

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Az állkapocsmozgások szenzoros kontrollja a béka zsákmányszerző viselkedése során

Dr. Kovalecz Gabriella

Témavezető: Prof. Dr. Matesz Klára



**DEBRECENI EGYETEM
FOGORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA
Debrecen, 2016**

TARTALOMJEGYZÉK

AZ ÉRTEKEZÉSBEN ELŐFORDULÓ RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	4
1 BEVEZETÉS	6
2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	8
2.1 A béka zsákmányszerző viselkedése	8
2.2 A zsákmányszerzés folyamatának neuroanatómiai háttere	10
2.3 Az állkapocs mozgások efferens komponensei békában	13
2.3.1 A primer állkapocsízület és izmai.....	13
2.3.2 A primer állkapocsízület mozgásában részt vevő agyidegi magok	15
2.3.2.1 A motoros trigeminus mag szerveződése békában.....	15
2.3.2.2 A motoros facialis mag szerveződése békában.....	17
2.4 Az állkapocsmozgások hátterét képező szenzoros rendszer agytörzsi szerveződése békában	18
2.4.1 A trigeminus afferensek szerepe és agytörzsi projekciója.....	18
2.4.2 A facialis afferensek szerepe és agytörzsi projekciója.....	20
2.4.3 A vestibularis rendszer szerveződése békában	22
2.5 Az állkapocsmozgások hátterét képező motoros és szenzoros rendszer agytörzsi szerveződése emlősökben	27
2.6 Célkitűzések	29
3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	31
3.1 Kísérleti állatok	31
3.2 Az agyidegek jelölése	31
3.3 Az agytörzs szövettani feldolgozása	34
3.4 Az agytörzs mikroszkópos vizsgálata	35
3.5 Az agytörzsi facialis, trigeminus, és vestibularis neuronális elemek átfedési területeinek térbeli rekonstrukciója neurolucida segítségével	37
4 EREDMÉNYEK	38
4.1 A nervus trigeminus és a nervus vestibularis kapcsolatrendszerének vizsgálata.....	38

4.1.1	A nervus trigeminus fluorescein dextran-aminnal (FDA) és a nervus vestibulocochlearis tetramethylrhodamine dextran-aminnal (RDA) történő fluoreszcens jelölése	38
4.1.2	Az agytörzs neurolucida rekonstrukciója a trigeminus motoneuronok és a primer afferens vestibularis neuronok átfedési területeinek illusztrálására	42
4.1.3	A nervus trigeminus dextranamin-Alexa Fluor 555-tel és a nervus vestibulocochlearis neurobiotinnal történő jelölése	45
4.1.4	A vestibularis terminálisok eloszlása a nervus trigeminus funkcionálisan különböző motoneuronjain	45
4.2	A nervus trigeminus és a nervus facialis szenzori-motoros kapcsolatrendszerének vizsgálata	52
4.2.1	Az agytörzs neurolucida rekonstrukciója a trigeminus és facialis neuronális elemek átfedési területeinek illusztrációjához	52
4.2.2	A nervus trigeminus neurobiotinnal és a nervus facialis dextranamin-Alexa Fluor 555-tel történő jelölése	52
5	MEGBESZÉLÉS	58
5.1	A nervus trigeminus és a nervus vestibularis kapcsolatai	58
5.2	A nervus trigeminus és a nervus facialis motoros magjának kapcsolatai ..	61
5.3	A közvetlen szenzori-motoros kapcsolatok szerepe az állkapocs mozgások irányításában a béka zsákmányszerző viselkedése során	64
6	ÖSSZEFOGLALÁS	66
	SUMMARY	68
7	IRODALOMJEGYZÉK	70
	SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	84
8	TÁRGYSZAVAK	86
9	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	87
10	FÜGGELÉK	88

AZ ÉRTEKEZÉSBEN ELŐFORDULÓ RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

AC	canalis semicircularis verticalis anterior
AP	papilla amphibialis
BP	papilla basilaris
C	caudalis
C2	második cervicalis gerincvelői ideg
CER	cerebellum
CI	commissura infima
D	dorsalis
DEP	musculus depressor mandibulae
DL	dorsolateralis
DM	dorsomedialis
DVN	nucleus vestibularis descendens
FDA	fluorescein dextran-amine
ggl	ganglion
HC	canalis semicircularis horizontalis
JPB	jaw prehension behaviour
L	lateralis
LA	lagena
LEV	musculus levator bulbi
LOPI	utolsó rendű premotor interneuronok (last order premotor interneurons)
LVN	nucleus vestibularis lateralis
M	medialis
MAS	musculus masseter
MAX	musculus submaxillaris
MPG	központi motoros ritmus generátor (motor pattern generator)
MVN	nucleus vestibularis medialis
n.	nervus
n. IX; IX	nervus glossopharyngeus
n. V; V	nervus trigeminus
n. VII; VII	nervus facialis

n. VIII; VIII	nervus vestibularis
n. X; X	nervus vagus
NB	neurobiotin
npV	nucleus sensorius principalis nervi trigemini
ntspV	nucleus tractus spinalis nervi trigemini
nVmes	nucleus tractus mesencephalicus nervi trigemini
PC	canalis semicircularis verticalis posterior
PFA	paraformaldehid
PTE	musculus pterygoideus
R	rostralis
RDA	tetramethylrhodamine dextran-amine
SA	sacculus
SVN	nucleus vestibularis superior
TEM	musculus temporalis
TPB	tongue prehension behaviour
TrSol	tractus solitarius
tspV	tractus spinalis nervi trigemini
UT	utricle
VII_{mot}	nucleus motorius nervi facialis
VL	ventrolateralis
VM	ventromedialis
Vmes	tractus mesencephalicus nervi trigemini
V_{mot}	nucleus motorius nervi trigemini

Az itt nem szereplő rövidítéseket és egyéb jelöléseket a megfelelő ábrák alatt értelmezzük.

1 BEVEZETÉS

Az izmokból, ízületekből, bőrből, vestibularis érzékszervből, fotoreceptorokból származó szenzoros információk elengedhetetlen fontosságúak a mozgásfolyamatok szabályozásában. A receptorokból kiinduló afferens ingerületek feldolgozása a központi idegrendszeren belül egyidejűleg több különböző helyen történik meg. Az agytörzs központi integráló szerepe kiemelkedő fontosságú a szenzori-motoros kapcsolatok szervezésében. Gazdag afferens és efferens kapcsolatai révén részt vesz az életfontosságú funkciók (légzés, vérkeringés, köhögés, hányás stb.) szabályozásában, a sztereotip mozgáselemeket tartalmazó motoros funkciók irányításában, itt találhatóak az agyidegek magvai is.

Az agytörzsi neuronhálózat működésének és felépítésének megismeréséhez nagymértékben hozzájárult a békák (Anura) zsákmányszerző magatartásának tanulmányozása. Mivel idegrendszerük szerveződése és működése meglehetősen magas fejlettségi szintet ért el és az agytörzsük felépítése filogenetikailag konzervatívnak mondható, neuroanatómiai vizsgálatuk támpontot szolgáltathat az emlősök, vagy akár az ember központi idegrendszeri szerveződésének megismerésében is.

A béka zsákmányszerző viselkedése rendkívül gyors, célirányos mozgások sorozatából áll. A sztereotip mozgások, oromotoros tevékenységek során a test egyensúlyának megtartása, a fej mozgása, az állcsontmozgás, a nyelv mozgása, a nyelés szinkronizálása alapvető fontosságú, mindezekhez a mozgássorozat szabályozásában résztvevő motoros kimenetek megfelelő időzítését biztosítani kell. A zsákmányszerzés sztereotip mozgássorozatának végrehajtásáért az agytörzsi központi ritmusgeneráló motoros neuronhálózat (Motor Pattern Generator, MPG) felelős, amelynek aktiválása a zsákmány vizuális észlelésének hatására történik meg (Grobstein 1983; Matsushima és mtsai. 1989; Dicke és mtsai. 1998; Ewert és mtsai. 1999; Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005). Az MPG által generált mintázat az utolsó rendű premotor interneuronok (last order premotor interneuron-LOPI) közvetítésével éri el az adott mozgás végrehajtásában résztvevő izmok összehúzódásáért felelős motoneuronokat. Ezt az előre meghatározott programot azonban a központi idegrendszer és a perifériás idegrendszer felől közvetlen vagy közvetett módon érkező szenzoros

és motoros impulzusok befolyásolni képesek, biztosítva a zsákmányszerző magatartás során a rendkívül gyors, célirányos mozgások megfelelő koordinálását (Grobstein 1983; Ewert 1984; Matsushima és mtsai. 1989; Liaw és Arbib 1994; Dicke és mtsai. 1998; Ewert és mtsai. 1999; Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005; Deák és mtsai. 2009; Kecskés és mtsai. 2013, 2015).

Számos vizsgálat ellenére sem ismerjük részletesen az egyensúlyozó rendszer és a zsákmányszerzés során az állkapocsmozgásokért felelős izommozgásokat koordináló motoneuronok közötti agytörzsi neuronhálózatok szerkezetét és működését. Felderítésével közelebb kerülhetünk a fejmozgások során megkívánt rendkívül gyors, koordinált és szinkronizált motoros válaszok hátterében álló morfológiai kapcsolatok megismeréséhez.

A táplálkozási folyamatokban kiemelkedő szerepet töltenek be az állkapocsmozgások kivitelezéséért felelős nervus trigeminus és nervus facialis motoneuronjai. A száj nyitása és zárása során az állkapocs pozíciójának, valamint az állkapocsízületet mozgató izmok tónusának fenntartását a proprioceptív receptorok és a mechanoreceptorok, valamint a vestibularis (egyensúlyérző) receptorok kontrollálják. A zsákmányállat adottságainak és szájnyitás-zárás fázisainak függvényében a préda sikeres elejtéséhez szükséges izom összehúzódások optimalizálásához a szájnyitó és szájzáró izmok tónusának rendkívül gyors korrekciójára lehet szükség (Gaupp 1904; Gans és Gorniak 1982). A száj nyitásban meghatározó szerepet betöltő facialis motoneuronok működésére befolyással lehetnek a nervus trigeminus felől érkező szenzoros információk, amelyek a szájzáró és -nyitó izmok proprioceptív receptoraiból, a Golgi-féle ínorsóból, valamint a szájüreg és a nyelv mechanoreceptoraiból érkeznek (Mandal és Anderson 2010).

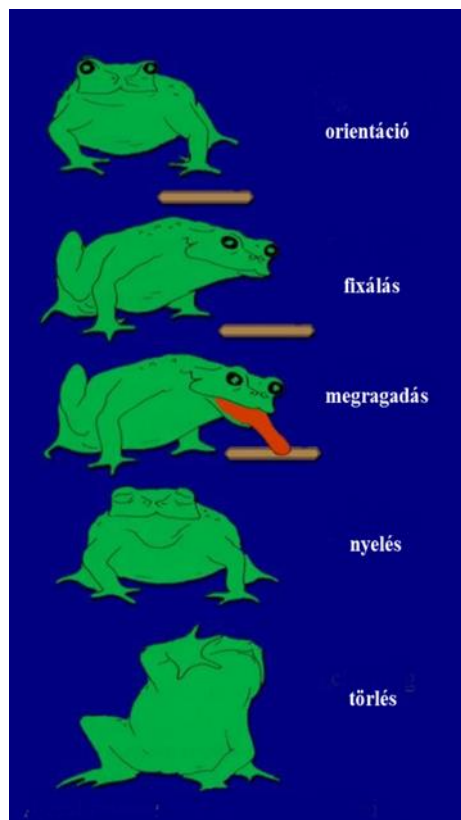
Kísérleteinkben egyrészt a száj nyitásban és zárásban résztvevő nervus trigeminus és a vestibularis rendszer kapcsolatainak megismerése volt a célunk, másrészt szerettünk volna választ kapni arra a kérdésünkre, hogy a nervus trigeminus receptorainak ingerlése közvetlenül befolyásolhatja-e a nervus facialis motoneuronjainak aktivitását.

2 IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1 A béka zsákmányszerző viselkedése

A béka zsákmányszerző magatartása komplex, időben összehangolt mozgássorozat, mely a zsákmány észlelését követően láncreakciószerűen játszódik le az állatokban. Az állat látóterébe kerülő mozgó zsákmány kiváltja a viselkedési mintázat jellegzetes lépéseit: a fej és a test zsákmány felé történő orientációját, a fixálást, a megragadást, a nyelést és végül a száj körüli bőr ingerlése miatt a törlést (**1. ábra**) (Ewert 1984, 1987).

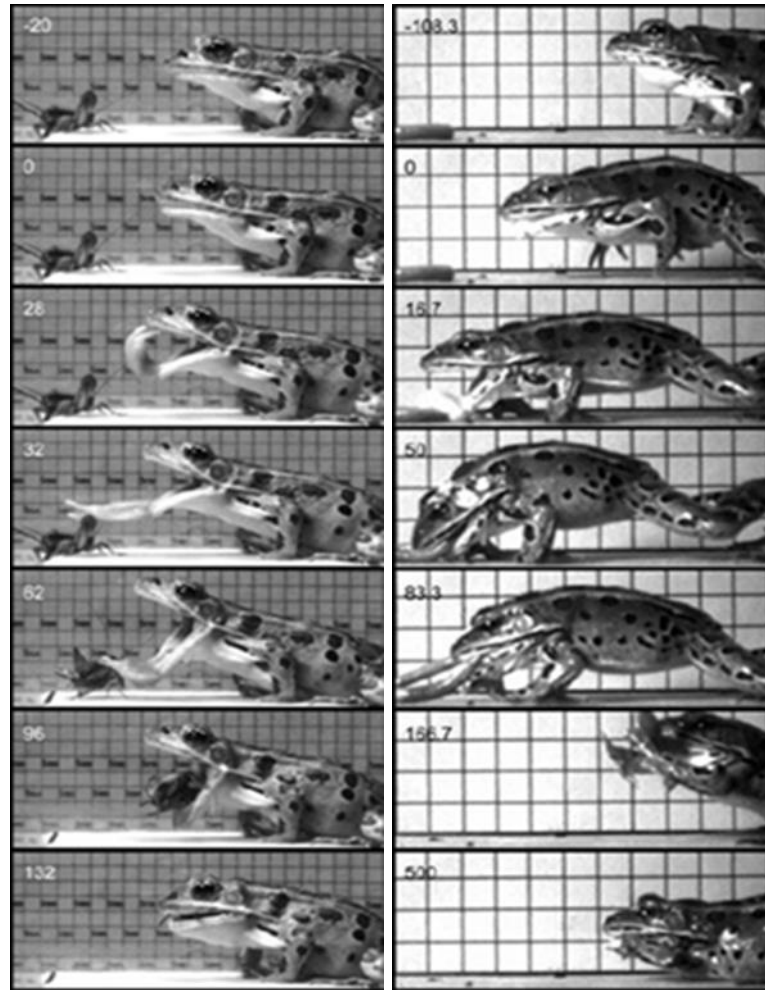
A mozgásfolyamat célirányos kivitelezéséhez a zsákmány és a béka aktuális, a zsákmányszerzés adott pillanatában fennálló fizikai adottságaival kapcsolatos szenzoros információk feldolgozása is szükséges (Ingle 1983; Nishikawa és Gans 1996; Wachowitz és Ewert 1996).



1. ábra: A zsákmányszerző magatartás fázisai (Ewert után módosítva, 1984).

A valódi békák (*Ranidae*) táplálkozási viselkedése a fixálást követően két eltérő módon valósulhat meg. Mindkettőre jellemző, hogy reflex-szerűen zajlik le és sztereotip mozgáselemeket tartalmaz. A két módszer közötti választást, a zsákmány tulajdonságai közül alapvetően a mérete határozza meg. Amennyiben a zsákmány mérete nem haladja meg a 1,5 centimétert a béka a nyelv kiöltésével ragadja meg a táplálékot (tongue prehension behavior - TPB), ami ezt követően rögtön a szájüregbe kerül. A 1,5 centimétert meghaladó méretű préda esetén az állat teste előrelelendül, ráugrik a zsákmányra, feje lefelé fordul, és a záródó állkapoccsal fogja meg áldozatát, mely ezt követően a mellső lábak segítségével jut a szájüregbe (jaw prehension behavior - JPB) **(2. ábra)** (Anderson és Nishikawa 1993, 1996; Gray és mtsai. 1997; Valdez és Nishikawa 1997; Nishikawa 2000; Monroy and Nishikawa 2011). A táplálék vizuális analízisét követően a két lehetséges zsákmányszerzési mód közötti választás milliszekundumok alatt megtörténik, még azelőtt, hogy a száj nyitása megkezdődne, majd ezt követően a teljes mozgássorozat reflexszerűen, megállíthatatlanul lezajlik (Nishikawa 2000).

A TPB során a zsákmány elejtésének mozgássorozata négy fázisra osztható: (1) előkészítő fázis, (2) nyelv protrúzió, (3) nyelv retrakció, (4) száj zárása (Gans és Gorniak 1982). Az előkészítő szakasz kezdetén az állat teste a zsákmány irányába mozdul el és a szájnyitás megindulásával ér véget. A protrúzió alatt a nyelv először rotációs mozgást végez a szájüregben, majd az elongációja révén eléri a zsákmányt. A zsákmány megérintése a protrúziós szakasz végét jelenti, ekkor kezdődik a nyelv retrakciója, melynek során a nyelv ismételten rotációs mozgást végez a szájüregben, mellyel a táplálék az állcsontok érintése nélkül a garatba jut. A rotációs mozgás lezajlását követően záródik az állkapocs.

