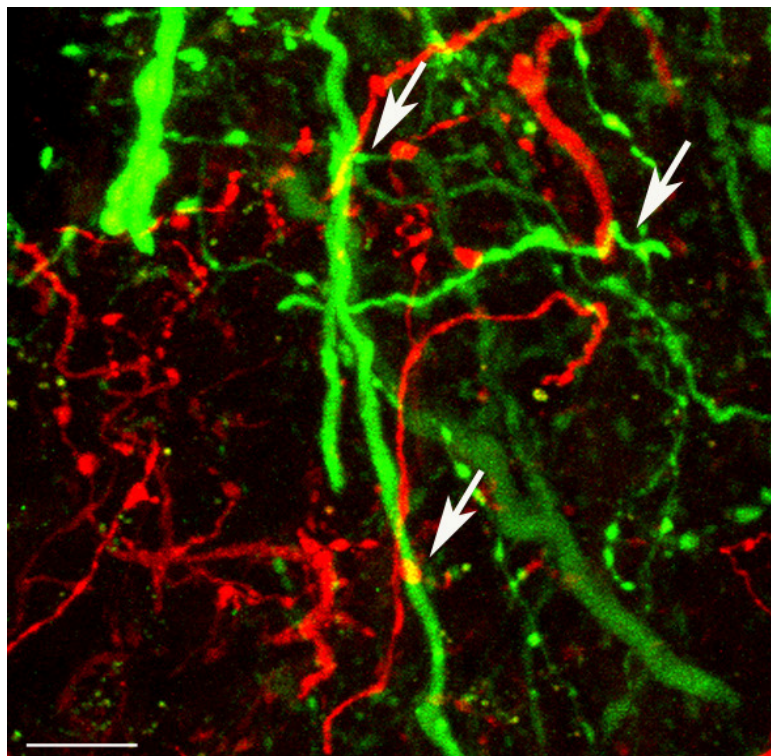
37. ábra: Konfokális mikroszkópos felvétel az agytörzs keresztmetszetéről az obextől rostralisán 1000 μm távolságban. A nyilak közeli appozíciókat mutatnak. Kalibrációs vonal: 50 μm .



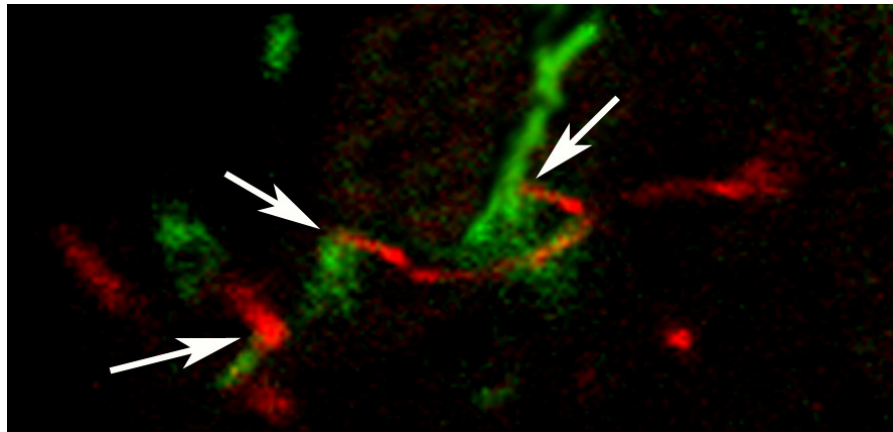
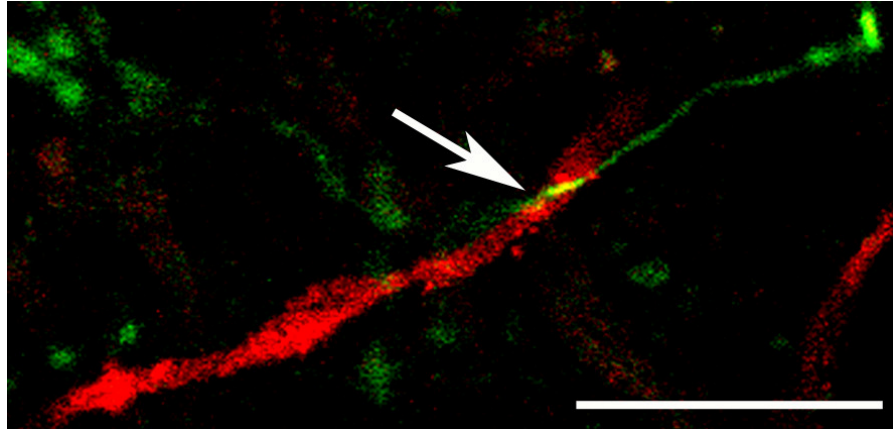
38. ábra: Konfokális mikroszkópos felvétel, mely az axosomatikus szoros appozíciókat mutatja. VMN: visceromotoros neuronok, SMN: somatomotoros (RDA) neuron, VIII.: n. vestibulocochlearis (FDA). A szoros összefekvéseket a sárga nyilak jelölik. Kalibrációs vonal: 20 μm .



39. ábra: Konfokális mikroszkópos felvétel, mely az axodendritikus szoros appozíciókat mutatja. A szoros összefekvéseket a fehér nyilak jelölik. Kalibrációs vonal: 20 μm .



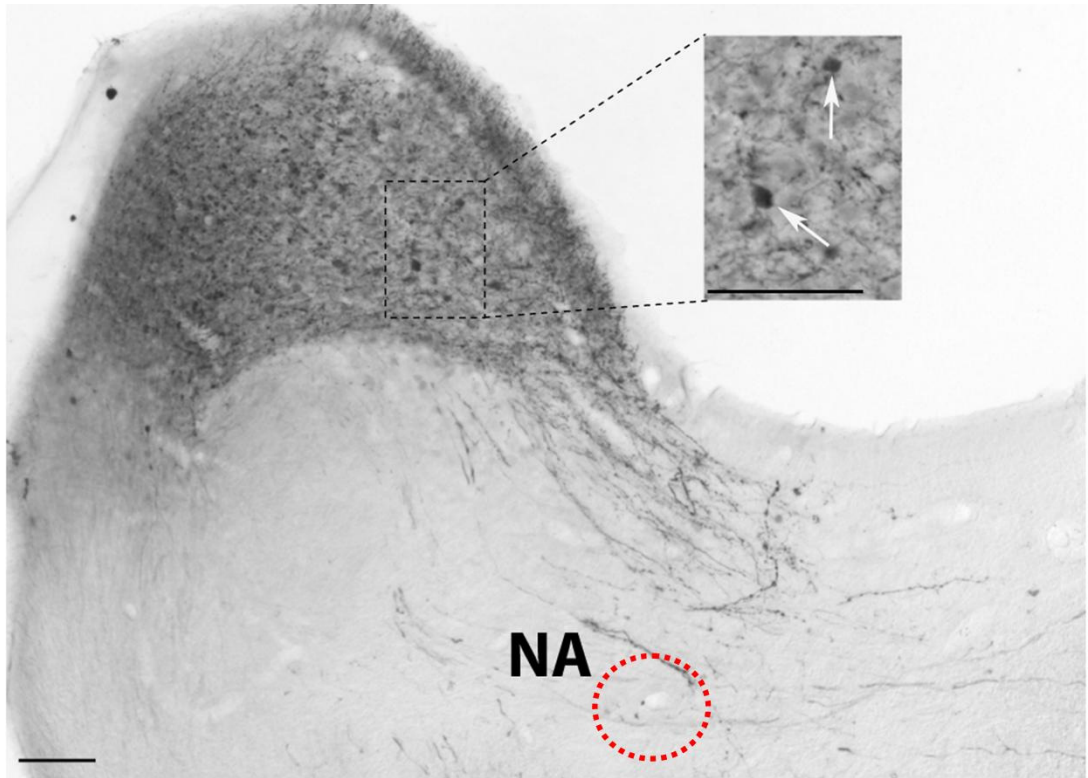
40. ábra: Konfokális mikroszkópos felvétel, mely az axodendritikus szoros appozíciókat mutatja. A szoros összefekvéseket a fehér nyilak jelölik. Kalibrációs vonal: 20 μm .



41. ábra: Konfokális mikroszkópos felvételek szoros appozíciókról. Kalibrációs vonal: 1 μ m.

5.2.2. A n. vestibulocochlearis jelölése neurobiotinnal

A nervus vestibulocochlearis neurobiotinnal történő jelölése a vestibularis rostokat és végződéseket mutatta ki a vestibularis magokban a korábbi jelölési módszerek eredményeihez hasonlóan (Matesz, 1979; Birinyi és mtsai., 2001). Ezen kívül, a vestibularis magkomplexben elhelyezkedő, másodrendű vestibularis idegsejtek sejttesteik közül is sok megjelölődött, és a jelölődés kimutatható volt a nagyobb dendritekben is (42. ábra). Ez a lelet a korábbi eredményekhez hasonlóan dye-coupled kapcsolat jelenlétére utalt a vestibularis afferens rostok és a sekunder vestibularis neuronok között (Birinyi és mtsai., 2001).