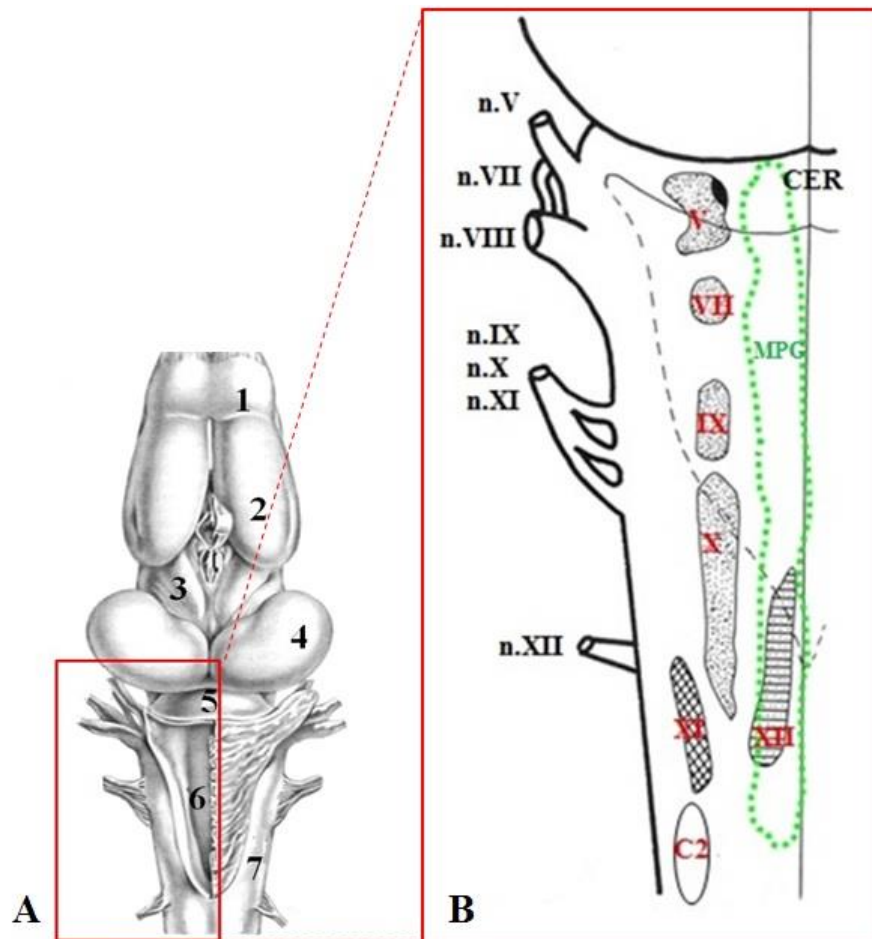


2. ábra: A békák zsákmányszerzésének lehetséges mechanizmusai. A bal oldali ábrákon a nyelvvel, jobb oldalon az állkapoccsal történő zsákmányszerzés lépései láthatóak. A képeken lévő számok a szájnyitás kezdetétől eltelt időt jelölik milliszekundumokban (Monroy és Nishikawa után módosítva, 2011).

2.2 A zsákmányszerzés folyamatának neuroanatómiai háttere

A mozgó zsákmány vizuális ingere a retinán és a látóidegen (n. opticus) keresztül a tectum opticumba érkezik, mely efferens kapcsolatai révén fontos szerepet tölt be a mozgások végrehajtásában, aktiválja azokat az agytörzsi neuronhálózatokat, melyek a sztereotip elemeket tartalmazó mozgásmintázat létrejöttében játszanak szerepet. Fiziológiai vizsgálatok szerint ez a mozgásmintázat az idegrendszerbe programozott, reflexszerű idegi kapcsolatok eredményeként jön létre, melynek megfelelő végrehajtásáért az agytörzsi formatio reticularis medialis részén elhelyezkedő, az agytörzs teljes rostro-

caudalis kiterjedésében fellelhető neuronhálózat felelős, melyet központi motoros ritmus generátornak (motor pattern generator - MPG) nevezünk (**3. ábra**) (Grobstein és mtsai. 1983; Matsushima és mtsai. 1989; Schwippert és Framing 1989; Weerasuriya 1983, 1989; Ewert 1997; Dicke és mtsai. 1998; Ewert és mtsai. 1999; Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005).

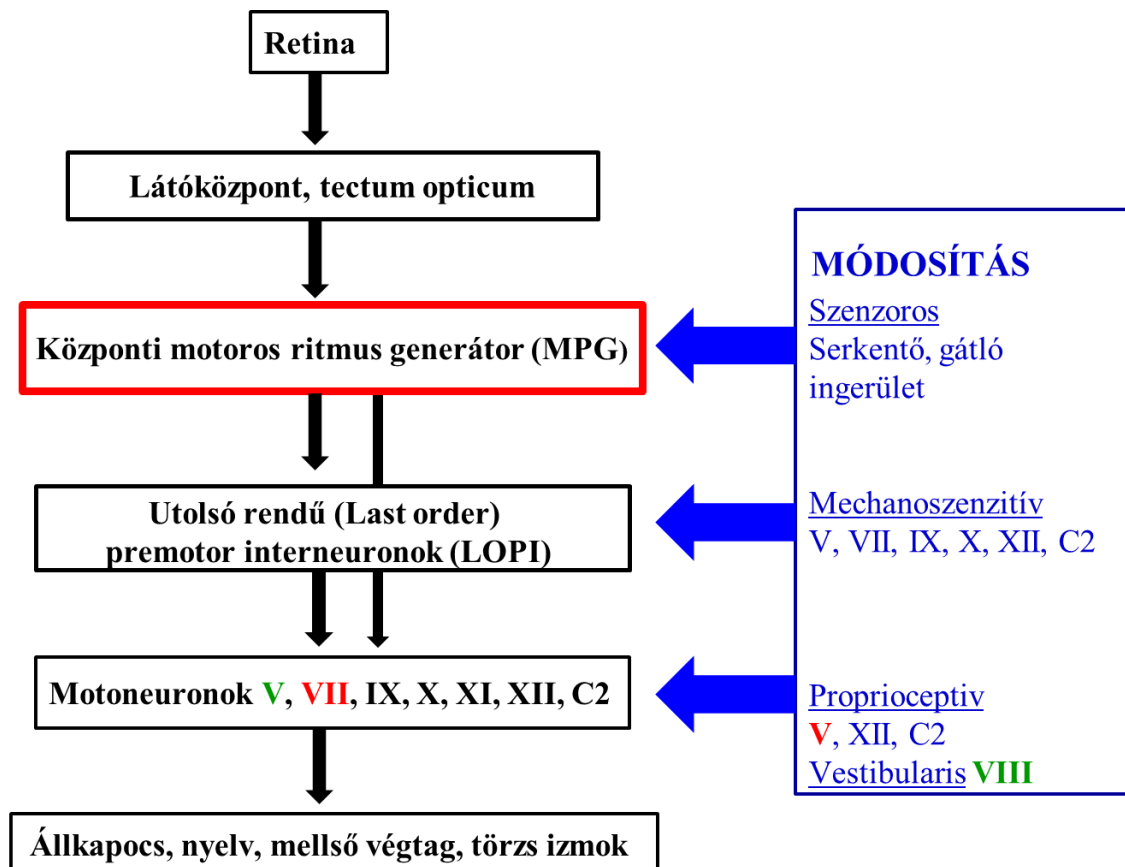


3. ábra: A béka központi idegrendszere (A) és a központi motoros ritmus generátor (MPG) elhelyezkedése a béka agytörzsben (B). 1. bulbus olfactorius, 2. telencephalon, 3. diencephalon, 4. tectum mesencephali, 5. cerebellum, 6. ventriculus quartus, 7. rhombencephalon. A római számok a motoros agyidegi magokat, a zöld szaggatott vonallal körülvett terület az agytörzs formatio reticularisában elhelyezkedő motoros ritmus generátort (MPG) jelöli. CER: cerebellum; C2: második cervicalis ideg motoneuronok (ten Donkelaar, 1997; Matesz és Székely, 1978; Corbacho, 2005 után módosítva).

Az MPG fentiekben leírt aktiválása egyéb külső szenzoros ingerek nélkül is kiváltja a választ (Delcomyn 1980; Grillner 1985), amit a központi és a

perifériás idegrendszer számos területe felől beérkező közvetett vagy közvetlen információ módosíthat, annak erőssége, térbeli és időbeli megoszlása függvényében. Ez a folyamatos feedback mechanizmus nélkülözhetetlen az adott magatartási mintázat optimalizálásához. A ritmus generátor területéről származó információ közvetlenül vagy a formation reticularisban található utolsó rendű premotor interneuronokon (last order premotor interneuron - LOPI) keresztül, továbbítódik az adott mozgás végrehajtásáért felelős motoneuronokhoz (Matsushima és mtsai. 1989; Ewert és mtsai. 1990; Schwippert és mtsai. 1990; Racz és mtsai. 2008; Matesz és mtsai. 2014). A LOPI aktivitását nemcsak az MPG felől és más leszálló pályákon keresztül érkező ingerületek befolyásolják, hanem a primer afferens rostok által szállított szenzoros információk is. A beérkezett serkentő és gátló ingerületeket a LOPI-k összegzik, és ezt követően továbbítják a motoneuronok felé, amelyekkel monoszinaptikus kapcsolatban vannak **(4. ábra)** (Matsushima és mtsai. 1989; Ewert és mtsai. 1990; Schwippert és mtsai. 1990; Matesz és mtsai. 2014).

A fent leírt folyamatban a különböző központi idegrendszeri területekből származó ingerület közbeiktatott interneuronokon keresztül poliszinaptikus útvonalakon jut el a motoneuronokhoz, mely a különböző idegi szabályozások integrálása szempontjából kiemelkedő fontosságú lehet, de a többlépcsős útvonal időigénye feltételezhetően nem minden esetben biztosítja a kellően gyors motoros válaszok létrejöttét a zsákmány megszerzése során. Elképzelések szerint a folyamatban lévő mozgásprogram rugalmas, finomhangolásában különféle szenzoros szignálok is szerepet játszhatnak (Weerasuriya 1989; Nishikawa and Gans 1992; Anderson és Nishikawa 1993; Harwood és Anderson 2000), melyek lerövidíthetik a reakcióutat. Számos szerző úgy véli, hogy a szenzoros rostok és a mozgásfolyamatban résztvevő motoneuronok poliszinaptikus kapcsolatban vannak egymással (Matsushima és mtsai. 1986; Nishikawa 2000; Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005; Mandal és Anderson 2010), de monoszinaptikus kapcsolatok létezése is igazolódott a nyelésben résztvevő izmokat, valamint a nyelvizmokat ellátó különböző funkciójú motoneuronok esetében (Harwood és Anderson 2000; Deák és mtsai. 2009; Kecskés és mtsai. 2013, 2016).

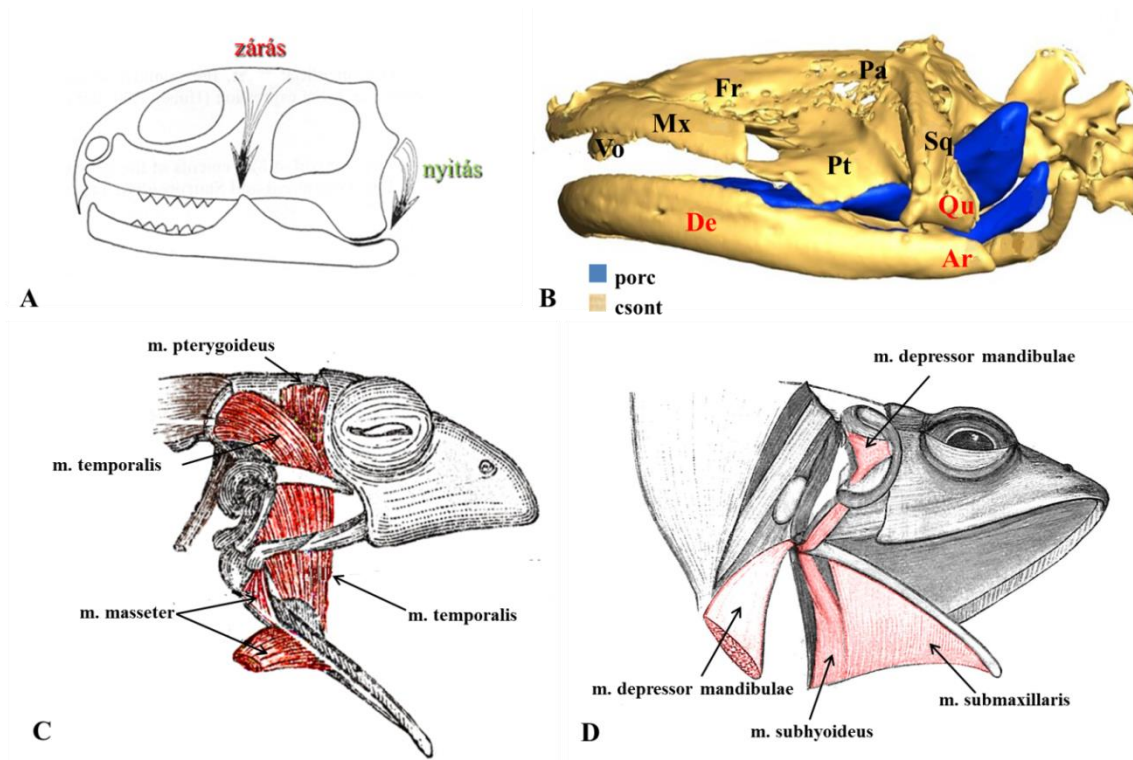


4. ábra: A zsákmányszerző viselkedés szerveződésének sematikus rajza. C2: második cervicalis gerincvelői ideg (Matesz és mtsai. után módosítva, 2014).

2.3 Az állkapocs mozgások efferens komponensei békában

2.3.1 A primer állkapocsízület és izmai

A primer állkapocsízület (articulare quadratum) a kétéltűek, hüllők, madarak jellegzetes ízület típusa. Az alsó állkapocs csontjai közül (os dentale, os angulare, os articulare) az os dentale hátsó nyúlványát képező ízületcsont (os articulare) ízesül az os palatoquadratum alsó nyúlványát alkotó négyszögcsonthoz (os quadratum) (5. B ábra). Kétkarú emelőként működve az állkapocsot föl-le tudja mozgatni, a száj nyitását és zárását teszi lehetővé (5. A ábra), így ezek az állatok csak a táplálék megragadására és lenyelésére képesek, rágó és őrölő mozgásokat az ízület felépítése nem enged meg.



5. ábra: A primer állkapocsízület felépítése (A, B) és a szájzáró (C), szájnyitó (D) izmok anatómiája (C, D). Az A ábrán a nyílak a szájnyitó és szájzáró izmok erővonalát szemléltetik. Ar: os articulare; De: os dentale; Fr: os frontale; Mx: os maxillare; Pa: os parietale; Pt: os pterygoideus; Sq: os squamosum; Qu: os quadratum; Vo: os vomer (A: Székely és Matesz után módosítva, 1993; B: Heiss után módosítva, 2013; C-D: Gaupp után módosítva, 1904).

A primer állkapocsízületet mozgató izmok a primordialis constrictor izomból fejlődnek. Az első kopolyúív területén az egységes constrictor izom középső részéből az adductor mandibulae alakul ki, melyből a száj zárását végző izomcsoport (musculus masseter, pterygoideus, temporalis) jön létre (5. C ábra). Ventralis részéből alakul ki a szájfenék izma is a musculus intermandibularis vagy submaxillaris. Az izmokat a n. trigeminus ága a n. mandibularis látja el. A második kopolyúív területén a constrictor izom mély lemezéből jön létre a musculus interhyoideus vagy subhyoideus (mely a musculus intermandibularissal együtt alkotja a szájfenék izomzatát) és a száj nyitását végző m. depressor mandibulae (5. D ábra). Ezeket az izmokat a n. facialis látja el (Starck, 1982).

2.3.2 A primer állkapocsízület mozgásában részt vevő agyidegi magok

2.3.2.1 A motoros trigeminus mag szerveződése békában

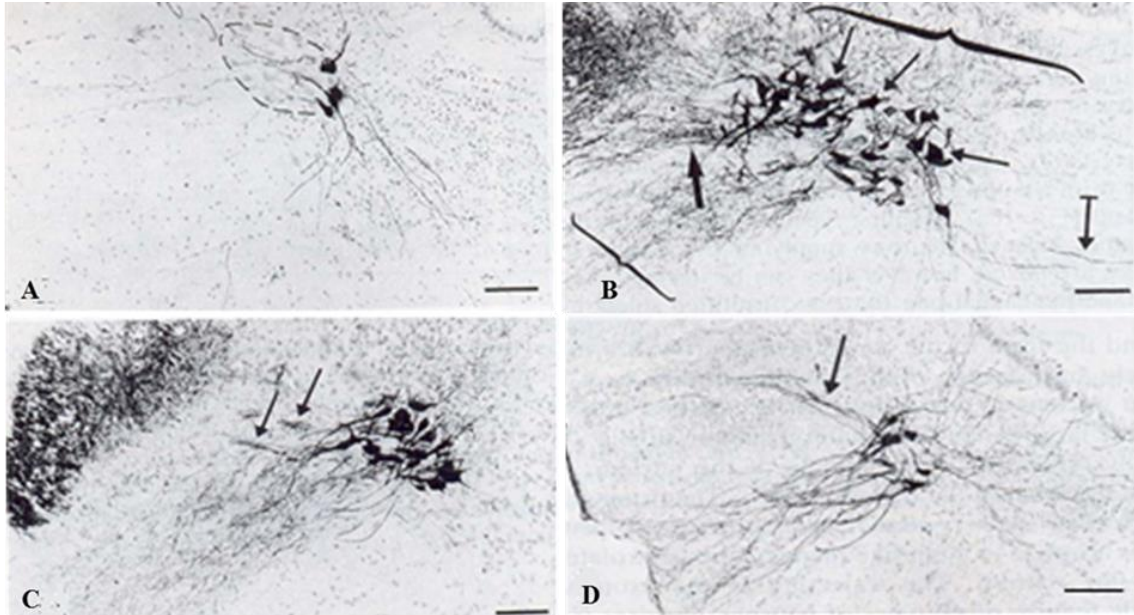
A nucleus motorius nervi trigemini az állkapocs nyitásban (musculus submaxillaris) és zárásában (musculus masseter, pterygoideus, temporalis) résztvevő izmokat, valamint a musculus levator bulbit ellátó motoneuronokat tartalmazza. Agytörzsi kiterjedése a kisagyszöglettől a n. vestibulocochlearis belépéséig tart. A mag rostralis kétharmada szélesebb, caudalisan jóval keskenyebb (Matesz és Székely 1978). A mag háromféle motoneuron típust tartalmaz, melyek morfológiai jegyeik alapján jól elkülöníthetők (Székely és Matesz 1987, 1989; Matesz és mtsai. 1995) **(6. ábra)**. Az első típusba tartozó motoneuronok a mag rostralis kétharmadában helyezkednek el és a szájzáró izmokat (m. masseter, m. pterygoideus, m. temporalis) látják el **(6. B ábra)** (Matesz és mtsai. 1994). A perikaryonok nagyméretűek (40-50 μ m), kissé elnyújtott polygonalis vagy csillag alakúak. Dorsomedialis irányba haladó dendritjeik legyezőszerűen terülnek el, míg a ventrolateralisak inkább seprűszerűen ágazódnak el **(7. B, C, D ábra)**.

Az axonok egy kezdeti dorsolateralis irány után ventralisan folytatják tovább útjukat az agytörzsi kilépésük irányában. Ritkábban dorsomedialis irányt követően hajtűkanyarral fordulnak vissza a motoros gyökér felé.

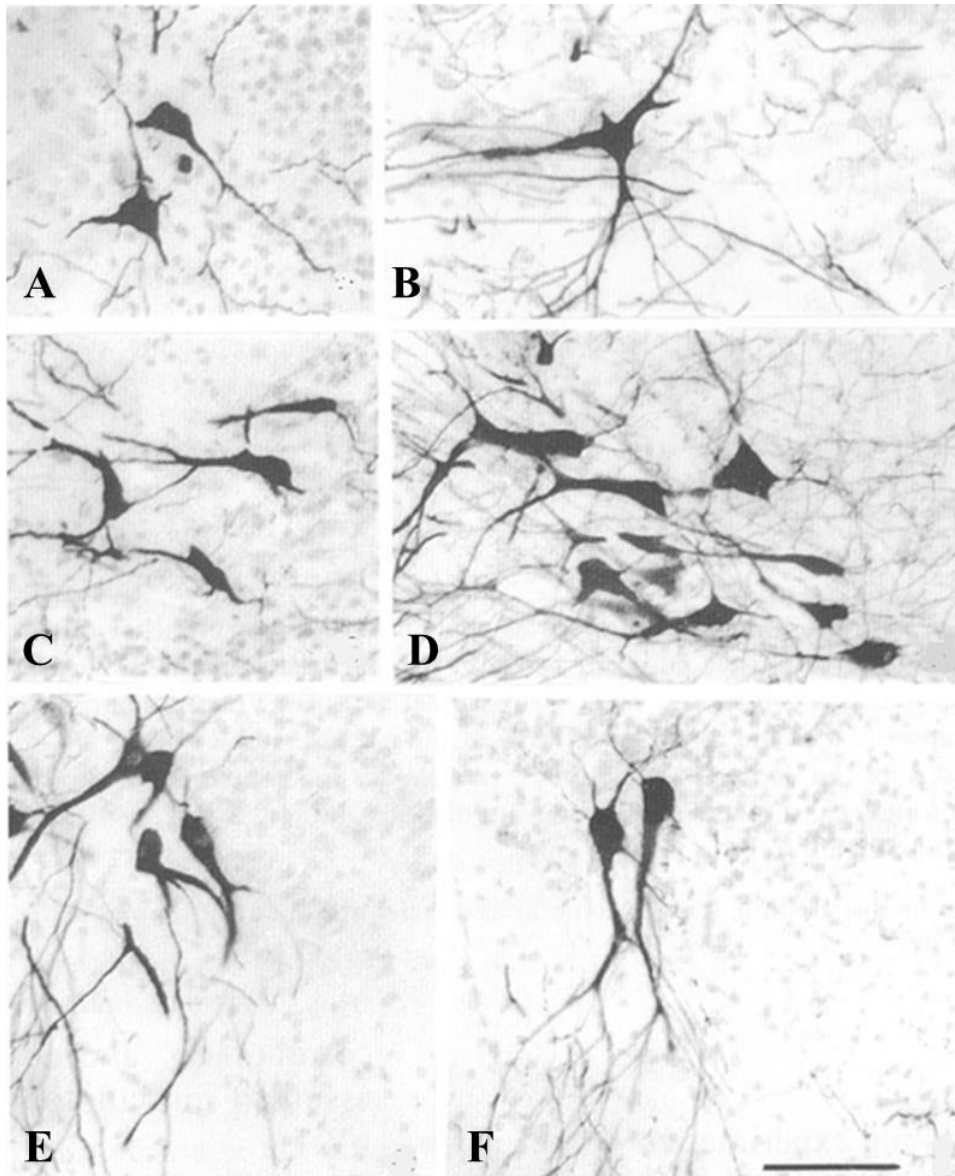
A motoneuronok második típusa a mag caudalis részében található, sejttestjük kicsi (25-32 μ m), alakjuk kerek vagy ovális **(6. C ábra)**. Dendritfáik orientációja és formája megegyezik az első csoportba tartozó motoneuronokéval, de a dorsomedialis dendritfa kisebb és kevésbé elágazó **(7. E ábra)**. Ezek a sejtek a m. submaxillaris és a m. submentalis (intermandibularis) látják el.

A harmadik típusú motoneuronok sejttestjei polygonalisak, méretük a második típusba tartozó motoneuronokéval közel megegyező (Matesz és Székely 1987). A trigeminus motoros magjának rostralis részén dorsomedialisan egységes csoportban helyezkednek el **(6. A ábra)** (Matesz és mtsai. 1994). Dendritjeik radier irányban terülnek el és az agytörzs keresztmetszetének több mint felét befedik **(7. A ábra)**. Az axonok dorsolateralis irányban haladnak a motoros gyökér felé, a periférián a n.

ophthalmicus és a n. maxillaris útján érik el a m. levator bulbit, mely az orbitát választja el a szájüregtől. Ez a motoneuron típus és izom csak a kétéltűekben van jelen.



6. ábra: A motoros trigeminus és a facialis mag keresztmetszete. A: A m. levator bulbit beidegző motoneuronok. Szaggatott vonal: a trigeminus mag határa. B: A motoros trigeminus mag rostralis része. Kapcsok: a dorsomedialis és a ventrolateralis dendritfák. Talpas nyilak: a medial felé kanyarodó axonokat jelzik. Vastag nyíl: motoros gyökér, vékony nyilak: 1. típusú neuronok. C: A motoros trigeminus mag caudalis része. A nyilak az axonokra mutatnak. D: a motoros facialis mag. A nyíl a motoros gyökeret jelzi. Kalibrációs vonal: 100 μm (Székely és Matesz után módosítva, 1993).



7. ábra: Az állkapocsmozgató izmokat beidegző motoneuronok békában kobalt jelöléssel. A: levator bulbi, B: masseter, C: pterygoideus, D: temporalis, E: submaxillaris, F: depressor mandibulae. Kalibrációs vonal: 100 μm (Matesz és mtsai. után módosítva, 1994).

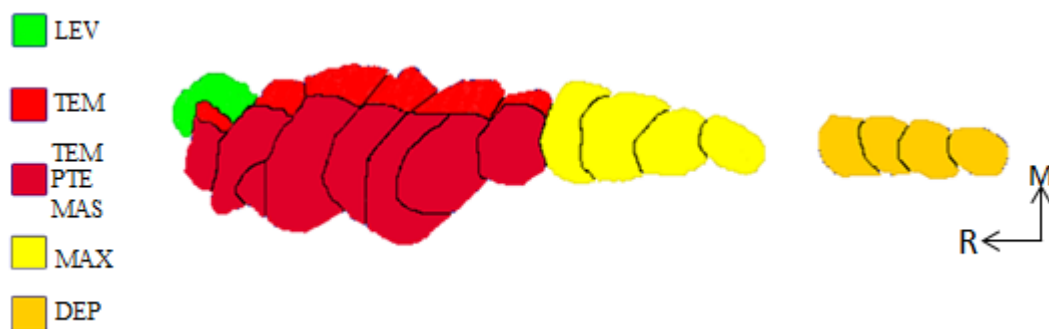
A három neuron típus a motoros magon belül somatotopiás elhelyezkedést mutat (**8. ábra**), de a záróizmokat ellátó motoneuronok lokalizációjában átfedés mutatható ki (Matesz és mtsai. 1994).

2.3.2.2 A motoros facialis mag szerveződése békában

A nucleus motorius nervi facialis a ventrolateralis motoros magoszlop jól elkülöníthető motoneuroncsoportja, mely körülbelül 170 μm távolságra,

caudalisan helyezkedik el a nervus trigeminus motoros magjától (8. ábra). Caudalis pólusa majdnem eléri az abducens magot (Matesz és Székely 1978). Motoneuronjai morfológiailag az ugyancsak szájnyitásban résztvevő kettes típusú trigeminus motoneuronokkal megegyezők (6. D ábra), 25-30 μm nagyságú ovális perykarionokkal, és ventrolateralis, valamint dorsomedialis irányú dendrit arborizációval rendelkeznek (7. F ábra). Az axonok ventralisan erednek, majd laterális irányban haladva a tractus spinalis nervi trigeminit (tspV) ventralisan megkerülve a motoros rostok a rhombencephalon laterális részében érik el a szenzoros rostokat.

A n. facialis motoneuronjai a m. subhyoideust és a m. depressor mandibulae-t idegzik be (Gaupp 1904; Matesz és Székely 1978; Matesz és mtsai. 1994).



8. ábra: Számítógépes rekonstrukció a motoros trigeminus és facialis mag neuronjainak a beidegzett izmok szerinti magon belüli térbeli elhelyezkedéséről. LEV: m. levator bulbi, MAS: m. masseter, PTE: m. pterygoideus, TEM: m. temporalis, MAX: m. submaxillaris, DEP: m. depressor mandibulae (Matesz és mtsai után, módosítva 1994).

2.4 Az állkapocsmozgások háttérét képező szenzoros rendszer agytörzsi szerveződése békában

2.4.1 A trigeminus afferensek szerepe és agytörzsi projekciója

A nervus trigeminus szenzoros gyökerének általános szomatoszenzoros rostjai a fejbőr és a szájüregi nyálkahártya mechano-, termo-, és

kemoreceptoraiból származó szenzoros információkat szállítják az agytörzsbe. Ezen kívül a szájjáró izmok izomorsóiból és a Golgi-féle ínorsókból származó ingerület is a nervus trigeminus útján továbbítódik a központi idegrendszer felé. Az agytörzsbe érve az általános szomatoszenzoros rostok a tractus spinalis nervi trigeminiben (tspV) haladnak tovább, a leszálló axonok a második cervicalis gerincvelői szelvényig húzódnak, ahol egy részük átkereszteződik. A szájjáró izmok proprioceptív rostjai a nucleus mesencephalicus nervi trigemini (nVmes) axonjait képezik. Kétéltűekben a n. trigeminus szenzoros rostjai az agytörzs három különböző területén végződnek: (1) A tspV vékony axonjainak terminációs területe a nucleus spinalis nervi trigemini (nspV) (Matesz és Székely 1978). Az nspV a VII., IX, és X. agyideg szomatoszenzoros magja is, ezért ezen agyidegek terminálisait is fogadja. (2) Vastag rostjainak végződési területe a nspV-től medialisan elhelyezkedő nem folytonos, heterogén sejtoszlop területén található. A tspV rostralis részén ez utóbbi a rostok a nucleus motorius nervi trigemini (Vmot) és a nspV között elhelyezkedő közepes méretű idegsejteken és a Vmot-ben végződnek. Ez az agytörzsi terület a nucleus sensorius principalis nervi trigemini (npV), a n. trigeminus fő érző magja (Matesz és Székely 1978). A npV-től caudalisan a vastag rostok axon terminálisai sűrű hálót képeznek a nucleus motorius nervi trigemini, facialis, a nucleus ambiguus és a nucleus motorius nervi hypoglossi területén. (3) A nucleus mesencephalicus nervi trigemini (nVmes) nagy pseudounipoláris sejtjei elsődleges érző neuronok, a tectum opticum második és negyedik rétegében találhatóak. A perifériáról érkező felszálló axonok a középagy tegmentumáig jutnak el, míg a leszálló rostok a Probst köteget alkotva a tspV-től ventromedialisan haladva a második gerincvelői szegmentumig haladnak, miközben kolletarálisokat adnak le a n. trigeminus, n. facialis és a nucleus ambiguus motoneuronjainak szintjében. A kollaterálisok végződési területei egybeesnek a tspV terminálisainak agytörzsi elhelyezkedésével **(9. ábra)** (Fuller és Ebbesson 1973; Matesz és Székely 1978). A végzódések számos közvetlen kapcsolatot hoznak létre a trigeminus motoneuronok perykarionjain. A n. trigeminus érző dúca a ganglion trigeminale, mely az emlősök Gasser dúcának felel meg. Pseudounipolaris sejtjeinek centrális nyúlványai a npV-ben és a nspV-ben végződnek (Matesz és Székely 1978).

Az elejtett zsákmány az állat szájüregébe kerülve a n. trigeminus receptorainak ingerlésével aktiválja a nyelv- és nyakizmok, valamint az állkapocs mozgásaiért felelős izmok kontrakciójában szerepet játszó motoneuronokat (Joseph és mtsai. 1968; Rubison 1970; Matesz és Székely 1978; Lowe és Russel 1982). A szájnyításban a nyelvet beidegző n. hypoglossusnak is kiemelkedő szerepet tulajdonítanak, mivel átvágását követően az állat szájnyitási képessége elvész (Weerasuriya 1989, 1991; Nishikawa és Gans 1992; Anderson és Nishikawa 1993; Corbacho és mtsai. 2005). Mivel a n. hypoglossus primer afferens rostjai viszonylag gyéren hálózják be a facialis motoneuronok területét, ezért közöttük főként poliszinaptikus pályákat feltételeznek (Struesse és mtsai. 1983). A n. trigeminus szenzoros rostjai azonban gazdagon oszlanak el az agytörzs facialis motoneuronok által elfoglalt részében (Matesz és Székely 1978), amely felveti a monoszinaptikus kapcsolatok lehetőségét.