42. ábra: Neurobiotin jelölt vestibulocochlearis rostok az agytörzs keresztmetszetben. Az inzerten a jelölt terminálisok és a 'dye-coupled' másodlagos vestibularis neuronok láthatók. A nucleus ambiguus (NA) területén dye-coupled neuronok nem jelölődtek. Kalibrációs vonal: 50 μm .

Ugyanakkor sem a nucleus ambiguus területén, sem pedig az agytörzs vestibularis magokon kívüli egyéb részein nem jelölődtek sem perikaryonok, sem dendritek, ami a vestibularis rostok és a nervus glossopharyngeus, valamint a nervus vagus motoneuronjai közötti gap junction típusú kapcsolatok hiányára utal (42. ábra).

6. MEGBESZÉLÉS

Jelen munkában tanulmányoztuk azok az agytörzsi neuronhálózatok néhány elemét, amelyek a szemmozgások és a vegetatív működések szabályozásával állnak kapcsolatban. A vizsgálatokat békában végeztük különböző neuronális jelölési technikák alkalmazásával.

6.1. Az alkalmazott módszerek kritikai értékelése

6.1.1. A neuronális jelölési technikák

A neuronális jelölési módszerek alkalmazásával kapott eredmények értékelésekor számos kérdés és kétely fogalmazódik meg a vizsgálóban, amelyek mindegyikére csaknem lehetetlen egyértelmű választ adni. Az egyik lényeges kérdés a módszer szelektivitása, azaz hogy valóban a kívánt struktúrát jelöltük-e meg. Általánosságban elmondható, hogy jelen kísérletekben az agyidegeket egyértelműen tudtuk azonosítani és ezt követően az alkalmazott jelölőanyagokat a megfelelő agyidegek perifériás részére helyeztük (Gaupp, 1896). A másik általános kérdés, hogy mennyire volt sikeres a jelölés, a jelölőanyag eljutott-e a neuron minden részébe. Erre a kérdésre a jelenlegi ismereteink szerint csak indirekt választ tudunk adni a korábbi irodalmi adatok figyelembevételével. Így a fluoreszcens jelölőanyagok alkalmazása során a motoneuronok esetében sikeresnek tekintettük a jelölést akkor, ha a motoros magoszlop rostrocaudalis kiterjedése megegyezett az irodalomban található adatokkal és a ventrolateralis dendritfa elérte az agytörzs felszínét (ten Donkelaar, 1997; Nieuwenhuys és Opdam, 1976; Matesz és Székely, 1977; Székely és Matesz 1993; Birinyi, 2001). A n. vestibulocochlearis agytörzsi projekciójának kiterjedését illetően is a korábbi irodalmi adatokat vettük irányadónak (Matesz, 1979; ten Donkelaar, 1997; Nieuwenhuys és Opdam, 1976; Hillman, 1969; Birinyi és mtsai., 2001).

A neurobiotin jelölés alkalmazásával azt kívántuk vizsgálni, hogy az oculomotorius és a trochlearis motoneuronok dendritje, illetve a primer afferens vestibularis rostok valamint a nervus vagus és glossopharyngeus motoneuronjai között vannak-e gap junction típusú kapcsolatok. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy az alacsony molekulatömegű jelölőanyagok átjutnak a gap junctionokon és megjelölik a postszinaptikus neuront, ami dye-coupled kapcsolatnak neveznek és a gap junctionok fénymikroszkópos szintű

azonosítására alkalmazzák (Velázquez és Carlen, 2000; Birinyi és mtsai., 2001; Bácskai és Matesz, 2002). A módszer specifikusságát korábban teszteltük békában glycyrrhetin sav (GRA) segítségével, mely a gap junction gátlószere (Goldberg és mtsai., 1996). Ha a neurobiotin jelölést megelőzően GRA-t injektáltunk a primer afferens vestibularis rostok végződési területére, vagy a neurobiotint a GRA-val együtt alkalmaztuk, a dye-coupled jelölődés elmaradt (Bácskai és Matesz, 2002). Mivel jelen munkában nem találtunk dye-coupled kapcsolatokat a vizsgált agyidegek neuronjai között, ezt a negatív eredményt kell interpretálni és annak valódiságát alátámasztani. A negatív eredmény hitelességét az támasztja alá, hogy ugyanabban a metszetben a primer afferens vestibularis rostok és a secunder vestibularis neuronok között kimutatható volt a dye-coupled kapcsolat a korábbi eredményekhez hasonlóan (Birinyi és mtsai., 2001), míg a glossopharyngeus és a vagus motoneuronok egyetlen esetben sem jelölődtek.

6.1.2. Mennyiben értékelhetők a különböző fluorokrómokkal jelölt neuronok közötti szoros összefüggések közvetlen kapcsolatoknak?

A neuronok közötti kapcsolatok pontos és egyértelmű morfológiai megítélésére elektronmikroszkópos vizsgálatokkal lehetséges. Ugyanígy, csak elektronmikroszkópos vizsgálatokkal lehet egyértelműen kimutatni, hogy a két szomszédos dendrit profil közé nem ékelődik be egy harmadik dendrit, vagy éppen egy gliasejt részlete. A konfokális pásztázó mikroszkóp kifejlesztése, majd az egymással feltételezett kapcsolatban lévő neuronok különböző színű fluorokrómokkal történő megjelölése tette lehetővé azt, hogy a munkáigényes elektronmikroszkópos vizsgálatokat részben ki lehessen váltani a neuronok közötti kontaktusok tanulmányozására (Wouterlood és mtsai., 2002). Ennek igazolására korrelatív vizsgálatokat végeztek, amelynek során konfokális pásztázó mikroszkópban készített felvételekből három dimenzióban rekonstruálták az egymás mellett lévő, különböző színű fluorokrómokkal jelölt neuron profilokat és meghatározták azok távolságát. A kapott eredményeket összevetették az ugyanezen a kapcsolatokon elvégzett elektronmikroszkópos vizsgálatok eredményeivel, és azt találták, hogy megfelelő paraméterekkel rendelkező objektív lencse, fluorokrómok és a Z tengely mentén történő gondos mintaelemzés esetén a konfokális pásztázó mikroszkópban és az elektronmikroszkópban talált kontaktusok száma jó egyezést mutatott (Wouterlood és mtsai.; 2002; van Haften, 2000).

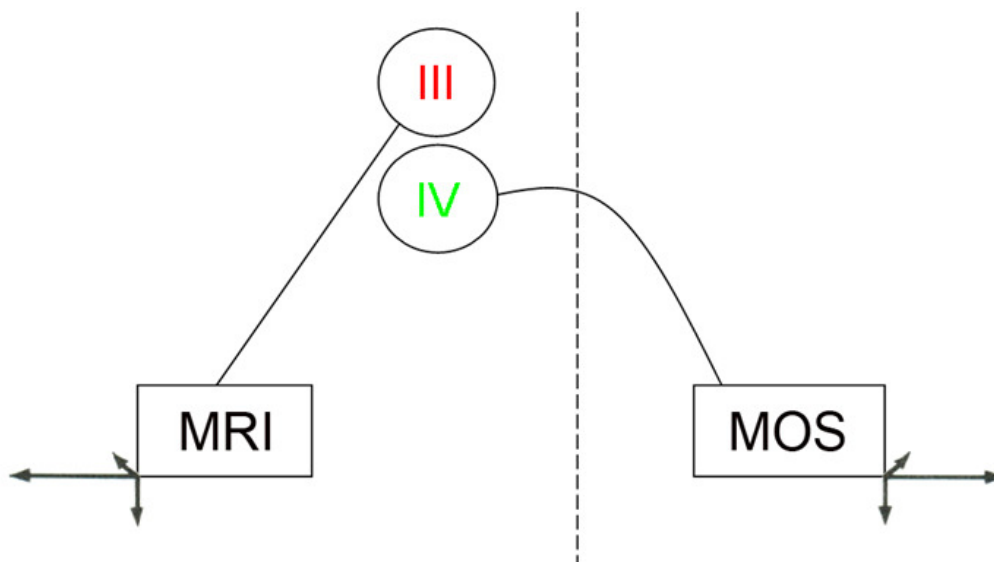
6.2. A nervus oculomotorius és a nervus trochlearis motoneuronjainak kapcsolata

Jelen munkában dendrodendritikus és dendroszomatikus kapcsolatokat mutattunk ki oculomotorius és trochlearis motoneuronok között. A kísérletek során a két agyideget egyszerre jelöltük meg két különböző fluorokrómmal és konfokális lézerpásztázó mikroszkóppal nagyszámú appozíciót találtunk a jelölt motoneuronok között. Ezeket az eredményeket ultrastukturális szinten is megerősítettük, ahol nagy számú szoros összefekvést (membrán appozíciókat) figyeltünk meg a szomszédos dendritek, valamint a sejtestek és dendritek között, közbeiktatott gliasejtek jelenléte nélkül. A membrán appozíciók vizsgálata során azonban nem találtunk semmilyen szinaptikus specializációra utaló morfológiai jelet, ugyanakkor néhány esetben észleltük az intercelluláris rés beszűkülését, ami gap junctionra utalhat. A gap junctionok hiányára utal, hogy a n. oculomotoriusra helyezett kis molekulatömegű jelölőanyag alkalmazása esetén nem találtunk jelölődött dye-coupled neuronokat a trochlearis magban vagy fordítva, a n. trochlearis felől sem jelölődtek neuronok az oculomotorius magban. A dye-coupled kapcsolatokat általánosan elfogadják az irodalomban, mint a gap junction kapcsolatok fénymikroszkópos detektálására alkalmas módszert (Pereda, 1995; Perez Velazquez és mtsai., 2000; Birinyi és mtsai., 2001; Bácskai és Matesz, 2002).