2.4.2 A facialis afferensek szerepe és agytörzsi projekciója

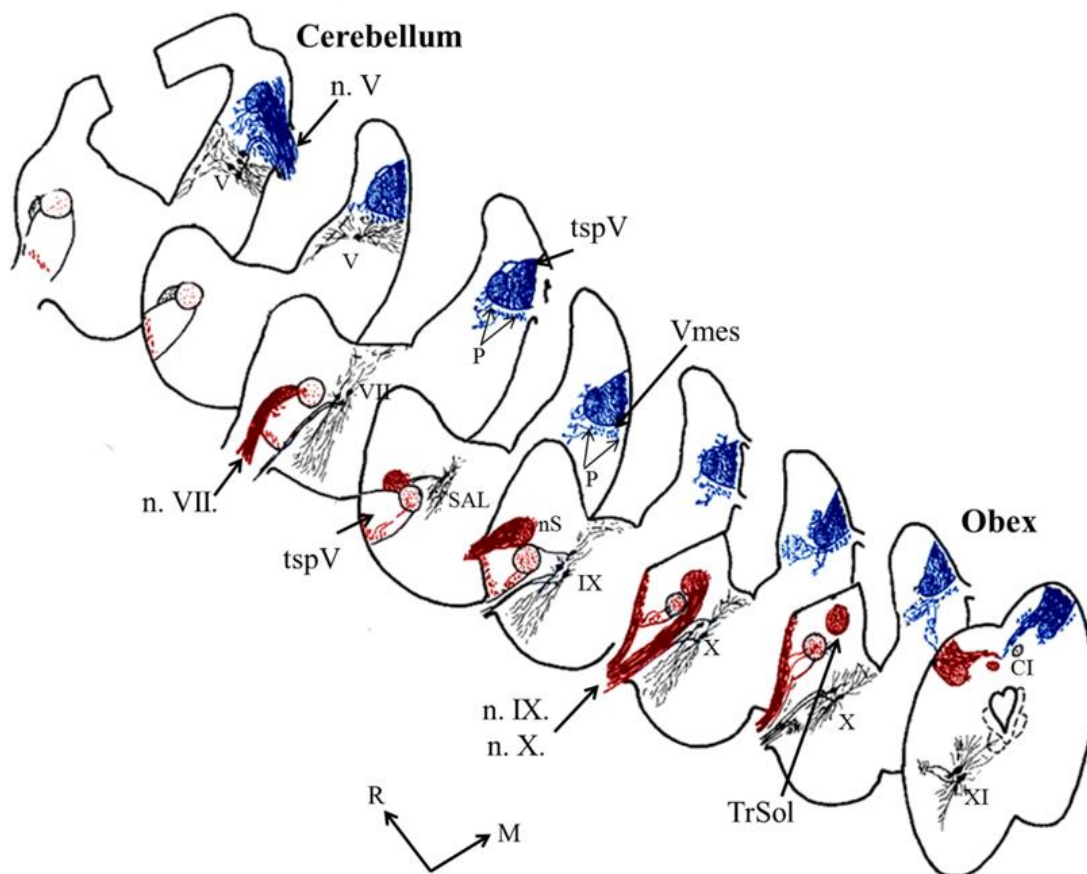
Kecskebékában a n. facialis motoros ága idegzi be a musculus depressor mandibulae és a musculus subhyoideus. Érző ágai a torok, szájüreg, szájpad és az orrüreg nyálkahártyájának receptoraiból szállítanak általános érző információkat. Az emlősök chorda tympani idegével homológ a n. facialis hyomandibularis érző ága, mely főként a savas és sós kémiai anyagok által kiváltott stimulusokat közvetíti a központi idegrendszerbe a szájpadlás területéről (Gaupp 1904; Barnard 1936; Opdam és mtsai. 1976). A taktilis és a kémiai receptorokból származó stimulusok, a hallószervből származó ingerületekhez hasonlóan (Jaeger 1976; Brzoska és Schneider 1978; Shinn és Dole 1978; Comer és Grobstein 1981; Dole és mtsai. 1981), kiemelkedő szerepet töltenek be a zsákmány pontos célorientált elejtésében.

Az agytörzsi belépést követően a facialis afferensek két részre oszlanak (Matesz és Székely 1978). Egyik részük a tractus solitariusban halad, felszálló kötegük eléri a nucleus motorius nervi trigemini szintjét, míg a leszálló köteg az obex szintjétől kissé caudalisan ér véget. A rostok nagyobb része a nucleus tractus solitarii-ban, kisebbik részük a commissura infimában végződik **(9. ábra)**. Az afferensek másik része, melyek kizárólag vastag rostok, caudalis irányban haladva csatlakoznak a tspV-hez és a spino-medullaris határon

átkereszteződnek az ellenoldalra. Kollaterálisainak végződési területe egybeesik a n. trigeminus és a n. glossopharyngeus-vagus afferens rostjainak terminálisaival.

A tractus solitariust nemcsak a n. facialis afferens rostjai alkotják, hanem a n. glossopharyngeus és a n. vagus szenzoros rostjai is hozzájárulnak kialakításához. A glossopharyngeus afferensek a tspV-től dorsalisán közelítik meg a tractus solitariust, a vagus afferens rostjai a tspV-t ventralisan megkerülve csatlakoznak a tractus solitarius ventralis kötegeihez. Mindhárom ideg rostjainak végződései megtalálhatóak a nucleus solitarius teljes rostrocaudalis kiterjedésében, de a facialis végzések inkább a mag dorsomedialis területén, míg a glossopharyngeus-vagus afferensek végződései főként a solitarius mag ventrolateralis részén helyezkednek el (Matesz és Székely, 1978).

A trigeminus és facialis afferens rostok végződéseinek átfedését a patkány agytörzsének vizsgálata során már korábban leírták (Torvik 1956). Kecskébékában is jellemző a két érző rendszeren belül az afferensek átfedése, számos facialis kollaterális végződik az nspV és a vastag trigeminus rostok terminációs területén, valamint a medullában jelentős mennyiségű trigeminus rost éri el a nucleus solitariust (Matesz és Székely, 1978), de arról, hogy ezek az afferensek honnan származnak nincsenek pontos információink.

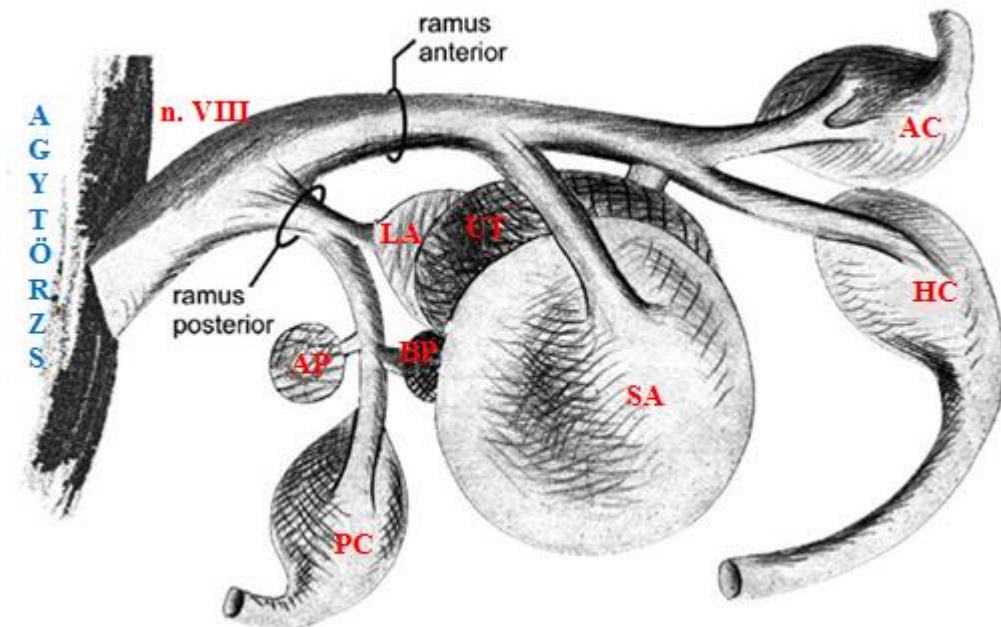


9. ábra: A nervus trigeminus, a nervus facialis és a nervus glossopharyngeus-vagus szenzoros axonjainak rostro-caudalis lefutása a béka agytörzsében. A V. ideg az ábra jobb oldalán kékkel látható, míg a VII., IX.-X. idegeket az ábra bal oldalán pirossal tüntettük fel. A római számok az adott agyideg motoneuronjait jelölik. CI: commissura infima; nS: nucleus tractus solitarii; P: Probst köteg; SAL: nucleus salivatorius; TrSol: tractus solitarius; tspV: tractus spinalis nervi trigemini; Vmes: tractus mesencephalicus nervi trigemini; M: medialis; R: rostralis (Matesz és Székely után módosítva, 1978).

2.4.3 A vestibularis rendszer szerveződése békában

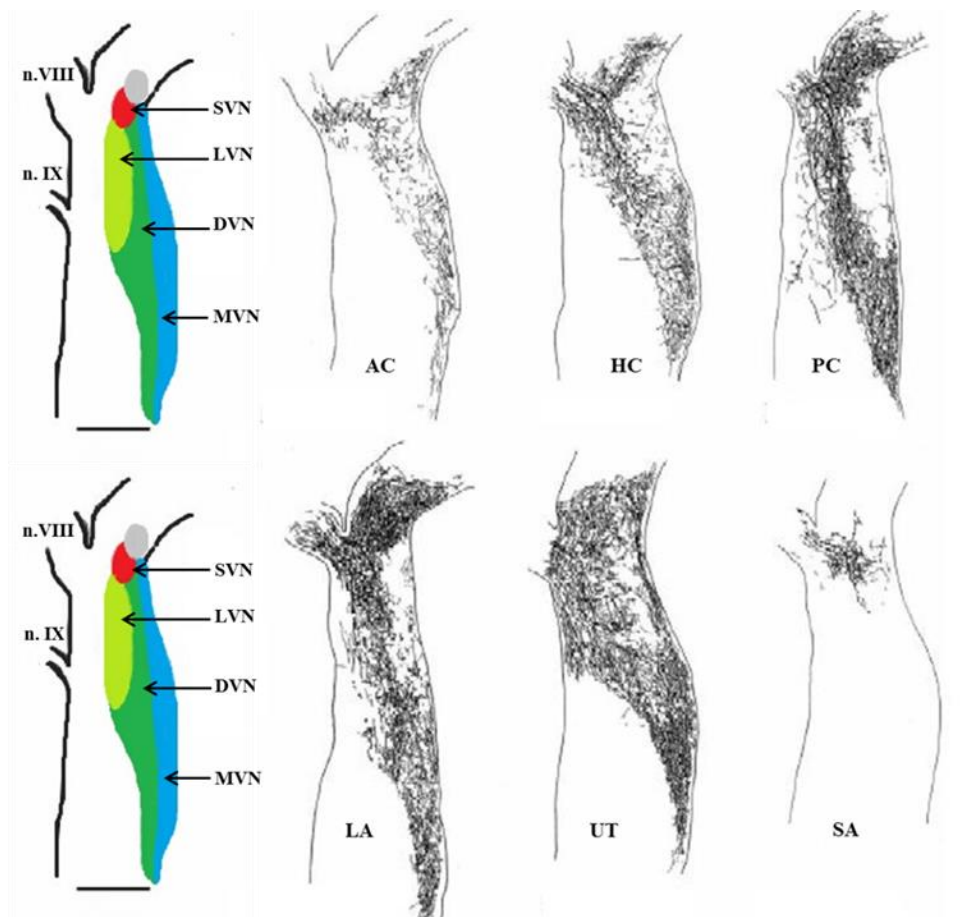
A vestibularis rendszer tájékoztatja a központi idegrendszert a test és a fej térbeli helyzetéről, ezáltal a mozgások során fenntartja a test egyensúlyi helyzetét. Központi összeköttetései révén részt vesz az izomtónus szabályozásában, nélkülözhetetlen a mozgások során a tekintet irányításában (Straka és Dieringer 2004; Dieringer 1995; Olabi és mtsai. 2009; Dutia 2010).

A vestibularis receptorok mechanoreceptorok. A szöggyorsulást érzékelő, a félkörös ívjáratokban elhelyezkedő receptorokat ampullaris receptornak nevezzük, míg a lineáris gyorsulást érzékelő receptorok, az otolith vagy macularis szervek, melyek utriculusban, sacculusban és az alacsonyabb rendű élőlényekben (halak, kételtűek) a lagenában helyezkednek el (10. ábra).



10. ábra: Az egyensúlyozószerv felépítése és a receptorkészülékek beidegzése békában. n. VIII ramus anterior: AC: canalis semicircularis verticalis anterior; HC: canalis semicircularis horizontalis; UT: utriculus; SA: sacculus; n. VIII ramus posterior: PC: canalis semicircularis verticalis posterior; BP: papilla basilaris; AP: papilla amphibialis; LA: lagena; n. VIII: nervus vestibulocochlearis (Goto és mtsai. után módosítva, 2002).

Békában a n. vestibulocochlearis pars vestibularisának ganglionsejtei a ganglion vestibulocochleare-ban a cochlearis ganglionsejtekkel együtt találhatóak meg.



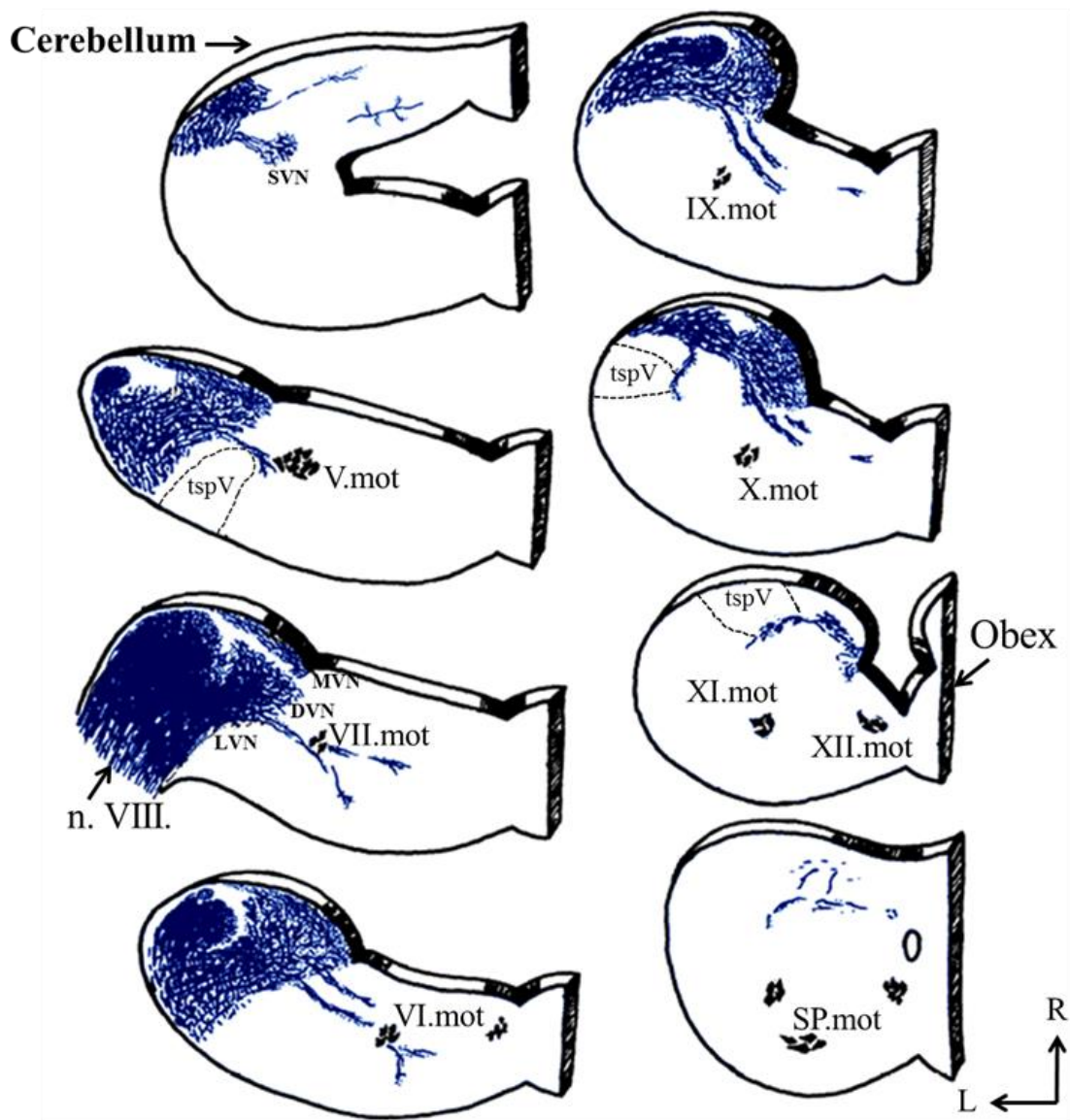
11. ábra: Camera lucida rekonstrukció az egyensúlyozószerv különböző receptorkészülékeiből származó primer afferensek agytörzsi végződési területei a béka vestibularis magjaiban. AC: canalis semicircularis verticalis anterior; HC: canalis semicircularis horizontalis; PC: canalis semicircularis verticalis posterior; LA: lagena UT: utricle; SA: sacculus. A bal oldali ábrák az agytörzsi vestibularis magok topográfiáját szemléltetik. n. VIII: nervus vestibulococlearis; n. IX: nervus glossopharyngeus; SVN: nucleus vestibularis superior; MVN: nucleus vestibularis medialis; LVN: nucleus vestibularis lateralis; DVN: nucleus vestibularis descendens. Kalibrációs vonal: 0,5mm (Birinyi és mtsai. után módosítva, 2001).

A dúc bipoláris neuronjainak perifériás nyúlványai az egyensúlyérző receptorokban, centrális nyúlványaik pedig az agytörzs dorsolateralis területén elhelyezkedő négy vestibularis magban (nucleus vestibularis superior -SVN, medialis -MVN, lateralis -LVN, descendens -DVN) végződnek (**11. ábra**) (Matesz 1979; Voogd 1998; Birinyi és mtsai. 2001). Az egyedi receptorok

végződési területei az egyes magokon belül jelentős átfedést mutatnak (Matesz 1979; Siegborg és mtsai. 1991; Birinyi és mtsai 2001).

A primer afferens vestibularis rostok eljutnak a kisagyba is, ahol moha- és kúszórostok formájában végződnek (Hillmann 1969; Precht és Llinas 1969; Matesz 1979). Ezek mellett az agytörzsi formatio reticularisban, az érző és a motoros agyidegi magokban, valamint a hátsó kötegi magokban is megtalálhatóak a rostok végződései, caudalisan pedig a cervicalis gerincvelő szürkeállományának felületes részéig követhetőek **(12. ábra)** (Matesz 1979). Fiziológiai és morfológiai adatok igazolták, hogy a primer afferens vestibularis rostok egy része nemcsak kémiai szinapszist létesít a végződési területeken, hanem sokkal gyorsabb információ átvitelt biztosító gap junction kapcsolatokat is (Magherini és mtsai. 1974; Precht és mtsai. 1974; Babalian és Shapovalov 1984; Matesz 1988; Straka és Dieringer 1996; Straka és mtsai. 1997; Fanardijian és mtsai. 1999; Birinyi és mtsai. 2001; Bácskai és Matesz 2002).

A vestibularis magokban, egy részleteiben ma sem ismert komplex információ feldolgozás után a magban lévő másodlagos vestibularis neuronok a központi idegrendszer számos helyére projiciálnak (Fuller 1974; Montgomery 1988; Matesz és mtsai. 2002). A felszálló rostok a fasciculus longitudinalis medialis rostralis részében haladva eléri a thalamus magjait, valamint a n. oculomotorius és a n. trochlearis motoneuronjait. A leszálló rostok részben a fasciculus longitudinalis medialisban, részben a tractus vestibulospinalisban futnak a gerincvelőbe, ahol azonos és ellenoldalon végződnek döntően a mellő szarv területén (Corvajá és Grofová, 1972; Fanardijian és mtsai. 1999; Matesz és mtsai. 2002). A kisagyi projekció döntően a vestibulocerebellum területén található (Matesz 1979; Rácz és mtsai. 2006), emellett az egyedi vestibularis magok vetítenek a vestibularis magkomplex azonos és ellenoldali tagjai felé is (Matesz és mtsai. 2002; Malinvaud és mtsai. 2010).



12. ábra: A nervus vestibularis szenzoros rostkötegeinek rostro-caudalis lefutása a béka agytörzsében. A római számok az adott agyideg motoneuronjait jelölik. DVN: nucleus vestibularis descendens; LVN: nucleus vestibularis lateralis; MVN: nucleus vestibularis medialis; SVN: nucleus vestibularis superior; tspV: tractus spinalis nervi trigemini; SPmot: spinalis motoneuronok; L: lateralis; R: rostralis (Matesz után módosítva, 1979).

2.5 Az állkapocsmozgások hátterét képező motoros és szenzoros rendszer agytörzsi szerveződése emlősökben

Jóllehet az értekezés csak a béka állkapocs mozgásaival foglalkozik, röviden áttekintjük a secunder temporomandibularis ízület neuronális kontrollját emlősökben. A filogenezis során a primer állkapocsízületből folyamatos átalakulás során jön létre az emlősökre jellemző articulatio temporomandibularis, amely nemcsak a száj nyitását és zárását teszi lehetővé, hanem a sokkal komplexebb rágómozgást is. A korábbi elméletek szerint a rágóizmok abból a telepből fejlődnek ki, amelyből a primer állkapocsízület záró izmai kialakulnak (Huber 1930). Későbbi vizsgálatok azonban azt mutatták, hogy a primer állkapocsízület olyan strukturális átalakuláson megy keresztül, hogy az egyedi izmok homológizálása nem lehetséges. Ezzel szemben a primer állkapocsízületet nyitó izomzat megfeleltethető az emlősökben található nyelvcsont feletti izmok egy részével (Starck 1982). Az állkapocsízülethez és az izmokhoz hasonlóan jelentős átalakulások történtek a motoros agyidegi magvakban is. A szájnyitó izmok motoneuronjainak alakja megegyezik a békában találhatókkal, a sejttestek a járulékos trigeminus és facialis magban helyezkednek el. A záró működésű és egyben a rágó mozgásokat kivitelező izmokat a trigeminus fő motoros magja látja el (Székely és Matesz 1982, 1989, 1993). A szenzoros kontrollt illetően a mesencephalicus trigeminus mag leszálló szára, a Probst köteg, jelentős számú kollateralist ad a trigeminus fő motoros magjához, míg a járulékos magok területén sokkal kevesebb rost végződik. A békáéhoz hasonló kettős jelölések nem történtek, de a fő magban kobalt jelöléses vizsgálatokkal látott szoros összefekvések monoszinaptikus kapcsolatokra utalnak (Matesz 1981), amit fiziológiai vizsgálatok is megerősítettek (Westberg és mtsai. 2000). A Gasser dúc eredetű rostok csak a principalis és a spinalis trigeminus magban végződnek, nem projiciálnak sem a fő motoros trigeminus magba, sem a járulékos magokba (Matesz 1983),

feltehetően a formatio reticularison keresztül, poliszinaptikusan aktiválják azokat. Egy másik poliszinaptikus út a szájjáró motoneuronok aktiválására a supratrigeminalis mag, amely a mesencephalicus trigeminus mag leszálló szárából fogad kollataralisokat és a fő motoros trigeminus magba projiciál (Matesz 1981; Fujio és mtsai. 2016).

2.6 Célkitűzések

A nervus facialis és a nervus trigeminus motoros magjai alapvető szerepet töltenek be a béka zsákmányszerzése során az állcsontmozgások működésében, mivel a száj nyitását és a száj zárását végző izmok motoneuronjait tartalmazzák. A zsákmányállat elejtése során a szájnyitás és szájzárás folyamata nagyon finom, egymásra épülő, sztereotip elemeket tartalmazó, genetikailag meghatározott mozgás sorozat, melyre a különböző idegek felől érkező afferens információk is hatással lehetnek.

A különböző neuronális jelölési technikákkal nem emlős fajokon végzett vizsgálatok eredményei azt sugallják, hogy a vestibularis stimulus közvetlen hatással lehet a trigeminus rendszerre (Matesz és Székely 1978; Barbas-Henry és Lohman 1988; Koyama és mtsai. 1990; Muñoz és mtsai. 1994). A n. trigeminus motoneuronok dendritjeinek a vestibularis magkomplexbe való kiterjedése monoszinaptikus vestibulotrigeminalis kapcsolatra utal (Matesz és Székely 1978; Matesz 1979). Ugyanez mondató el a n. facialis motoneuronok és a n. trigeminus primer afferens rostjainak agytörzsi helyzetéről is a korábbi kobalt jelöléses vizsgálatok eredményei alapján. Mivel ezekben a kísérletekben az agyidegeket külön-külön jelölték állatonként, nem lehetett pontosan meghatározni, hogy valóban léteznek közvetlen kapcsolatok a két ideg agytörzsi neuronális elemei között.

In vivo kettős neuronális jelölési módszerek felhasználásával szeretnénk volna felderíteni a n. trigeminus és a n. vestibularis, valamint a trigeminus primer afferens rostok és a facialis motoneuronok agytörzsi kapcsolatrendszerét.

A vestibulo-trigeminalis pályarendszer vizsgálata:

- Kísérletünk első részében célunk a n. trigeminus és a n. vestibularis neuronális elemei közötti agytörzsön belüli átfedési területek meghatározása volt.
- Arra a kérdésre is választ kerestünk, hogy a vestibularis stimulus valóban közvetlen befolyást gyakorol-e a n. trigeminus által beidegzett, állcsontmozgásokban résztvevő izmok működésére, ezért a kapcsolatokat morfológiai tulajdonságait is megvizsgáltuk.

- A kapcsolatok agytörzsi pozíciójának pontos felderítéséhez meghatároztuk a szómától mért távolságukat és a különböző irányú dendritszegmenseken való eloszlásukat.
- Mivel a n. trigeminus motoros magjában különböző funkciójú motoneuronok találhatóak, arra is kíváncsiak voltunk, hogy a primer vestibularis afferensek kapcsolatai hogyan oszlanak meg a száj zárásában és a száj nyitásában résztvevő motoneuronok között.

A nervus trigeminus és a nervus facialis szenzori-motoros kapcsolatrendszerének vizsgálata:

- A n. trigeminus primer afferens végződése és n. facialis motoneuronjai közötti kapcsolatok vizsgálatával, hasonlóan az előző két kísérletünkhöz, a kapcsolatok agytörzsi helyzetének, morfológiai jellegének meghatározása, valamint szómától mért távolságuk vizsgálatával a dendrit arborizáción történő eloszlásuk tanulmányozása volt a célunk.

3 ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1 Kísérleti állatok

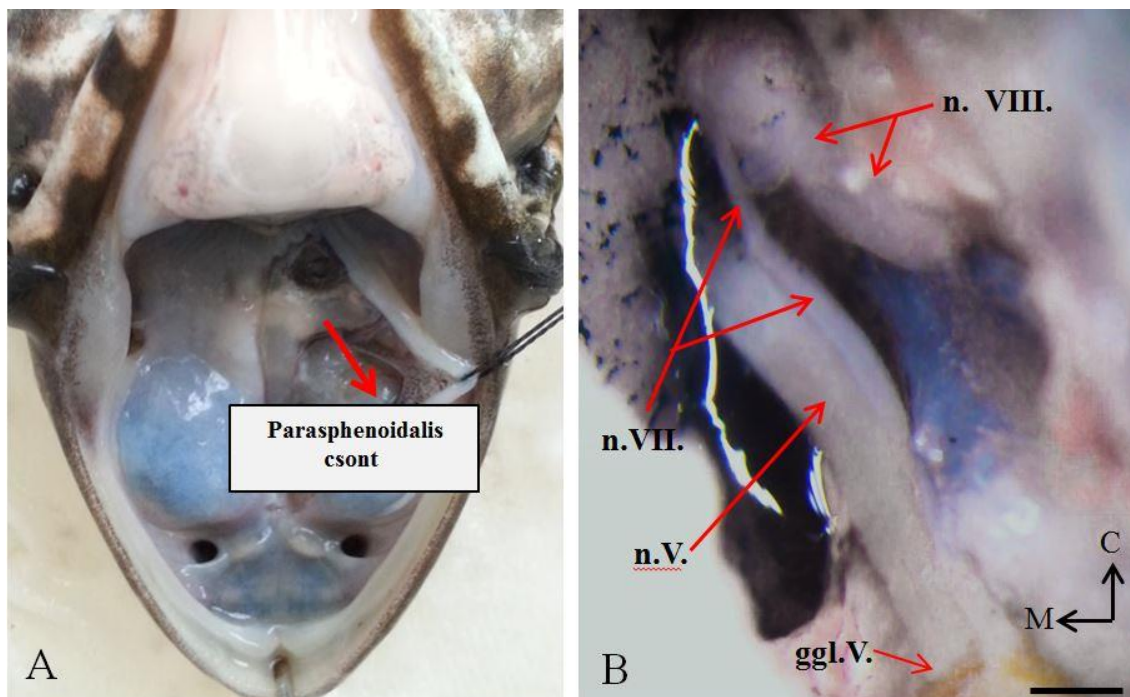
Vizsgálatainkat 22 db mindkét nemből származó felnőtt kecskebékán (*Rana esculenta*, az új taxonómiai nevezéktan szerint *Pelophylax esculentus*) végeztük. A kísérleteket a nemzetközi és EU szabályzat alapján kiviteleztuk (European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC)). Az állatkísérletek elvégzéséhez az adott vizsgálati időszakokban a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának 18/2006/DEMAB és 11/2011/DEMAB számú érvényes engedélyeivel rendelkezünk.

3.2 Az agyidegek jelölése

Az állatok altatásához 0.01% MS-222 (tricain methane-sulfonate, Sigma-Aldrich, St. Luis, MO, USA) használtunk, melyet transdermalisan alkalmaztunk, az állatok nedves hátbőrére történő csepegtetéssel. Az agyidegeket oropharyngealis irányból tártuk fel. A műtétet Olympus SZX7 operáló mikroszkóp alatt végeztük. A szájpádlás nyálkahártyáján a középvonalban hosszanti metszést ejtettünk. A mucosa oldalirányú felhajtását követően megkerestük a parasphenoidalis csontot, majd a csont egy részének eltávolításával felnyitottuk a koponyát. Ezzel a feltárással a n. trigeminus (V.) és a Gasser dúc, a n. facialis (VII.) és a parasphenoidalis csont alatt lateralis irányban elhaladó n. vestibulocochlearis (VIII.) is láthatóvá vált (**13. ábra**).

A **nervus trigeminus** és a **nervus vestibularis** kapcsolatrendszerének vizsgálata során az agyidegek feltárását és azonosítását követően ugyanazon állatban és azonos oldalon az V. agyideget a ganglion prooticum communactól (emlősökben Gasser dúc) proximalisan, a VIII. agyideget a capsula oticumba történő belépése előtt, a ganglion vestibulocochlearistól medialisán átvágtuk és egymástól szeparáltan a preparált csontperemre hajtottuk. A *kísérletek egyik részében* a trigeminus és a vestibularis rendszer közötti neuronális kapcsolatok feltérképezéséhez az V. agyideg átvágott proximalis rostjaira kristályos, zöld színű fluorescein dextran-amint (FDA, 3000 MW, Molecular Probes), míg a

VIII. ideg csomkjára szintén kristályos, piros színű tetramethylrhodamine dextran-amint (RDA, 3000 MW, Molecular Probes) helyeztünk (14. A ábra).

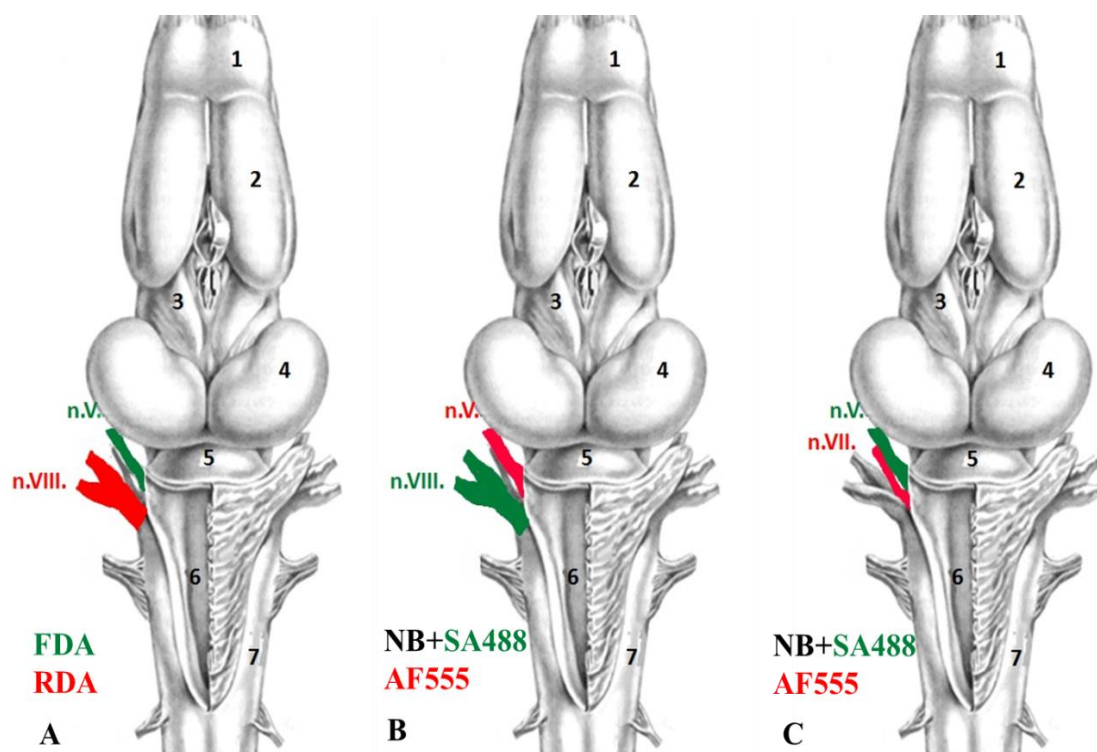


13. ábra: Az agyidegek jelölésének műtéti előkészítése (A). A feltárt agyidegek mikroszkópos képe (B). C: caudalis; M: medialis; ggl.V.: nervus trigeminus érző ganglionja (Gasser ganglion); n.V.: nervus trigeminus; n.VII.: nervus facialis; n.VIII.: nervus vestibulocochlearis. Kalibrációs vonal: 0,5 mm

A kísérletek másik részében, a **nervus vestibularis és a trigeminus motoneuronok** közötti axo-dendritikus és axo-szomatikus kapcsolatokat megoszlását vizsgáltuk külön-külön a szájnyitásban és a szájzárásban résztvevő motoneuronokon. Az előző bekezdésben ismertetett preparálást követően, a VIII. agyideg esetében neurobiotint (NB) (Vector Laboratories, Burlingame, CA), míg az V. agyideg esetében dextranamin-Alexa Fluor 555-t (10,000 MW, Molecular Probes Inc., Eugene., OR, USA) helyeztünk a proximális csomkokra (14. B ábra). Mindkét kísérletünkben a jelölést 6-6 állatban végeztük el.