Korábbi elektrofiziológiai vizsgálatokban elektromos szinaptikus transzmisszióra utaló jeleket regisztráltak béka gerincvelői motoneuronok között, ugyanakkor elektronmikroszkópos vizsgálatokkal nem találtak gap junctionokat (Czéh, 1976; Grinnell, 1966; Sotelo és Taxi, 1970; Stensaas és Stensaas, 1971; Szekely és Kosaras, 1976). Az eltérések az elektrofiziológiai és a morfológiai eredmények között azokkal a kísérleti adatokkal magyarázhatók, amelyek azt bizonyították, hogy morfológiailag igazolható gap junction nélkül is lehetséges a két neuron közötti ingerület-átvitel (Grinnell, 1966; Bennett, 2000). Ennek egyik feltétele az alacsony membrán ellenállás, a másik pedig, hogy a szomszédos membránok nagy felületen érintkezzenek. Ezt a két kritériumot mind a fiziológiai, mind az elektronmikroszkópos vizsgálatokban megtalálták. Az oculomotorius és a trochlearis neuronok esetében fiziológiai adatok nincsenek, de vizsgálatainkban igazoltuk a hosszan összefekvő membránokat a szomszédos dendritek között. Az elektrotónusos ingerület-átvitel hatékonyságát tovább fokozhatják a „dendrit thicket”-ek vagy dendritnyalábok, ahol az egymás mellett futó, szoros membránösszefekvést mutató 4-

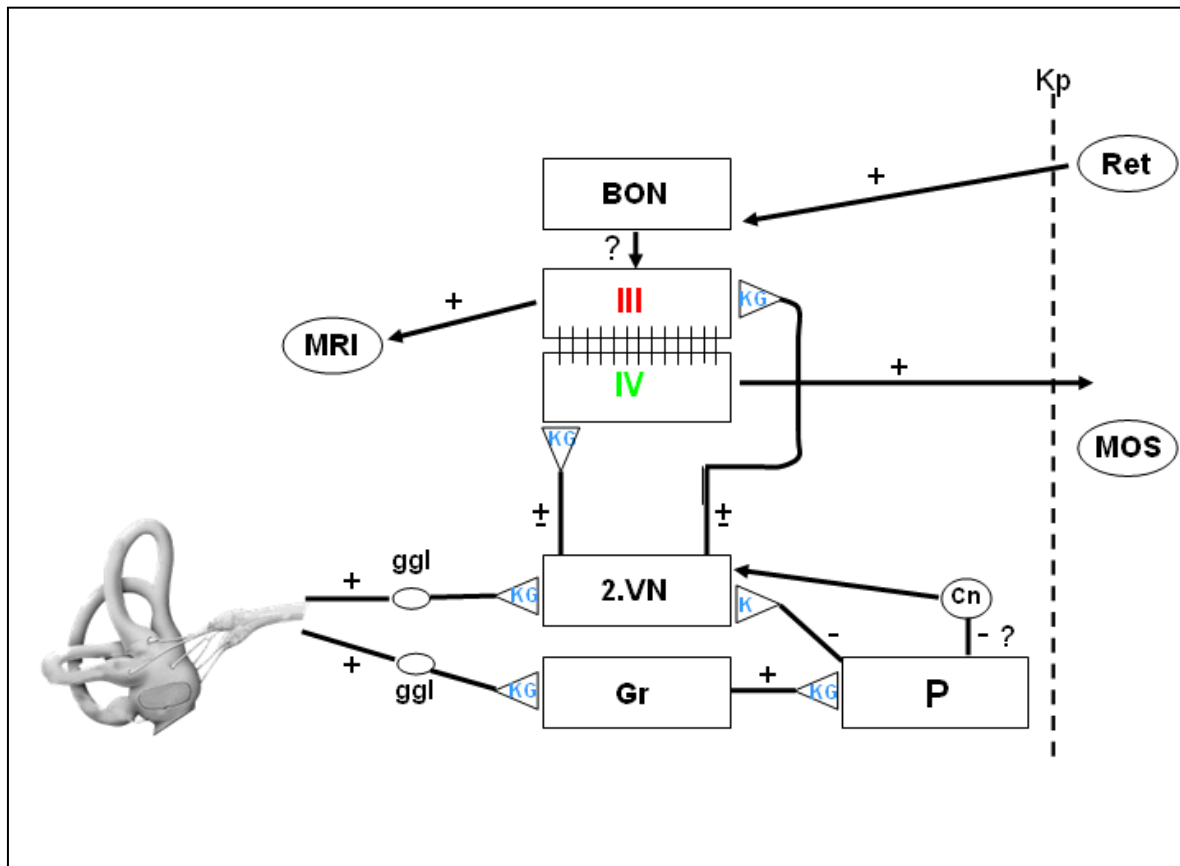
8 dendrit között nagyon gyors lehet a kommunikáció. A dendritek közötti ingerület-átvitelt különböző emlős fajokban is kimutatták. Gerincvelői motoneuronok esetében azt találták, hogy a motoneuronok dendritkötegei benyúlnak a szomszédos gerincvelői szegmentumba. Elektronmikroszkópos vizsgálatokkal igazolták, hogy e struktúrák között membrán összefekvések jönnek létre, ahol esetenként gap junctionok ismerhetők fel. Felnőtt macskán végzett elektrofiziológiai kísérletekkel kimutatták, hogy gerincvelői motoneuronok között rövid latenciájú kapcsolatok vannak, ami arra utal, hogy a dendrit kötegeknek jelentősége lehet a motoneuronok működésének szinkronizálásában (Gogan,1977; Matthews,1971; Westerga,1992). A dendrodendritikus ingerület-átvitel lehetőségét béka és egér kétoldali hypoglossus motoneuronjainak dendritjei között is igazolták fiziológiai és morfológia kísérletekben (Tarras-Wahlberg és Rekling, 2009; Bácskai és mtsai., 2010).

A n. III. és a n. IV. motoneuronjai között ismertett közvetlen kapcsolat a külső szemizmok együttműködését tekintve az alábbi módon interpretálható. A m. rectus inferior (MRI) és a m. obliquus superior (MOS) együttműködnek a szemgolyó süllyesztésekor (Szentágothai, 1952). Ezen kívül kisebb mértékben hozzájárulnak a szemgolyó kifelé térítéséhez és a horizontális tekintéshez. Az általunk alkalmazott jelölési kombináció – egyik oldali n. oculomotorius és az ellenoldali n. trochlearis jelölése - esetén dendrodendritikus kapcsolatok biztosíthatják a MRI és a MOS szinkronizált összehúzódását (43.ábra).



43. ábra: Az oculomotorius és trochlearis motoneuronok közötti monoszínaptikus kapcsolatok szerepe a szemmozgató izmok koordinált működésében. III.: n. oculomotorius, IV.: n. trochlearis, MRI: m. rectus bulbi inferior, MOS: m. obliquus bulbi superior.

Irodalmi adatok és saját eredményeink alapján a 44. ábrán foglaljuk össze a vestibuloocularis neuronhálózat kapcsolatrendszerét békában.



44. ábra: A vestibuloocularis neuronhálózat vázlatos rajza békában. BON: basalis opticus mag, III.: n. oculomotorius, IV.: n. trochlearis, MRI: m. rectus bulbi inferior, MOS: m. obliquus bulbi superior, 2. VN: másodlagos vestibularis neuronok, Gr: kisagyi szemcsesejtek, P: Purkinje-sejtek, Ret: retina, Cn: kisagyi magvak, Kp: középvonal, K: kémiai szinapszis, G: gap junction, ggl: ganglion, + serkentő kapcsolatok, – gátló kapcsolatok.