A **nervus trigeminus érző rostjai és a nervus facialis motoneuronok** közötti feltételezett kapcsolatok vizsgálatához a két agyideget együttesen jelöltük meg azonos állatban és azonos oldalon, összesen 10 felnőtt kecskebékában. A ganglion prooticum communától medialisan történő átvágásukat követően a proximális csomokra az V. agyideg esetében neurobiotint

(NB) (Vector Laboratories, Burlingame, CA), míg a VII. agyideg esetében dextranamin-Alexa Fluor 555-t (10,000 MW, Molecular Probes Inc., Eugene., OR, USA) helyeztünk (14. C ábra).



14. ábra. A béka központi idegrendszere. A: A vestibulo-trigeminalis pályarendszer vizsgálatához használt jelölések. B: A nervus vestibularis és a trigeminus motoneuronok kapcsolatainak vizsgálatához használt jelölések. C: A nervus trigeminus és a facialis motoneuronok kapcsolatainak vizsgálatához használt jelölések. 1. bulbus olfactorius, 2. telencephalon, 3. diencephalon, 4. tectum mesencephali, 5. cerebellum, 6. ventriculus quartus, 7. rhombencephalon, FDA: fluorescein dextran-amin, RDA: tetramethylrhodamine dextran-amin, NB: neurobiotin, SA488: streptavidin-Alexa Fluor 488, AF555: dextranamin-Alexa Fluor 555 (ten Donkelaar után módosítva, 1997).

A különböző jelölőanyagok keveredésének elkerülése céljából, valamint annak érdekében, hogy a jelölőanyagok ne kerüljenek más idegekre aspecifikus jelölődést okozva, a vizsgálni kívánt idegeket a kipeparálás és a jelölés után szilikonolaj és -zsír keverékéből álló eleggyel lefedtük. A beavatkozás végén, a szájnyálkahártyán ejtett metszés széléit szövetragasztóval összeillesztettük. Ezt követően az állatokat nedves közegben, 10 °C hőmérsékleten tartottuk. Az 5-7 napos túlélési idő alatt a jelölőanyagok az axonális transzport révén anterográd

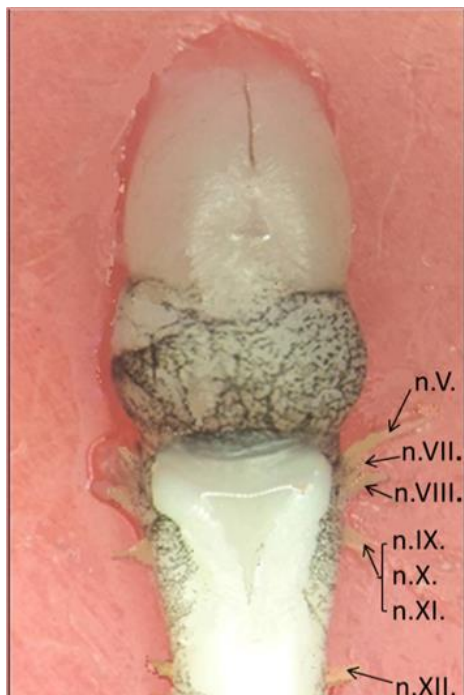
és retrográd úton eljutottak az agytörzsbe, így láthatóvá váltak a vizsgálataink tárgyát képező motoros és szenzoros agytörzsi neuronális elemek.

3.3 Az agytörzs szövettani feldolgozása

A túlélési idő elteltével a békákat az előzőekben leírt módon újraaltattuk. A mellüreg feltárását és a pericardium átvágását követően 0.65%-os fiziológiás sóoldattal 2-3 percig perfundáltuk az aortába helyezett kanül segítségével. Az állat vérkörének átmosása után a fixálást 0,1M foszfát pufferben (pH 7.4) oldott 4%-os paraformaldehiddel (PFA) végeztük szintén intracardialis perfúzióval.

Ezt követően a koponyát feltártuk, eltávolítottuk az agyat **(15. ábra)**, egy éjszakán át 4%-os PFA oldatban immerziósan utófixáltuk 4 °C-on, majd az agytörzsi területeket kivágtuk **(15. ábra)** és az agyburkok eltávolítását követően 20%-os szacharóz oldatba helyeztük leülepedésig. Mintáink tárolása mindvégig sötétített üvegben történt. Az agytörzsből 50 mikrométer vastagságú keresztmetszeteket készítettünk. A metszés az V.-VIII. agyidegek FDA-RDA jelölését követően Vibratommal történt, az V.-VIII. és az V.-VII. agyidegek NB-dextranamin-Alexa Fluor 555 jelölt mintáinknál már fagyasztó mikrotómot használtunk. A metszeteket 0.1% foszfát puffer oldatba (PB) gyűjtöttük össze, ügyelve arra, hogy a metszetek sorrendjét megtartsuk. Az FDA és az RDA, valamint a dextranamin-Alexa Fluor 555 jelölőanyagok vizualizálására nem volt szükség egyéb hisztokémiai vagy immunhisztokémiai eljárásra fluoreszcens tulajdonságaik miatt. A neurobiotin vizualizálására a mintáinkat szobahőmérsékleten 2 órán keresztül zöld fluoreszcens streptavidin-Alexa Fluor 488-cal (1:1000, Molecular Probes, Invitrogen) kezeltük, majd háromszor átmostuk PBS-ben. A neurobiotin jelölés vizualizálásának molekuláris hátterét az avidin-biotin komplex képződés adja, melynek során a zöld színű fluoreszcens festékek konjugált streptavidin, mint glikozilált, pozitív töltéssel rendelkező fehérje, képes megkötni a D-biotint. Az avidin-biotin komplex képződést követően a streptavidinhez kapcsolt fluoreszcens festékek köszönhetően a neurobiotinnal jelölődött idegi elemek fluoreszcens és/vagy konfokális mikroszkóp segítségével láthatóvá válnak. A metszeteinket ezt követően tárgylemezre helyeztük, Vectashield fluoreszcens (Vector Laboratories,

Burlingame, CA, USA) fedőanyaggal és fedőlemezzel lefedtük, további feldolgozásukig -20 °C-on tároltuk fagyasztószekrényben.



15. ábra: A perfúziót követően eltávolított agy és az agyidegek.

A római számok az adott agyidegeket jelölik.

3.4 Az agytörzs mikroszkópos vizsgálata

Olympus DP 72 kamera segítségével mikroszkópos felvételeket készítettünk az agytörzs különböző rostro-caudalis szintjein 10-szeres és 20-szoros objektívvel a jelölt neuronális elemek lokalizációjának bemutatására. Az így elkészített felvételek egymásra vetítésével meghatároztuk a vizsgált agyidegek szenzoros és motoros részeinek agytörzsi átfedési területeit. Jelölésünk minőségének ellenőrzéséhez metszeteinket a korábbi vizsgálatok sorozat mintáival hasonlítottuk össze, melyekben a n. trigeminus, a n. vestibularis és a n. facialis jelölése különböző állatban történt (Matesz és Székely1978; Matesz 1979; Birinyi és mtsai 2001).

A **vestibulo-trigeminalis pályarendszer** feltételezett kapcsolatainak azonosítása az RDA-FDA-val jelölt mintáink vizsgálatával történt. A metszetekről 40x olajimmerziós objektívvel (numerikus appertúra = 1,3) felszerelt Olympus FV1000 konfokális lézer pásztázó mikroszkóp segítségével felvételeket készítettünk. Az RDA-val és az FDA-val jelölt neuronális elemek kapcsolatainak feltérképezéséhez 1 µm vastag optikai szelet szériát

használtunk. Az optikai szeleteket egyenként vizsgáltuk át, és a teljes képsorozatot behatóan tanulmányoztuk. A kapcsolatokat akkor tekintettük szoros appozíciónak, összefekvésnek, ha a vizsgált neuronális elemek között ugyanabban a fókusz síkban nem volt látható távolság (Wouterlood és mtsai. 2002; Wouterlood és mtsai. 2003). A képek megörökítése után egyéb képfeldolgozás nem történt.

A nervus vestibulocochlearis és a trigeminus motoros magja közötti axo-dendritikus és axo-szomatikus kapcsolatok szájnnyításban és szájjárásban résztvevő trigeminus motoneuronokon való megoszlásának meghatározásához, kvantitatív elemzéséhez a második kísérletsorozatunkban dextranamin-Alexa Fluor 555-tel és neurobiotinnal jelölt állatok agytörzséből készült sorozatmetszeteinket használtuk. Mikroszkópos vizsgálatunk során csak annak a két állatnak az agytörzsi mintáit használtuk fel, melyekben az afferens kollaterálisok és a motoneuronok dendritfái is jól láthatóak voltak teljes rostro-caudalis kiterjedésükben. A közvetlen kapcsolatok megkeresése, számolása, a sejttesttől mért távolságuk meghatározása ANDOR DSD2 készülék (Andor TM, Belfast, Ireland) segítségével történt, 1589 optikai szelet átvizsgálásával. A készülék három részből áll: (1) egy fényforrásból, amelyben LED égőket használtunk a megfelelő fluorescens festékek gerjesztéséhez, (2) egy spinning disc-ből, amellyel a konfokális síkokat kijelöltük és a sorozatokat beszkeneltük, (3) egy ZYLA kamerából, amellyel a fluorescens jeleket az adott konfokális síkokban detektáltuk. Ezekből a felvételekből a program elkészítette a dolgozatban bemutatott képeket.

A trigeminus érző rostjai és a nervus facialis motoneuronok közötti feltételezett kapcsolatok vizsgálata során négy olyan műtött állat sorozatmetszeteit használtuk, melyek megfeleltek annak a követelményünknek, mely szerint a trigeminus afferens kollaterálisai és a facialis motoneuronok dendritfái is jól láthatóak legyenek teljes rostro-caudalis kiterjedésükben.

A kiválasztott négy állat agytörzsi metszeteiről 1 μ m vastag optikai szeletekből álló sorozatfelvételeket készítettünk a facialis motoros mag teljes hosszában, Olympus FV 1000 konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal 40-szeres olajimmerziós objektívvel (numerikus apertúra = 1,3). Ezeken a rétegfelvételeken (5050 optikai szelet átvizsgálásával) azonosítottuk a szoros összefekvéseket (Wouterlood és mtsai. 2002; Wouterlood és mtsai. 2003) és

végeztük el a manuális számolásukat, valamint megmértük a kapcsolatok motoneuron sejttesttől számított radiális távolságát is Olympus FluoView Software segítségével.

3.5 Az agytörzsi facialis, trigeminus, és vestibularis neuronális elemek átfedési területeinek térbeli rekonstrukciója neurolucida segítségével

A rekonstrukciókat Neurolucida 8.0 szoftver (MBF Bioscience, Inc., Williston, VT, USA) segítségével készítettük el. Az agytörzs kontúrjának megrajzolását követően először a facialis és a trigeminus motoneuronok sejttestjeinek agytörzsi helyzetét határoztuk meg, majd a trigeminus afferensek és a facialis motoneuronok dendrit arborizációjának kiterjedését rekonstruáltuk három dimenzióban. A rekonstrukció során a korábbi vizsgálataink sorozatmetszeteit használtuk fel, melyekben a két agyideg jelölése külön-külön történt kobalt-kloriddal (Matesz és Székely, 1978). Hasonlóképpen elkészítettük a trigeminus motoneuronok sejttestjeinek és dendritfáinak, valamint a vestibularis afferensek (axonok) térbeli helyzetének és kiterjedésének rekonstrukcióját is, a rendelkezésünkre álló korábbi kobalttal jelölt sorozatmetszetek segítségével (Matesz, 1979).

4 EREDMÉNYEK

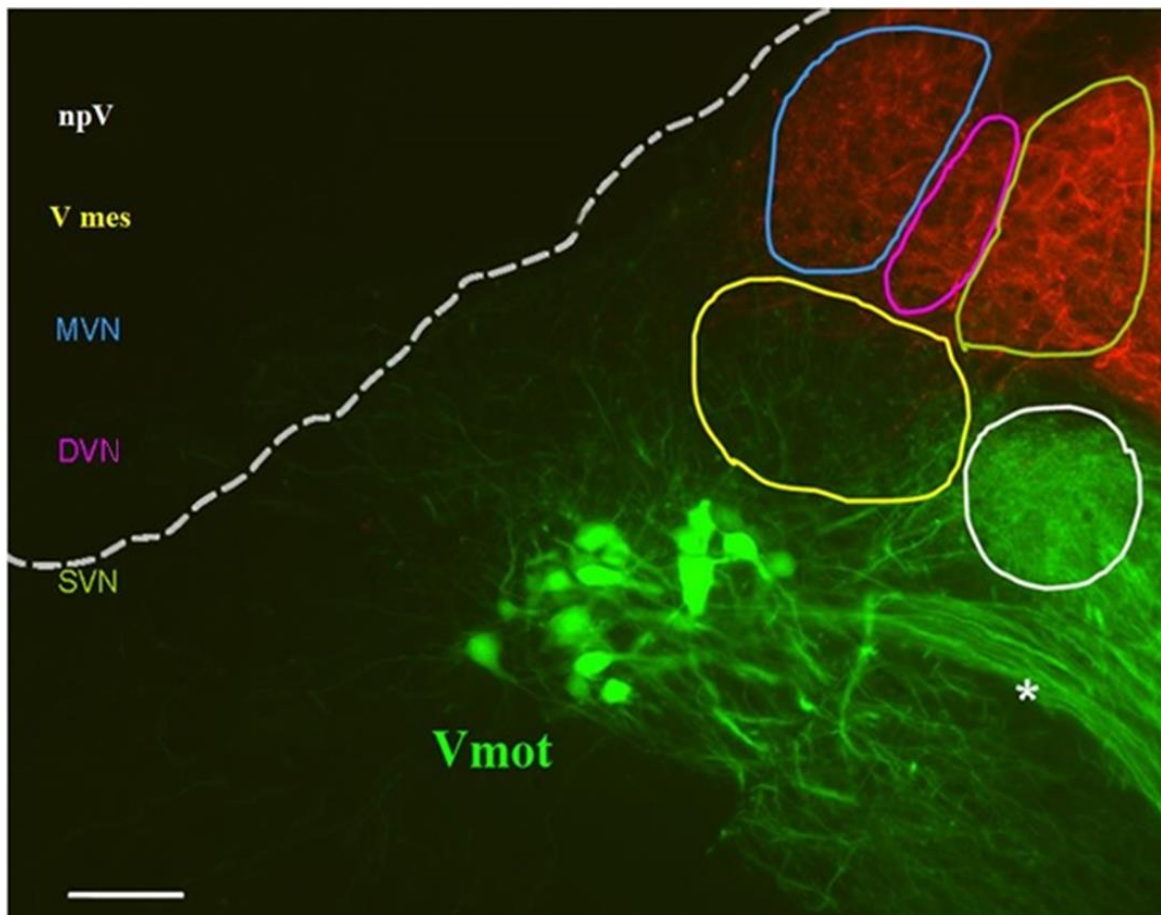
4.1 A nervus trigeminus és a nervus vestibularis kapcsolatrendszerének vizsgálata

4.1.1 A nervus trigeminus fluorescein dextran-aminnal (FDA) és a nervus vestibulocochlearis tetramethylrhodamine dextran-aminnal (RDA) történő fluoreszcens jelölése

A n. trigeminus FDA-val történt jelölése után láthatóvá váltak a szenzoros rostjai, valamint a motoneuronok sejttestjei és dendritfái. A n. vestibulocochlearis csomójára helyezett RDA felismerhetővé tette az ideg afferens rostjainak centrális végződéseit, valamint az efferens vestibularis neuronokat. Jelölésünk eredményeként a VIII. agyideg vestibularis és cochlearis osztatához (pars vestibularis, pars cochlearis) tartozó neuronális elemek is jelölődtek, de mivel a cochlearis rostok végződési területei jól elkülönülnek a vestibularis rostok végződési területeitől (Matesz, 1979) az egyensúlyozó rendszer és a n. trigeminus kapcsolatrendszerét a cochlearis rendszertől függetlenül tudtuk vizsgálni. Mintáinkat a korábbi kobalt jelöléses vizsgálatok eredményeivel hasonlítottuk össze a jelölés minőségének ellenőrzése céljából, és azokkal teljes megegyezést találtunk (Matesz és Székely 1978; Matesz, 1979; Birinyi és mtsai. 2001). A felvételek egymásra vetítésével átfedési területeket találtunk a jelölt trigeminus és vestibularis neuronok között az agytörzs különböző struktúráiban (**16. ábra**). Az egyik ilyen területet a n. trigeminus gyökerének agytörzsi belépési szintjében, a rhombencephalon rostralis részében detektáltuk. Az FDA-val jelölt, a felvételeken zöld színnel megjelenő, trigeminus motoneuronok dorsalis dendritfájának laterális elágazódásai kiterjednek a superior, medialis és descendens vestibularis magokig. A vestibularis rostok, ugyanebben a szintben, jól követhetően, medialis irányba haladnak és szétoszlanak a trigeminus motoneuronjainak dorsalis dendritfáin.