A test elmozdulása során aktiválódnak a hártýás labyrinthusban található receptorok, ahonnan a vestibularis ganglionsejtek továbbítják az ingerületet az agytörzsbe. A belépő primer afferens vestibularis rostok kémiai szinapszison és gap junctionon keresztül létesítenek kapcsolatot a szekunder vestibularis neuronokkal. A gap junctionokon keresztül a szomszédos, addig inaktív vestibularis terminálisok is depolarizálódhatnak. Ennek következtében egyre több szekunder vestibularis neuron aktiválódik, ami növeli a vestibularis bemenetek hatékonyságát. A másodlagos vestibularis neuronok kémiai

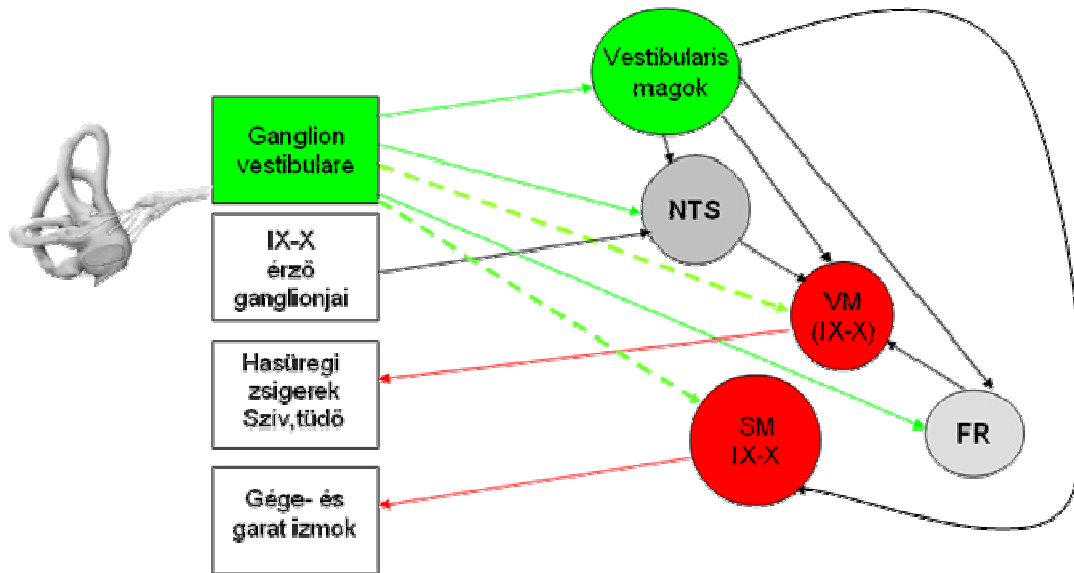
szinapszisokon keresztül serkentő és gátló impulzusokat küldenek az oculomotorius és a trochlearis magokhoz, és a kémiai szinapszis mellett gap junctionokat is igazoltak (Kulik és Matesz, 1996; Graf és Baker, 1985; Graf és mtsai., 1997; Graf és mtsai., 2001). A két mag motoneuronjai között lévő elektrotónusos kapcsolat biztosítja az általuk beidegzett izmok szinkron működését. A rendszerben lévő egyéb agyterületek és azok kapcsolatai további finomhangolást tesznek lehetővé. Ezek egyike a kisagyon keresztül valósul meg, amelynek szemcsesejtjei a primer afferens vestibularis rostokból és a szekunder vestibularis neuronokból is kapnak bemenetet kémiai úton és gap junctionokon keresztül. A szemcsesejtekből az ingerület moharostokon továbbítódik a Purkinje sejtek felé. A kisagyi kimenet a Purkinje sejteken és a kisagyi magon keresztül a vestibularis magokba érkezik, módosítva a szekunder vestibularis neuronok működését. A rendszer további tagja a basalis opticus mag, amely a nervus opticon keresztül elsősorban az ellenoldali szemből kap bemenetet békában. Ismert a BON reciprok kapcsolata a kisaggyal, azonban ennek serkentő vagy gátló természetéről nincsenek adatok (Bangma és ten Donkelaar, 1982; Wylie és Linkenhoker, 1996). Morfológiailag igazolt, hogy az oculomotorius neuronok dendritjei közvetlen kapcsolatban vannak a BON-ba érkező retinalis afferensekkel, de ezeknek a kapcsolatoknak a jellegéről sincsenek adatok (Bácskai és mtsai., 2008).

6.3. A nervus vestibulocochlearis és a n. glossopharyngeus-vagus motoneuronjainak kapcsolata

Eredményeinkkel elsőként igazoltuk, in vivo fluoreszcens kettős jelöléssel, hogy közvetlen kapcsolat áll fenn béka primer afferens vestibularis rostjai és a nervus glossopharyngeus, valamint a nervus vagus motoneuronjai között. A lehetséges monoszinaptikus kapcsolatok képezhetik a morfológiai alapját annak a hatásnak, amelyet a vestibularis rendszer a vegetatív idegrendszerre, valamint a nyelésben és a légzésben szerepet játszó harántcsíktolt izmokra gyakorol. Jelen vizsgálatokkal a kapcsolat jellegéről csak részben tudunk nyilatkozni. A neurobiotinnal végzett jelölés eredményeként ki tudjuk zárni a gap junction típusú kapcsolatokat, így valószínűsíthetjük a kémiai ingerület-átvitelt. Ennek bizonyításához a jövőben kiegészítő vizsgálatokat tervezünk.

Jelen eredményeink és irodalmi adatok alapján összefoglaltuk a lehetséges kapcsolatokat béka vestibularis afferens rostjai és nervus glossopharyngeus, illetve nervus

vagus efferens idegsejtjei között (Matesz, 1979, Stuesse és mtsai., 1984; Oka és mtsai., 1987a,b; Matesz és mtsai., 2002)(45.ábra).



45. ábra: Vázlatos rajz a béka vestibularis afferens rostjai (zöld), a nervus glossopharyngeus, illetve nervus vagus efferens idegsejtjei (piros) közötti lehetséges kapcsolatokról. IX.: n. glossopharyngeus, X.: n. vagus, NTS: nucleus tractus solitarii, FR: formatio reticularis, VM: visceromotoros mag, SM: somatomotoros mag. A folytonos vonalak a szakirodalomban ismert kapcsolatokat, a szaggatott vonalak a jelen munkában leírtakat jelölik.

A vestibularis receptorok stimulálása aktiválja az afferens vestibularis rostokat, amelyek a vestibularis magok másodlagos neuronjain végződve azokkal gap junction-okat és kémiai szinapszisokat létesítenek (Matesz, 1988; Dieringer, 1995; Birinyi és mtsai., 2001). A vestibularis magok neuronjai aktiválják a nervus glossopharyngeus és nervus vagus VM és SM neuronjait, valamint a nucleus tractus solitarii, és a formatio reticularis neuronjait. A labyrinthusból induló ingerület eljut a formatio reticularisba és a nucleus tractus solitarii-ba is, ahonnan átkapcsolódik a VM és SM neuronokra. Ezek a kapcsolatok polyszinaptikus útvonalat hoznak létre a labyrinthus és a IX., illetve a X. agyideg efferens neuronjai között. Az elsődleges és a másodlagos vestibularis neuronok közötti gap junction-ok és kémiai szinapszisok kombinációjának valamint a polyszinaptikus útvonalnak köszönhetően a IX. és a X. agyideg motoneuronjai szekvenciálisan aktiválódhatnak (Matesz, 1988; Dieringer,

1995; Birinyi és mtsai., 2001). A test hirtelen elmozdulása esetén az impulzus továbbítása a poliszinaptikus útvonalon valószínűleg nem elég gyors a motoneuronok időbeni és pontos aktiválásához, viszont a vestibularis afferens rostok és a IX., valamint a X. agyideg efferens neuronjai közötti monoszinaptikus kapcsolatok azonnali választ tesznek lehetővé a motoneuronok számára. Mivel ezt a kapcsolatot a vastag vestibularis rostok hozzák létre, ezek ingerület-vezetési sebessége ugyancsak hozzájárul a gyors válaszhoz.

A vestibulo-autonom kapcsolatok tekintetében nagyon hiányos ismereteink vannak alacsonyabb rendű gerinces fajok esetében, ezért eredményeinket emlős fajokon, korábban leírtakkal hasonlíthatjuk össze. Emlős agytörzsben a nucleus tractus solitarii és a formatio reticularis különböző területei, mint például a tegmentum laterale, a vestibularis magokon keresztül ingerelhetők (Yates és Stocker, 1998). Topográfiaailag az emlősök tegmentum lateraleja a béka zona reticularis laterale-jának felel meg. Ezen a területen figyelhetők meg a vestibularis primer afferens rostok és a n. IX. és n. X. VM efferens neuronjai is. Az emlősök tegmentum lateralejában található szétszórtan a n. IX. és n. X. VM neuronjai (Conteras és mtsai., 1980; Székely és Matesz, 1993; Hopkins és mtsai., 1984.). Az itt végződő kisszámú primer afferens vestibularis rost és a VM-os neuronok lehetséges kapcsolatát a békában általunk alkalmazott kettős fluoreszcens jelöléssel lehetne igazolni vagy elvetni.

ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során azoknak az agytörzsi neuron-hálózatoknak két elemét vizsgáltuk, neuronális jelölési módszerekkel, békában, amelyek a szemmozgások és a vegetatív működések szabályozásának agytörzsi kontrolljában vesznek részt.

Tanulmányoztuk a n. oculomotorius és a n. trochlearis motoneuronjai közötti kapcsolatot. A különböző színű fluorokrómokkal jelölt motoneuronok közötti kapcsolatok konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal történt elemzésével megállapítottuk, hogy a két agyidegi mag motoneuronjai között közvetlen, dendrodendritikus és dendroszomatikus kapcsolatok vannak. A motoneuronok között sem fénymikroszkópos, sem elektronmikroszkópos vizsgálatokkal nem tudtunk a gap junction jelenlétét igazoló dye-coupled kapcsolatokat kimutatni. Az elektronmikroszkópos vizsgálatokban a szomszédos profilok között szoros membránösszefekvéseket találtunk, ezek között azonban nem sikerült kimutatni semmilyen membrán specializációt. A nagy felszínen történő membránösszefekvés a motoneuronok között elektrotónusos ingerület-átvitel lehetőségét biztosítja, amely lehetővé teszi a musculus rectus bulbi inferior és a musculus obliquus bulbi superior szinkronizált összehúzódását a vertikális szemmozgások során.

Eredményeinkkel igazoltuk, hogy közvetlen kapcsolat áll fenn a béka primer afferens vestibularis rostjai és a nervus glossopharyngeus, valamint a nervus vagus somatomotoros és visceromotoros neuronjai között. Ezeket a kapcsolatokat a vastag vestibularis rostok hozzák létre, amelyeknek gyors ingerületvezetési sebessége hozzájárul a gyors vegetatív válaszhoz. Mivel dye-coupled kapcsolatokat nem tudtunk kimutatni a n. VIII. és a n. IX./X. között, valószínűsíthetjük a kémiai ingerület-átvitelt. A lehetséges monoszínaptikus kapcsolatok képezhetik a morfológiai alapját annak a hatásnak, amelyet a vestibularis rendszer a vegetatív idegrendszerre, valamint a nyelésben és a légzésben szerepet játszó harántcsíktolt izmokra gyakorol. Ezek a kapcsolatok teszik lehetővé, hogy az állandóan változó testhelyzetben az életfontosságú szervek működésének folyamatos korrekciója biztosítva legyen.

Vizsgálataink az alap kutatások körébe tartoznak, így közvetlen gyakorlati hasznosításról nem beszélhetünk. Ugyanakkor eredményeink hozzájárulhatnak az egyensúlyozó rendszer kóros működésével kapcsolatos eltérések megértéséhez, hiszen a különböző súlyosságú szédülések, egyensúlyzavarok hatásmechanizmusa nem ismert és kezelésük ma sem megoldott.

SUMMARY

Applying different neuronal labeling techniques we have studied the morphological background of the neuronal network underlying the eye movements and the brainstem control of vegetative functions of the frog.

Simultaneous labeling of the oculomotor and trochlear nerve with different fluorochroms were performed in in vivo experiments. By the use of confocal laser scanning microscope we detected a large number of close contacts in both nuclei, the majority of them were dendrodendritic appositions. The distance between the adjacent profiles suggested close membrane contacts without intercalating glial or neuronal elements. At the ultra structural level, the dendrodendritic and dendrosomatic contacts did not show any morphological specialization; the long membrane appositions may provide ephaptic interactions between the neighboring profiles. This electrotonic coupling between the oculomotor and trochlear nerve motoneurons may promote the co-activation of the inferior rectus and superior oblique muscles responsible for vertical eye movements.

We have studied whether the primary vestibular afferent fibers establish direct connections with the motoneurons of glossopharyngeal and vagus nerves of the frog. The vestibulocochlear and the glossopharyngeal-vagus nerves were simultaneously labeled with fluorescein dextran amine and tetramethylrhodamine dextran amine. With a confocal laser scanning microscope we could detect close appositions between the vestibular afferent fibers and somatodendritic components of the somato-and visceromotor neurons of the ambiguous nucleus of IX-X nerves. The direct impulse transmission may provide a quick and immediate response of cardiovascular and gastrointestinal system upon body displacement.

Our results can help to understand the structural organization of complex neural systems related to the sense of balance. The results may also assist in developing new therapeutic strategies for the treatment of symptoms of vestibular lesion.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kísérleteket a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetében végeztem. Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Matesz Klára egyetemi tanárnak, témavezetőmnek, aki magas szintű tudásával és tanácsaival munkámat segítette. Köszönöm az Anatómia Intézet igazgatójának, Dr. Antal Miklós egyetemi tanárnak, hogy a kísérletek elvégzését lehetővé tette az intézetben.

Köszönettel tartozom Dr. Bácskai Tímea egyetemi tanársegédnek, aki munkámat aktívan segítette. Köszönöm mindazoknak a munkáját, akik a kísérletek technikai kivitelezésében voltak segítségemre, elsősorban Szanitter Bélánének és Horváth Tímeának. Köszönöm Király Zoltánnak a számítógépes háttér biztosítását.

Köszönöm szüleimnek, hogy támogatták tanulmányaimat, valamint a bizalmat és a türelmet.

IRODALOMJEGYZÉK

Aicher, S.A., Reis, D.J., Nicolae, R., Milner, T.A. 1995. Monosynaptic projections from the medullary gigantocellular reticular formation to sympathetic preganglionic neurons in the thoracic spinal cord. *J Comp Neurol* 363, 563-580.

Aicher, S.A., Reis, D.J., Ruggiero, D.A., Milner, T.A. 1994. Anatomical characterization of a novel reticulospinal vasodepressor area in the rat medulla oblongata. *Neuroscience* 60, 761-779.

Antal, M., Tornai, I., Székely, G. 1980. Longitudinal extent of dorsal root fibres in the spinal cord and brain stem of the frog. *Neuroscience*. 5, 1311-1322.

Ariëns Kappers C.U., Huber, G.C., Crosby, E.C. 1936. The comparative anatomy of the nervous system of vertebrates, including man. MacMillan, New York.

Babalian, A.L., Shapovalov, A.I. 1984. Mode of synaptic transmission between vestibular afferents and neurons of the vestibular nucleus in the frog. *Brain Res.* 309, 163-167.

Bacskai, T., Matesz, C. 2002 Primary afferent fibers establish dye-coupled connections in the frog central nervous system., *Brain Res. Bull.* 57, 317–319.

Bacskai, T., Székely, G., Matesz, C. 2002. Ascending and descending projections of the lateral vestibular nucleus in the rat. *Acta Biol. Hung.* 53, 7-21.

Bácskai, T., Veress, G., Matesz, K. 2008. Projection of retinal afferents to the oculomotor neurons in the frog. *Clinical Neurosci.* 61(S1), 1-71.

Bácskai, T., Veress, G., Halasi, G., Matesz, C. 2010. Crossing dendrites of the hypoglossal motoneurons: possible morphological substrate of coordinated and synchronized tongue movements of the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res.* 1313, 89-96.

Balaban, C.D., Beryozkin, G., 1994. Vestibular nucleus projections to nucleus tractus solitarius and the dorsal motor nucleus of the vagus nerve: potential substrates for vestibulo-autonomic interactions. *Exp. Brain Res.* 98, 200-212.

Bangma, G.C, ten Donkelaar H.J. 1982. Afferent connections of the cerebellum in various types of reptiles. *J Comp Neurol* 20, 255-273.

Birinyi, A., Straka, H., Matesz, C., Dieringer N. 2001. Location of dye-coupled second order and of efferent vestibular neurons labeled from individual semicircular canal or otolith organs in the frog. *Brain Res.* 921, 44-59.

Blanks, R.H., Precht, W., Torigoe, Y. 1983. Afferent projections to the cerebellar flocculus in the pigmented rat demonstrated by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Exp Brain Res* 52, 293-306.

Brodal, A., Pompeiano, O. 1957. The vestibular nuclei in the cat. *J. Anat.* 91, 438-454.

Brodal, A. 1981. *Neurological Anatomy*. New York: Oxford University Press.

Buisseret-Delmas, C., Compoin, C., Delfini, C., Buisseret, P. 1999. Organisation of reciprocal connections between trigeminal and vestibular nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 409, 153-168.

Campbell, R.E., Gaidamaka, G., Han, S.K., Herbison, A.E. 2009. Dendro-dendritic bundling and shared synapses between gonadotropin-releasing hormone neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106, 10835-10840.

Capranica, P.R. 1976. Auditory system. In *Frog neurobiology*, edited by R. Linás and W. Precht. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York. pp. 551-575.

Carpenter, M.B., Strominger, N.L. 1965. The medial longitudinal fasciculus and disturbances of conjugate horizontal eye movements in the monkey. *J Comp Neurol* 125, 41-65.

Cochran, S.L., Hackett, J.T. 1977. The climbing fiber afferent system of the frog. *Brain Res* 121, 362-367.

Corvaja, N., Grofová, I. 1972. Vestibulospinal projection in the toad. *Prog Brain Res*. 37, 297-307.

Czeh, G., 1976. Dendritic responses of frog motoneurons produced by antidromic activation, *Neuroscience* 1, 469-475.

Dieringer, N., Precht, W. 1979. Synaptic mechanism involved in compensation of vestibular function following hemilabyrinthectomy. *Progr Brain Res* 50, 607-615.

Dieringer, N., 1995. 'Vestibular compensation': neural plasticity and its relations to functional recovery after labyrinthine lesions in frogs and other vertebrates. *Prog. Neurobiol.* 46, 97-129.

Donevan, A.H., Fleming, F.L., Rose, P.K. 1992a. Morphology of single vestibulospinal collaterals in the upper cervical spinal cord of the cat: I. Collaterals originating from axons in the ventromedial funiculus contralateral to their cells of origin. *J Comp Neurol* 322, 325-342.

Donevan, A.H., MacDonald, J.A., Brennan, P.A., Rose, P.K. 1992b. Morphology of single vestibulospinal collaterals in the upper cervical spinal cord of the cat. II. Collaterals originating from axons outside the ventral funiculi. *J Comp Neurol* 322, 343-359.

Dunlop, S.A., Beazley, L.D. 1984. A morphometric study of the retinal ganglion cell layer and optic nerve from metamorphosis in *Xenopus laevis*. *Vision Res.* 24, 417-427.

Ebbesson, S.O., Goodman, D.C.1981.Organization of ascending spinal projections in Caiman crocodilus. Cell Tissue Res. 215, 383-395.

Epema, A.H., Gerrits, N.M., Voogd J.1988.Commissural and intrinsic connections of the vestibular nuclei in the rabbit: a retrograde labeling study. Exp Brain Res 71, 129-146.

Erdélyi, A., Mitsányi, A., Tóth, T.1981.Tonic vestibular modulation of cardiovascular function: facts, hypotheses and perspectives. In: A.G.B. Kovách, Sándor, P., Kollai, M. (eds), Cardiovascular Physiology, Neural Control Mechanisms. Advances of Physiological Sciences, Vol. 9. Pergamon Press/Akadémiai Kiadó, Budapest , pp. 95-104.

Erulkar, S.D., Soller, R.W.1980.Interactions among lumbar motoneurons on opposite sides of the frog spinal cord: morphological and electrophysiological studies.J Comp Neurol 192, 473-488.

Fanardjian, V.V., Manvelyan, L.R., Zakarian, V.L., Pogossian, V.I., Nasoyan, A.M. 1999. Electrophysiological properties of the somatotopic organization of the vestibulospinal system in the frog. Neuroscience 94, 845-857.

Fonyó, A. (szerk.). 2003. Az orvosi élettan tankönyve. Medicina Könyvkiadó Rt. Budapest.

Fuller, P.M. 1974. Projections of the vestibular nuclear complex in the bullfrog (*Rana catesbeiana*). Brain Behav Evol 10, 157-169.

Gaupp, E. 1896. A. Ecker's und R. Wiedersheim's Anatomie des Frosches. Bd. I, Vieweg u. Sohn, Braunschweig.

Gaupp, E. 1904. A. Ecker's und R. Wiedersheim's Anatomie des Frosches. Bd. III, Vieweg u. Sohn, Braunschweig.

Goldberg, G.S., Moreno, A.P., Bechberger, J.F., Hearn, S.S., Shivers, R.R., MacPhee, D.J., Zhang, Y.C., Naus, C.C.1996. Evidence that disruption of connexon particle arrangements in gap junction plaques is associated with inhibition of gap junctional communication by a glycyrrhetic acid derivative. Exp Cell Res.222, 48-53.

González, A., ten Donkelaar, H.J., de Boer-van Huizen, R. 1984. Cerebellar connections in *Xenopus laevis*. An HRP study. Anat Embryol 169, 167-176.

Graf, W., Baker, R. 1985. The vestibuloocular reflex of the adult flatfish. II. Vestibulooculomotor connectivity. J Neurophysiol. 54, 900-916.

Graf, W., Spencer, R., Baker, H., Baker, R. 1997.Excitatory and inhibitory vestibular pathways to the extraocular motor nuclei in goldfish. J Neurophysiol. 77, 2765-2779.

Graf, W., Spencer, R., Baker, H., Baker, R. 2001.Vestibuloocular reflex of the adult flatfish. III. A species-specific reciprocal pattern of excitation and inhibition. J Neurophysiol. 86, 1376-1388.

- Grinnell, A.D.1966.A study of the interaction between motoneurons in the frog spinal cord.J Physiol.182, 612-648.
- Highstein, S.M.1973.Synaptic linkage in the vestibulo-ocular and cerebello-vestibular pathways to the VIth nucleus in the rabbit. Exp Brain Res. 17, 301-314.
- Hillman, D.E. 1969.Light and electron microscopical study of the relationships between the cerebellum and the vestibular organ of the frog. Exp Brain Res. 9, 1-15.
- Holstege, G. 1988. Brainstem spinal cord projections of the cat, related to control of head and axial movements. In: Buttner-Ennever JA, editor. Reviews in Oculomotor Research, vol. 2. Amsterdam: Elsevier . 431-470.
- Hunyadi, A., Rácz, É., Veress, G., Székely, Gy., Mihály, E., Matesz, K.2008. Direct connection between the vestibular afferents and abducens motoneurons in the frog, *Rana esculenta* IBRO International Workshop, 2008 Debrecen, Clin.Neurosci.61, 35-36.
- Ito, J., Sasa, M., Matsuoka, I., Takaori, S. 1982. Afferent projection from reticular nuclei, inferior olive and cerebellum to lateral vestibular nucleus of the cat as demonstrated by horseradish peroxidase. Brain Res 231, 427-432.
- Ito, J., Matsuoka, I., Sasa, M., Takaori, S. 1985. Commissural and ipsilateral internuclear connection of vestibular nuclear complex of the cat. Brain Res 341, 73-81.
- Jian, B.J., Acernese, A.W., Lorenzo, J., Card, J.P., Yates, B.J. 2005.Afferent pathways to the region of the vestibular nuclei that participates in cardiovascular and respiratory control. Brain Res. 1044, 241-250.
- Kulik, A., Matesz, C. 1996. Termination pattern of ascending and descending fibers originating in the vestibulocochlear nuclei in the frog. Eur. J. Neurosci. 9S, 50.
- Ladpli, R., Brodal, A., 1968. Experimental studies of commissural and reticular formation projections from the vestibular nuclei in the cat. Brain Res 8, 65-96.
- Lan, C.T., Wen, C.Y., Tan, C.K., Ling, E.A., Shieh, J.Y. 1995. Multiple origins of cerebellar cholinergic afferents from the lower brainstem in the gerbil. J Anat 186, 549-561.
- Lang, W., Buttner-Ennever, J.A., Buttner, U. 1979. Vestibular projections to the monkey thalamus: an autoradiographic study. Brain Res 177, 3-17.
- Larsell, O. 1967. The comparative anatomy and histology of cerebellum from myxinoidea through birds. Minneapolis University of Minnesota Press.
- Lázár, G. Tóth, P.1983. Optokinetic horizontal head nystagmus in the frog after regeneration of transected retinal fibres. Acta Biol Hung. 34, 371-383.

Llinás, R., Precht, W. 1972. Vestibulocerebellar input: physiology. *Prog Brain Res.* 37, 341-359.

Llinás, R. 1976. Cerebellar physiology. In: Llinás R, Precht W. *Frog Neurobiology*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag pp 407-434, 892-923.

Loewy, A.D., Spyer, K.M.1990. Central regulation of autonomic functions. Oxford University Press. New York.

Magherini, P.C., Precht, W., Richter, A. 1974. Vestibulospinal effects on hindlimb motoneurons of the frog. *Pflugers Arch* 348, 211-223.

Malinvaud, D., Vassias I, Reichenberger, I., Rössert, C., Straka, H.J.2010. Functional organization of vestibular commissural connections in frog. *Neurosci.*30, 3310-3325.