A n. trigeminus motoros magjában található motoneuronok az állkapocsmozgásokban betöltött szerepük szerint funkcionálisan két csoportot alkotnak. A szájjáró izmokat beidegző motoneuronok a mag rostralis területén,

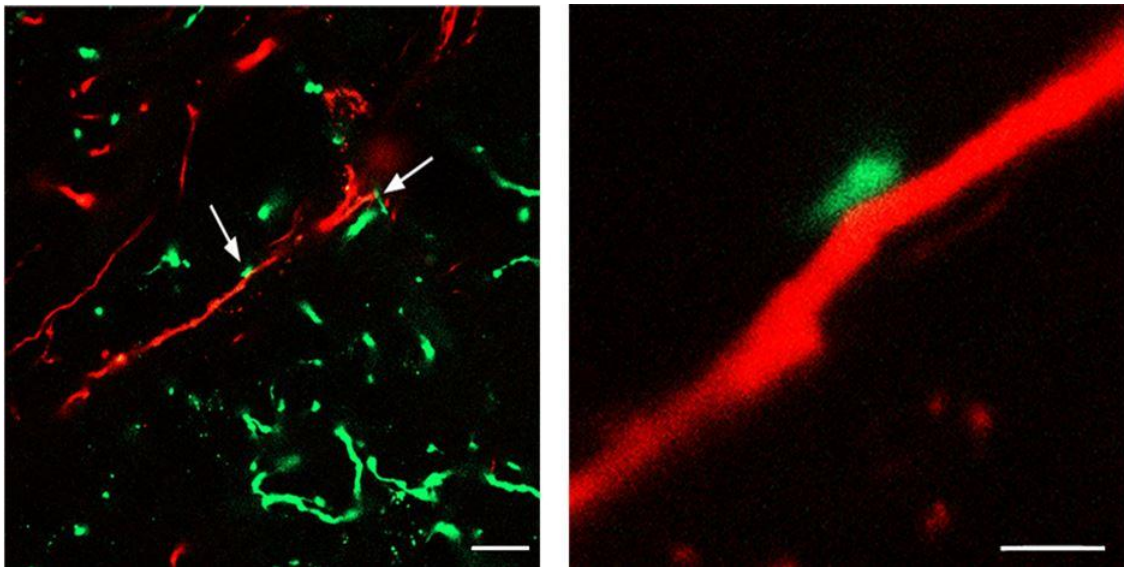
míg a szájnyitó izmok motoneuronjai tőlük caudalisan találhatóak. A primer vestibularis afferensek két eltérő motoneuron típuson való megoszlásának vizsgálatát az 4.1.3 és az 4.1.4 fejezetekben ismertetjük.



16. ábra: Az agytörzs keresztmetszeti képe a nervus trigeminus FDA-val (zöld) és a nervus vestibularis RDA-val (piros) jelölését követően, a motoros trigeminus mag rostralis részének szintjében. A különböző színekkel bekarikázott területek jelzik a nucleus mesencephalicus nervi trigemini (Vmes), és a nucleus principalis nervi trigemini leszálló rostjainak terminációs területeit, valamint a descendens (DVN), medialis (MVN), és superior (SVN) vestibularis magokat, Vmot: nervus trigeminus motoneuronjai, csillag: a trigeminus motoneuronok axonjai. Kalibrációs vonal: 50 μ m

A közvetlen szenzori-motoros kapcsolatok bizonyításához konfokális lézerpásztázó mikroszkóppal 1 μ m vastagságú optikai szeletekből álló felvételeket készítettünk, melyeken azt láttuk, hogy a vestibularis végződések és a motoneuronok dendritjei egymáshoz nagyon közel helyezkednek el,

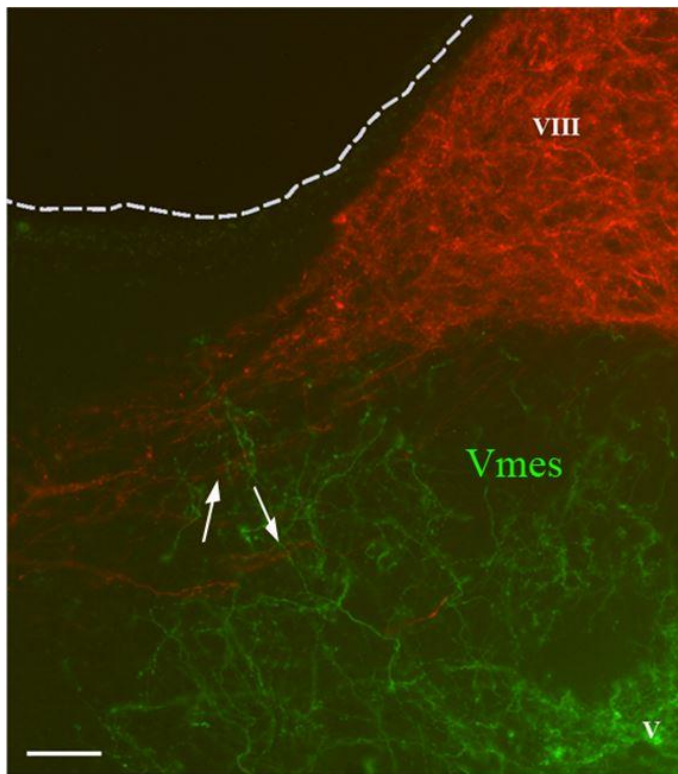
közbeeső glia vagy neuronális elemek nélküli szoros appozícióban vannak **(17. ábra)**.



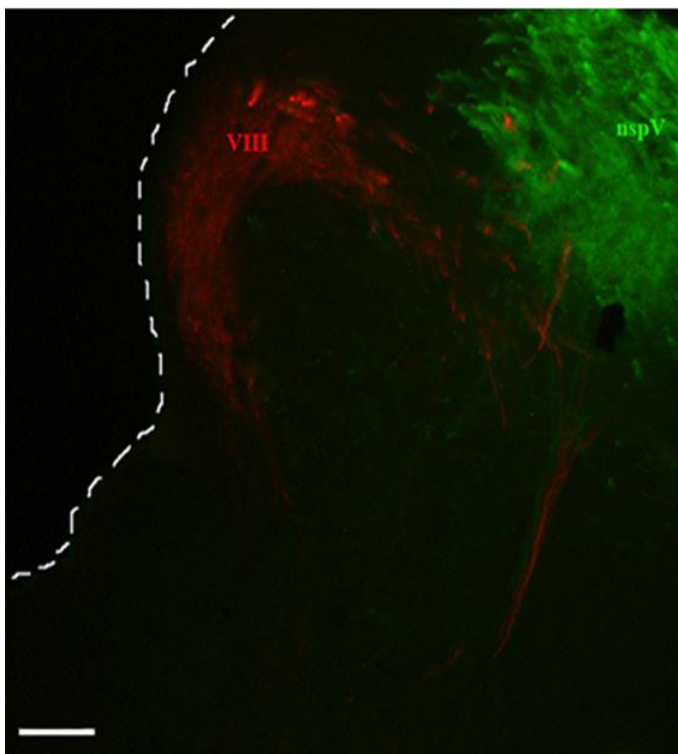
17. ábra: Konfokális felvételek a nervus trigeminus motoneuronjainak dendritjei és a nervus vestibularis axonjai közötti közvetlen, axodendritikus, kapcsolatakról (nyilak). Kalibrációs vonal: 1 μ m

A másik egybeesési régióban a trigeminus szenzoros neuronjainak végződése látható a vestibularis magkomplex teljes rostrocaudalis kiterjedésében. A nucleus ambiguus rostralis részének magasságában viszonylag nagyszámú vestibularis rost és végződés azonosítható a nucleus mesencephalicus nervi trigemini leszálló rostjainak végződési területein **(18. ábra)**, míg a nucleus hypoglossi szintjében a nucleus principalis nervi trigemini és nucleus spinalis nervi trigemini területén a vestibularis végződések és rostok ritkábban fordultak elő **(19. ábra)**.

A konfokális mikroszkópban a trigeminalis és vestibularis boutonok közötti térbeli távolság azt jelezte, hogy közöttük valamilyen neuronális vagy glia elem helyezkedik el, melyek szeparálják őket, így nem létesíthetnek egymással közvetlen kapcsolatot.



18. ábra: Az agytörzsről készült felvétel a **nucleus ambiguus rostralis részének szintjében**. A vestibularis afferensek (nyilak) a nucleus mesencephalicus nervi trigemini (Vmes) leszálló rostjai között. A szaggatott vonal az agytörzs határát jelöli. Kalibrációs vonal: 50µm



19. ábra: Az agytörzsről készült felvétel a **nucleus hypoglossi szintjében**. Vestibularis végződések (VIII) (nyilak) a nucleus spinalis nervi trigemini területén (nspV). A szaggatott vonal az agytörzs határát jelöli. Kalibrációs vonal: 50µm

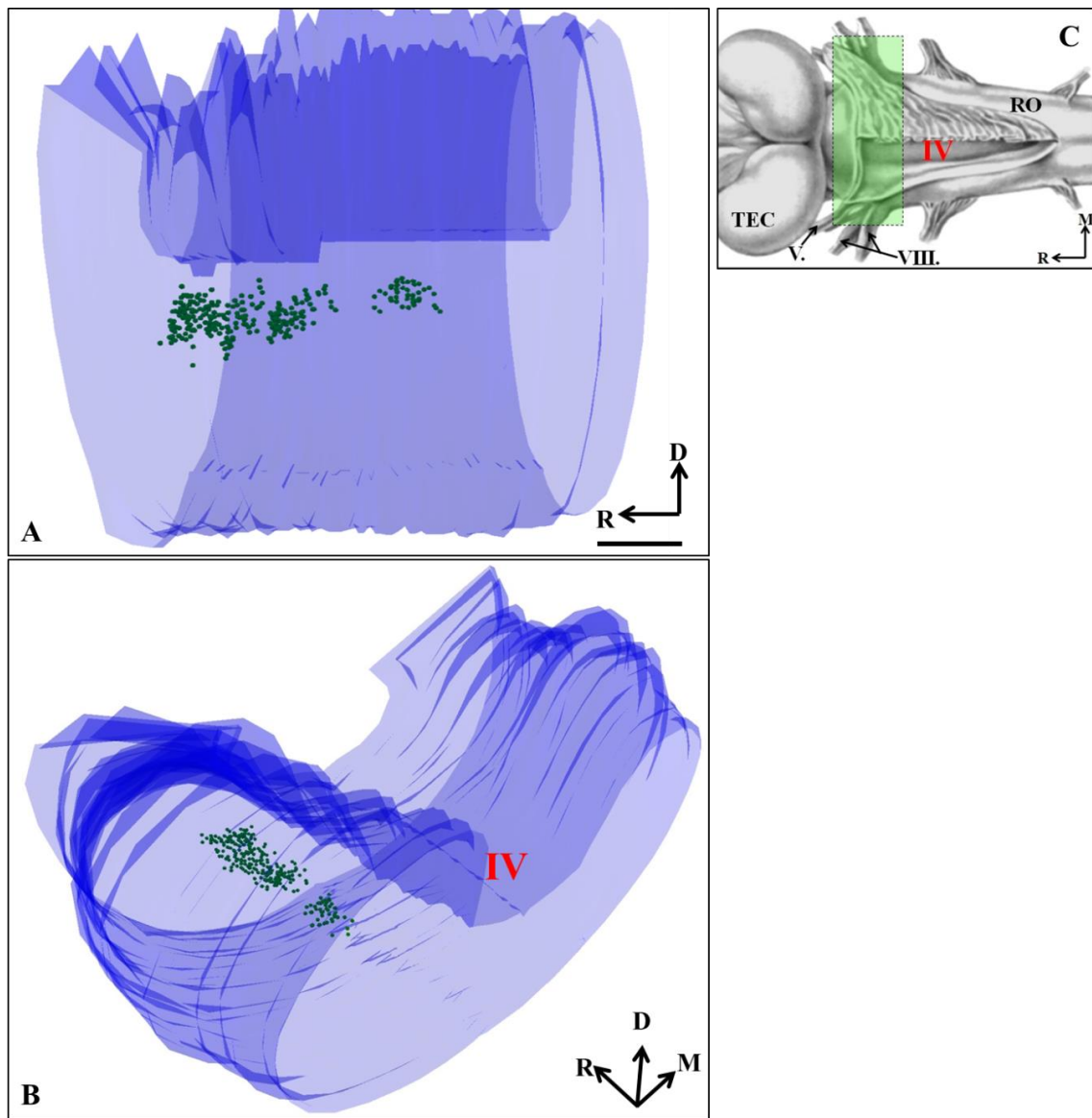
4.1.2 Az agytörzs neurolucida rekonstrukciója a trigeminus motoneuronok és a primer afferens vestibularis neuronok átfedési területeinek illusztrálására

Mint azt az 4.1.1 fejezetben ismertettük, a n. trigeminus FDA-val és a n. vestibulocochlearis RDA-val történő jelölésével közvetlen kapcsolatokat találtunk a motoros trigeminus mag motoneuronjai és a n. vestibularis axonjainak végződései között. Munkánk során behatóbban szeretnénk volna tanulmányozni, hogy a trigeminus motoneuronokkal átfedő vestibularis afferens területek a motoros mag teljes hosszára kiterjednek-e (Birinyi és mtsai. 2016).

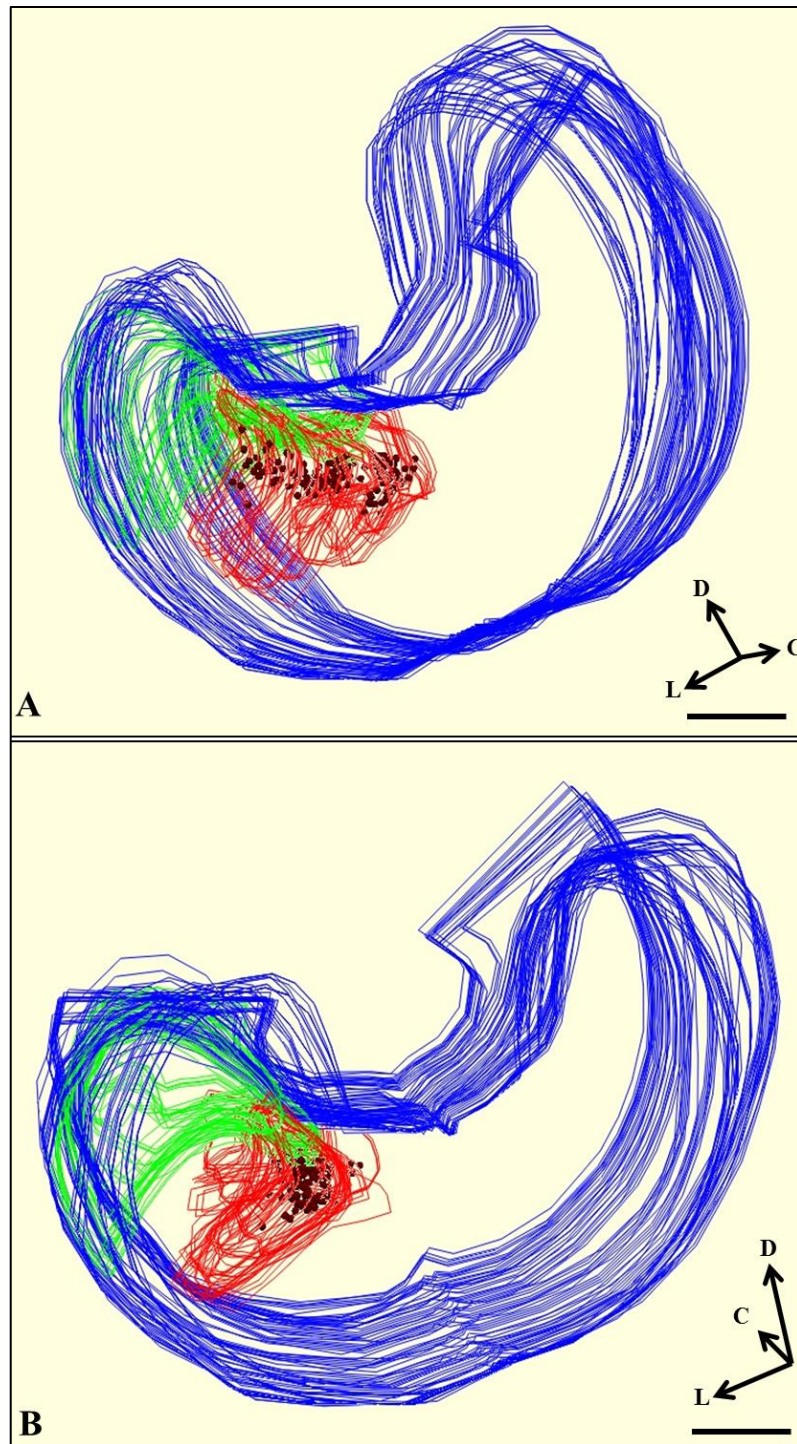
A korábbi kobalttal jelölt sorozatmetszetek felhasználásával háromdimenziós rekonstrukciót készítettünk. Neurolucida program segítségével megrajzoltuk az agytörzs kontúráját az egyes metszetekről, majd a motoneuronok pozícióját rögzítettük **(20. ábra)**. Ezt követően jelöltük a motoneuronok dendritfáinak kiterjedését, valamint a vestibularis afferensek agytörzsi helyzetét. Ezekből a sorozatrajzokból a program elkészítette az adott agytörzsi terület háromdimenziós ábráját **(21. ábra)**.