Masseck, O.A., Hoffmann, K.P.2009.Comparative neurobiology of the optokinetic reflex. *Ann N Y Acad Sci.* 1164, 430-439.

Matesz, C., Szekely, G.1977. The dorsomedial nuclear group of cranial nerves in the frog, *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 28, 461-474.

Matesz, C. 1979. Central projection of the VIIIth cranial nerve in the frog. *Neuroscience* 4, 2061-2071.

Matesz, C. 1988. Fine structure of the primary afferent vestibulocochlear terminals in the frog. *Acta. Biol. Hung.* 39, 267-277.

Matesz, C., Szekely, G., 1996. Organization of the ambiguous nucleus in the frog (*Rana esculenta*). *J. Comp. Neurol.* 371, 258-269.

Matesz, K., Nagy, E., Kulik, A., Tonkol, A. 1997. Projections of the medial and superior vestibular nuclei to the brainstem and spinal cord in the rat. *Neurobiology* 5, 489-493.

Matesz, C., Kulik, A., Bacskai, T., 2002. Ascending and descending projections of the lateral vestibular nucleus in the frog *Rana esculenta*. *J. Comp. Neurol.* 444, 115-128.

McCrea, R.A., Strassman, A., Highstein, S.M. 1987. Anatomical and physiological characteristics of vestibular neurons mediating the vertical vestibulo-ocular reflexes of the squirrel monkey. *J Comp Neurol.* 264, 571-594.

Miller, A.D., Ruggiero, D.A., 1994. Emetic reflex arc revealed by expression of the immediate-early gene c-fos in the cat. *J. Neurosci.* 14, 871-888.

Miller, A.D., Yamaguchi, T., Siniatia, M.S., Yates, B.J. 1995. Ventral respiratory group bulbospinal inspiratory neurons participate in vestibular-respiratory reflexes. *J Neurophysiol.* 73, 1303-1307.

- Montgomery, N., Fite, K.V., Bengston, L. 1981. The accessory optic system of *Rana pipiens*: neuroanatomical connections and intrinsic organization. *J Comp Neurol.* 203, 595-612.
- Montgomery, N.M. 1988. Projections of the vestibular and cerebellar nuclei in *Rana pipiens*. *Brain Behav Evol* 31, 82-95.
- Muñoz, A., Muñoz, M., González, A., ten Donkelaar, H.J. 1997. Spinal ascending pathways in amphibians: cells of origin and main targets. *J Comp Neurol.* 378, 205-228.
- Newman, A., Kuruvilla, A., Pereda, A., Honrubia, V. 1986. Regeneration of the eighth cranial nerve. I. Anatomic verification in the bullfrog. *Laryngoscope* 96, 484-493.
- Nishi, M. B. 1938. Augenmuskulatur. *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere.* Band V. Skelettsystem, Muskelsystem, Urogenitalsystem. Bolk L, Göppert E, Kallius E, Lubosch W (eds) Urban & Schwarzenberg, Berlin, Wien. 453-466.
- Noback, R.C., Storminger, L.N., Demarest, J.R. 1991. *The human nervous system: introduction and review*. Fourth edition. Lea and Febiger. Philadelphia, London.
- Nyberg-Hansen, R. 1966. Functional organization of descending supraspinal fibre system to the spinal cord. Anatomical observations and physiological correlations. *Ergeb Anat Entwicklungsgesch* 39, 3-48.
- Nieuwenhuys, R., Opdam, R. Brainstem. 1976. In: *Frog neurobiology.* edited by R. Linás and W. Precht. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York. 811-855.
- Opdam, R., Kemali, M., Nieuwenhuys, R., 1976. Topological analysis of the brainstem of the frogs *Rana esculenta* and *Rana catesbeiana*. *J. Comp. Neurol.* 165, 307-332.
- Pereda, A.E., Bell, T.D., Faber, D.S. 1995. Retrograde synaptic communication via gap junctions coupling auditory afferents to the Mauthner cell. *J Neurosci* 15, 5943-5955.
- Perez Velazquez, J.L., Carlen, P.L. 2000. Gap junctions, synchrony and seizures, *Trends Neurosci.* 23, 68-74.
- Peusner, K.D. 1984. The development of synapses and "spoon" synaptic terminal space in the tangential vestibular nucleus: a quantitative electron microscope study. *J Comp Neurol* 230, 372-85.
- Peterson, B.W., Coulter, J.D. 1977. A new long spinal projection from the vestibular nuclei in the cat. *Brain Res* 122, 351-356.
- Prihoda, M., Hiller, M.S., Mayr, R. 1991. Central projections of cervical primary afferent fibers in the guinea pig: an HRP and WGA/HRP tracer study. *J Comp Neurol* 308, 418-431.
- Rácz, É., Bácskai, T., Halasi, G., Kovács, E., Matesz, C. 2006. Organization of dye-coupled cerebellar granule cells labeled from afferent vestibular and dorsal root fibers in the frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol* 496, 382-394.

Raffai, G., Csekő, C., Nádasy, G., Monos, E. 2009. Vestibular control of intermediate- and long-term cardiovascular responses to experimental orthostasis. *Physiol Res.* [Epub ahead of print].

Ramirez-Leon, V., Ulfhake, B. 1993. GABA-like immunoreactive innervation and dendro-dendritic contacts in the ventrolateral dendritic bundle in the cat S1 spinal cord segment: an electron microscopic study, *Exp. Brain Res.* 97, 1–12.

Robinson, D.A. 1968. Eye movement control in primates. The oculomotor system contains specialized subsystems for acquiring and tracking visual targets. *Science.* 161, 1219-1224.

Rose, R.D., Collins III, W.F., 1985. Crossing dendrites may be a substrate for synchronized activation of penile motoneurons. *Bain Res.* 337, 373–377.

Rose, P.K., Wainwright, K., Neuber-Hess, M. 1992. Connections from the lateral vestibular nucleus of the upper cervical spinal cord of the cat: a study with the anterograde tracer PHA-L. *J Comp Neurol* 321, 312-24.

Rubertone, J.A., Mehler, W.R., Cox G.E. 1983. The intrinsic organization of the vestibular nuclear complex: evidence for internuclear connectivity. *Brain Res* 263, 137-141.

Sans, A., Raymond, J., Marty, R. 1976. A vestibulothalamic pathway: electrophysiological demonstration in the cat by localized cooling *J Neurosci Res.* 2, 167-174.

Shiba, K., Siniatia, M.S., Miller, A.D. 1996. Role of ventral respiratory group bulbospinal expiratory neurons in vestibular-respiratory reflexes. *J Neurophysiol.* 76, 2271-2279.

Shiroyama, T., Kayahara, T., Yasui, Y., Nomura, J., Nakano, K. 1999. Projections of the vestibular nuclei to the thalamus in the rat: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study. *J Comp Neurol* 407, 318-332.

Siegborn, J., Yingcharoen, K., Grant, G. 1991. Brainstem projections of different branches of the vestibular nerve: an experimental study by transganglionic transport of horseradish peroxidase in the cat. II. The anterior and posterior ampullar nerves. *Anat Embryol (Berl).* 184, 291-299.

Silver, M.L. 1942. The motoneurons of the spinal cord of the frog. *J. Comp. Neurol.* 77, 1–40.

Sotelo, C., Palay, S.L. 1970. The fine structure of the later vestibular nucleus in the rat. II. Synaptic organization. *Brain Res* 18, 93-115.

Spencer, R.F., Baker, R. 1992. GABA and glycine as inhibitory neurotransmitters in the vestibuloocular reflex. *Ann N Y Acad Sci.* 656, 602-611.

Starck, D. 1982. Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere, auf evolutionsbiologische Grundlage. Organe des aktiven Bewegungsapparates, der Koordination, der Umweltbeziehung, des Stoffwechsels und der Fortpflanzung. Bd.III. Springer, Berlin, Heidelberg, New York.

Straka, H., Dieringer, N.1992. Chemical identification and morphological characterization of the inferior olive in the frog. *Neurosci Lett* 140, 67-70.

Straka, H., Dieringer, N.1993. Electrophysiological and pharmacological characterization of vestibular inputs to identified frog abducens motoneurons and internuclear neurons in vitro. *Eur J Neurosci*.5, 251-260.

Straka H., Dieringer, N.1996. Uncrossed disynaptic inhibition of second-order vestibular neurons and its interaction with monosynaptic excitation from vestibular nerve afferent fibers in the frog. *J Neurophysiol* 76 ,3087-3101.

Straka, H., Dieringer, N.2004. Basic organization principles of the VOR: lessons from frogs. *Prog Neurobiol*.73, 259-309.

Stuesse, S.L., Cruce, W.L., Powell, K.S. 1984. Organization within the cranial IX-X complex in ranid frogs: a horseradish peroxidase transport study. *J. Comp. Neurol.* 222, 358-365.

Szentagothai, J. 1952. Die rolle der Einzelnen Labyrinthrezeptoren bei der Orientation von Augen und Kopf im Raume, *Akademiai Kiado, Budapest*.

Tarras-Wahlberg, S., Rekling, J.C.2009. Hypoglossal motoneurons in newborn mice receive respiratory drive from both sides of the medulla. *Neuroscience*. 161, 259-268.

ten Donkelaar, H.J. 1997. Anurans. In *The central nervous system of vertebrates*, Vol.2. edited by R. Nieuwenhuys, H.J. ten Donkellar, C. Nicholson. Springer Verlag Berlin, Heilderberg, Tokyo.1151-1314.

Theodosis, D.T., Poulain, D.A., Vincent, J.D.1981. Possible morphological bases for synchronisation of neuronal firing in the rat supraoptic nucleus during lactation. *Neuroscience*. 6, 919-929.

van Haeften, T., Wouterlood, F.G.2000. Neuroanatomical tracing at high resolution, *J. Neurosci. Meth.* 103, 107-116.

Vidal P-P., De Waele, C., Vibert, N., Mühlethaler, M. 1998. Vestibular compensation revisited. *Otolaryngol Head and neck Surg* 119, 34-42.

Voogd, J. 1998. Red nucleus and associated cell groups. In: Nieuwenhuys R, ten Donkelaar HJ, Nicholson C. editors. *The Central Nervous System of Vertebrates Vol. 3*. Berlin Heidelberg: Springer pp 1837-1842.

Wilson, V.J., Melvill Jones, G. 1979. *Mammalian vestibular physiology*. Plenum Press, New York.

Weinberg, R.J., Rustioni, A. 1989. Brainstem projections to the rat cuneate nucleus. *J Comp Neurol* 282, 142-156.

Wouterlood, F.G., Vinkenoog, M., van den Oever, M. 2002. Tracing tools to resolve neural circuits. *Network* 13, 327–342.

Wylie, D.R., Linkenhoker, B. 1996. Mossy fibres from the nucleus of the basal optic root project to the vestibular and cerebellar nuclei in pigeons. *Neurosci Lett.* 219, 83-86.

Yates, B.J., Miller, A.D. 1994. Properties of sympathetic reflexes elicited by natural vestibular stimulation: implications for cardiovascular control. *J Neurophysio.* 71, 2087-2092.

Yates, B.J., Stocker, S.D. 1998. Integration of somatic and visceral inputs by the brainstem: functional considerations. *Exp Brain Res.* 119, 269-275.

Yates, B.J., Balaban, C.D., Miller, A.D., Endo, K., Yamaguchi, Y. 1995. Vestibular inputs to the lateral tegmental field of the cat: potential role in autonomic control. *Brain Res* 689, 197-206.

Yates, B.J., Billig, I., Cotter, L.A., Mori, R.L., Card, J.P. 2002. Role of the vestibular system in regulating respiratory muscle activity during movement. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 29, 112-117.

Yates, B.J., Bronstein, A.M. 2005. The effects of vestibular system lesions on autonomic regulation: observations, mechanisms, and clinical implications. *J Vestib Res.* 15, 119-129.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Az értekezést megalapozó in extenso közlemények:

1. Tímea Bácskai, Gábor Veress, Gábor Halasi, **Ádám Deák**, Éva Rácz, György Székely, Clara Matesz: Dendrodendritic and dendrosomatic contacts between the oculomotor and trochlear motoneurons of the frog, *Rana esculenta*. Brain Res Bull 75: 419-423. 2008. **IF: 2,281**
2. **Ádám Deák**, Tímea Bácskai, Gábor Veress, Clara Matesz. Vestibular afferents to the motoneurons of glossopharyngeal and vagus nerves in the frog, *Rana esculenta*. Brain Res 1286: 60-65. 2009. **IF: 2,494**

Az értekezést megalapozó könyvfejezet:

1. Matesz, C., Bácskai, T., **Deák, Á.**, Rácz, É., Veress, G., Székely, G.: Using of confocal laser scanning microscope in the examination of neural network underlying the gaze and posture control. In: Fiber Lasers: Research, Technology and Applications. Nova Science Publishers, Inc. New York. pp.1-5.

Az értekezéshez szorosan nem kapcsolódó egyéb in extenso közlemények:

1. Clara Matesz, Gabriella Kovalecz, Gábor Veress, **Ádám Deák**, Éva Rácz, Tímea Bácskai: Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*. Brain Res Bull 75: 371-374. 2008. **IF: 2,281**
2. Barna Kelentey, **Adam Deák**, Tivadar Zelles, Klara Matesz, István Foldes, Gabor Veress, Tímea Bácskai. Modification of innervation pattern by fluoroquinolone treatment in the rat salivary glands. Anat. Rec. 293: 271-279. 2010. **IF: 1,569**
3. Zoltan Zaborszky, Klara Matesz, **Ádám Deák**, Marta Jackel, Gellert Karvaly, Jozsef Furesz, Bakity Boldizsár .Pathological examination of the abdominal compartment syndrome in animal experiment. Közlésre benyújtva a J. Amer.Surgery-hez.2010.

A megjelent közlemények összesített impakt faktora: 8.625.

Kongresszusi absztraktok:

1. Bácskai T, Kelentey B, **Deák Á**, Matesz K: Effect of fluorokinolone treatment on the structures innervating the salivary glands of the rat. IBRO International Workshop, 2006 Budapest, Clin. Neurosci. 2006; 59 (S1):1-72
2. **Deák Á**, Bácskai T, Veress G, Rácz É, Matesz K: Vestibular afferents to the brainstem: morphological substrate for vestibulo-autonomic interaction. IBRO International Workshop, 2006 Budapest, Clin. Neurosci. 2006; 59 (S1):1-72
3. Szabó, Zs., Bácskai, T., **Deák, Á.**, Matesz, K., Veress, G., Sziklai, I: Localization and dendro-dendritic connections of the cochlear efferent neurons in Guinea pig. Congress of The Hungarian Neuroscience Society, 2007 Szeged Clin. Neurosci. 2007; 60 (S1): 1-72.

4. Bácskai T, Kelentey B, **Deák Á**, Zelles T, Skopkó B, Matesz K: Effect of chronic fluorokinolone treatment on the structures innervating the salivary glands of the rat. Congress of The Hungarian Neuroscience Society, 2007 Szeged, Clin. Neurosci. 2007; 60 (S1): 1-72.
5. **Deák Á**, Bácskai T, Rácz É, Matesz, K: Vestibular lesion-induced changes in the expression of hyaluronan in the brainstem. Congress of The Hungarian Neuroscience Society, 2007 Szeged, Clin.Neurosci.2007;60(S1):1-72.
6. Matesz K, Kovalecz G, Veress G, **Deák Á**, Rácz É, Bácskai T. Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta* 5th: ECCN European Conference on Comparative Neurobiology, Paris, 2007
7. **Deák, Á**, Bácskai, T, Rácz, É, Matesz, K Vestibular lesion induced changes in the expression of hyaluronan in the rat brainstem. PENS/Hertie Winter School, "The Design of Neuronal Networks: Contributions from Invertebrates“, Obergurgl, Austria, 2008
8. **Deák, Á.**, Bácskai, T., Matesz , K. Effect of labyrinthectomy on the molecular composition of the perineuronal net in the vestibular nuclei of the rat. IBRO International Workshop, 2008 Debrecen,Clin.Neurosci.2008;61(S1):1-71.
9. **Deák, Á.**, Bácskai, T., Matesz , K. Vestibular lesion-induced changes in the extracellular matrix molecules of the vestibular nuclei of the rat. 6th FENS Forum of European Neuroscience, Geneva , Switzerland, 2008
10. **Deák, Á.**, Bácskai, T., Matesz , K. Vestibular lesion-induced changes in the extracellular matrix molecules of the vestibular nuclei of the rat. Congress of The Hungarian Neuroscience Society XII. Konferenciája Budapest, 2009. In press.
11. Kelentey B., Bácskai T., **Deák Á.**, Skopoko B., Matesz K. Effect of fluorokinolone treatment on the peptidergic innervation of the salivary glands. 73rd Congress of Hungarian Physiological Society, Budapest, 2009.
12. **Deák Á.**, Bácskai T., Veress G. , Matesz K. Effect of labyrinthectomy on the expression of extracellular matrix molecules in the vestibular nuclei of the rat. Influence of degeneration and repair in the CNS and periphery. International workshop, Budapest 2009
13. **Deák, Á.**, Ali Jack Nikkhah, Katalin Szakszon, Gaál Botond, Tímea Bácskai, Klara Matesz: Distribution of extracellular matrix macromolecules in the brainstem of rodents, IBRO International Workshop, 2010, Pécs