A rekonstrukción jól látható, hogy a vestibularis rostok átfedési területet hoznak létre a trigeminus motoros mag teljes rostrocaudalis kiterjedésében az agytörzs trigeminus motoneuronok szómái és dendritjei által elfoglalt részeiben. A trigeminus motoros magoszlopának motoneuronjai, az általuk beidegzett izmok szerint, magon belüli szegregációt mutatnak (Matesz és mtsai. 1994). A szájjárásában résztvevő neuron csoport a mag rostralis területét foglalja el, míg a szájnyitó izmok motoneuronjai tőlük caudalisan találhatóak.

További vizsgálataink során szeretnénk volna felderíteni, hogy a n. vestibularis afferens végződései létrehoznak-e közvetlen kapcsolatot mindkét, funkcionálisan eltérő motoneuron típussal, valamint arra is kíváncsiak voltunk, hogy ezek a kapcsolatok hogyan oszlanak meg közöttük.



20. ábra: Az agytörzs és a motoros trigeminus mag neurolucida rekonstrukciója (A, B). Az agytörzs rekonstruált részletének helyzetét a C ábrán szemléltetjük (zöld terület). Kék terület: az agytörzs kontúrja; zöld pontok: nervus trigeminus motoneuronok; IV: negyedik agykamra; RO: rhombencephalon; TEC: tectum mesencephali; D: dorsalis; M: medialis; R: rostralis. Kalibrációs vonal: 500 μm (C: ten Donkelaar után módosítva, 1997).



21. ábra: Az agytörzs háromdimenziós neurolucida rekonstrukciója (A, B). Fekete pontok: trigeminus motoneuronok; zöld: vestibularis afferensek által elfoglalt agytörzsi terület; piros: trigeminus motoneuronok dendritfa kiterjedése; kék: az agytörzs kontúrja; C: caudalis; D: dorsalis; L: lateralis. Kalibrációs vonal: 500µm

4.1.3 A nervus trigeminus dextranamin-Alexa Fluor 555-tel és a nervus vestibulocochlearis neurobiotinnal történő jelölése

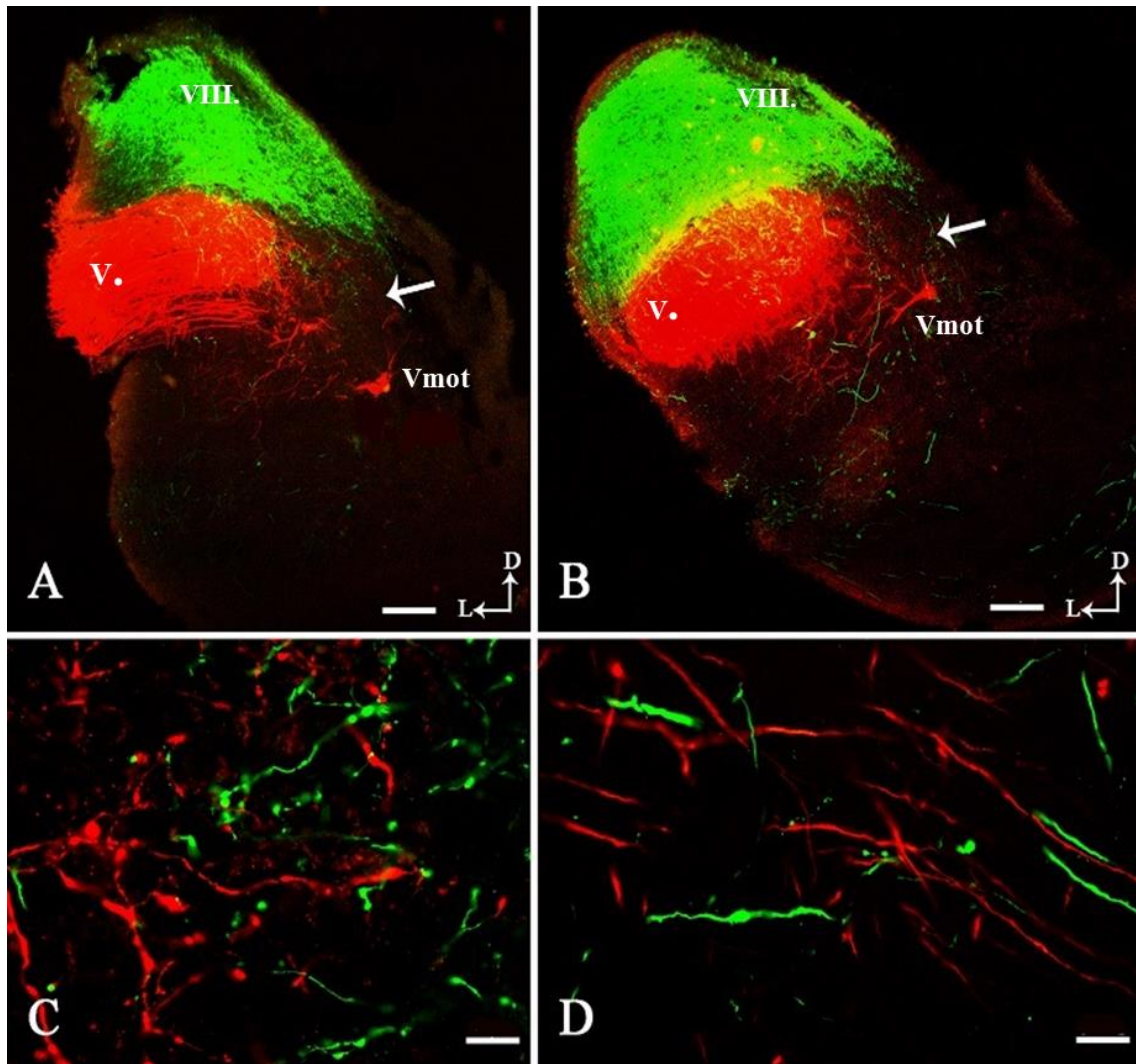
A jelölést követően metszeteinket DSD2-Andor Zyla kamera segítségével tanulmányoztuk. Mikroszkópos felvételeket készítettünk a n. trigeminus motoros magjának különböző szintjeiben. Ezeket a felvételeket összehasonlítottuk korábbi vizsgálataink eredményeivel, ahol a n. trigeminust fluoreszcens FDA-val és a n. vestibulocochlearis szintén fluoreszcens RDA-val jelöltünk ugyanazon állatban, egyazon oldalon, valamint az előző fejezetben már említett, kobalt-kloriddal jelölt metszetekkel (Matesz és Székely, 1978; Matesz, 1979), melyekben a két ideg jelölése külön állatban történt. Mind a vestibularis afferens rostok, mind a trigeminus motoneuronok sejttestjei és dendritfái a korábban leírt mintázatnak megfelelő eloszlást mutattak **(22. ábra)**.

A rhombencephalon szintjében az anterográd jelölődött vestibularis afferensek (zöld) és a retrográd úton jelölődött trigeminus motoneuron sejttestek, valamint dendritek (piros) kiterjedt átfedési területet képeztek a motoros mag rostralis és caudalis részénél is **(22. A, B ábra)**.

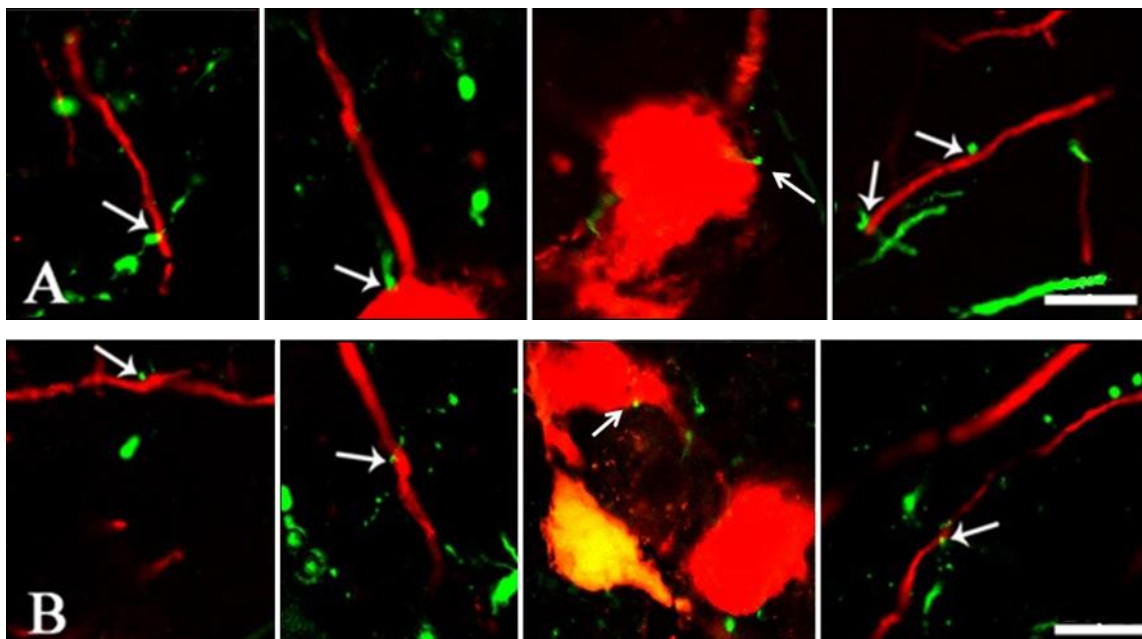
A vestibularis axon kollaterálisok a dorsalis dendrit ágak közé terjedtek és nagy számban közvetlen kapcsolatot hoztak létre a trigeminus motoneuronok dendrit szegmenseivel **(22. C, D)**.

4.1.4 A vestibularis terminálisok eloszlása a nervus trigeminus funkcionálisan különböző motoneuronjain

A továbbiak során annak a két állatnak a sorozatmetszeteit tanulmányoztuk, amelyekben a motoneuron sejttestek és a dendrit arborizációk teljes kiterjedésükben ábrázolódtak, és különbséget tudtunk tenni a szájjáró izmokat ellátó rostralisán és a szájnyitásban résztvevő caudalisán elhelyezkedő motoneuronok között. Ebben nagy segítségünkre voltak a korábbi kobaltjelöléses vizsgálatok mintái, melyekben csak az adott izom mozgásáért felelős neuronok jelölődtek, mivel a motoneuronok jelölése az izmok felől szelektíven történt (Matesz és mtsai. 1994). DSD2-Andor Zyla kamerával készített 1 µm vastag optikai szeletekből álló sorozatfelvételeken azonosítottuk a közvetlen kapcsolatokat **(23. ábra)**.



22. ábra: DSD2-Andor Zyla kamerával készített fluoreszcens mikroszkópos felvételek az agytörzsről a rhombencephalon szintjében. A nyilak a vestibularis afferensek (zöld) és a trigeminus motoneuronok dendritjeinek (piros) átfedési területét mutatják a nucleus motorius nervi trigemini rostralis (A és C ábra) és caudalis (B és D ábra) részében. Vmot: nucleus motorius nervi trigemini; V.: trigeminalis afferensek; VIII.: vestibularis afferensek; Kalibrációs vonal: 200 μm A-B ábra; 20 μm C-D ábra.

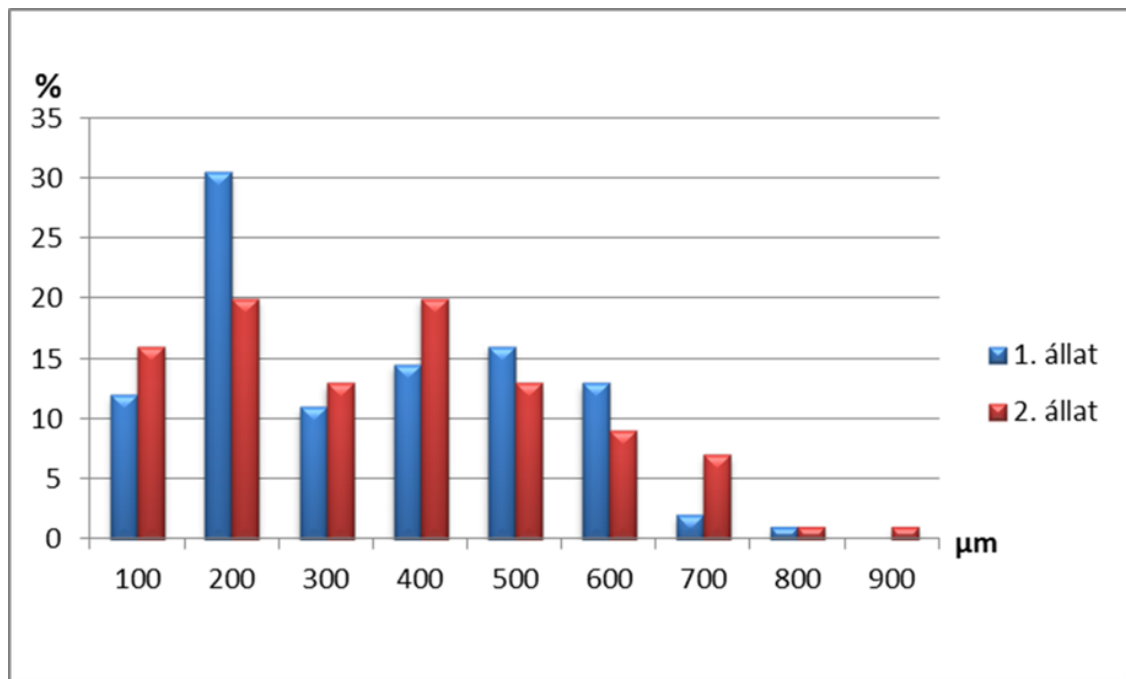


23. ábra: DSD2-Andor Zyla kamerával készített mikroszkópos felvételek a nucleus motorius nervi trigemini rostralis (A) és caudalis (B) területein található vestibularis afferensek (zöld) és trigeminus motoneuronok (piros) közötti axo-dendritikus és axo-szomatikus közvetlen kapcsolatokról (nyilak). Kalibrációs vonal: 20 μ m

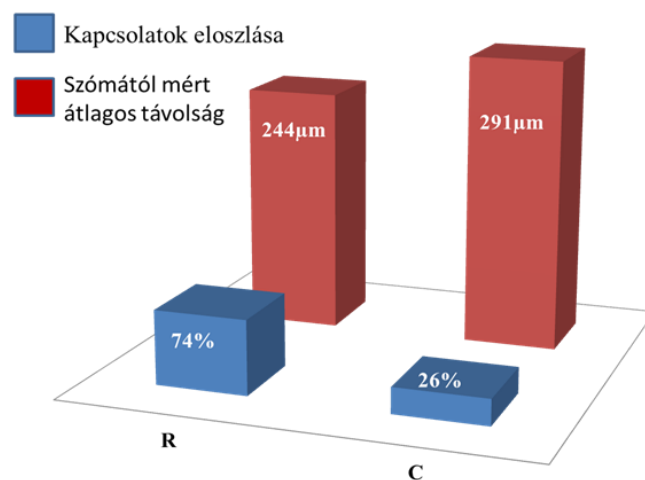
A két állatban 1589 optikai szelet tanulmányozásával 324 közvetlen kapcsolatot azonosítottunk a n. trigeminus motoneuronjai és a n. vestibularis primer afferens végződése között.

A kapcsolatok jelentős része (95%) a dendritfákon helyezkedett el, kisebb hányaduk axo-szomatikusnak bizonyult (5%). A legtöbb kapcsolat a motoneuronok szómájához közel, 600 μ m sugarú körön belül helyezkedett el **(24. ábra)**.

A kapcsolatok közel kétharmada a motoros trigeminus mag rostralis, a szájjárásban résztvevő motoneuronok területére lokalizálódott (74%), ugyanakkor nem találtunk jelentős különbséget a szómától mért átlagos távolságuk tekintetében a motoros mag két része között **(25. ábra)**.



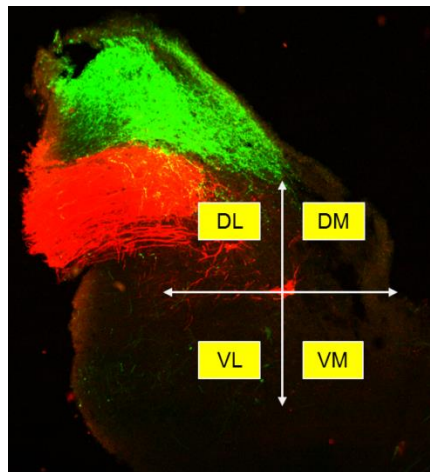
24. ábra: A primer vestibularis afferens végződések és a trigeminus motoneuronok közötti közvetlen axo-dendritikus kapcsolatok szómától mért távolságának eloszlása az egyes állatokban.



25. ábra: A nervus trigeminus motoneuronok és a vestibularis afferens végződések közötti közvetlen axo-dendritikus kapcsolatok eloszlása és a szómától mért átlagos távolságuk a motoros mag rostralis (R) és caudalis (C) területén. μm: mikrométer

Megvizsgáltuk a közvetlen kapcsolatok eloszlását a szájjárásban és a szájnýtásban szerepet játszó motoneuronok különböző orientációjú dendrit szegmensein is. Ehhez a számára helyezett koordináta tengely segítségével a

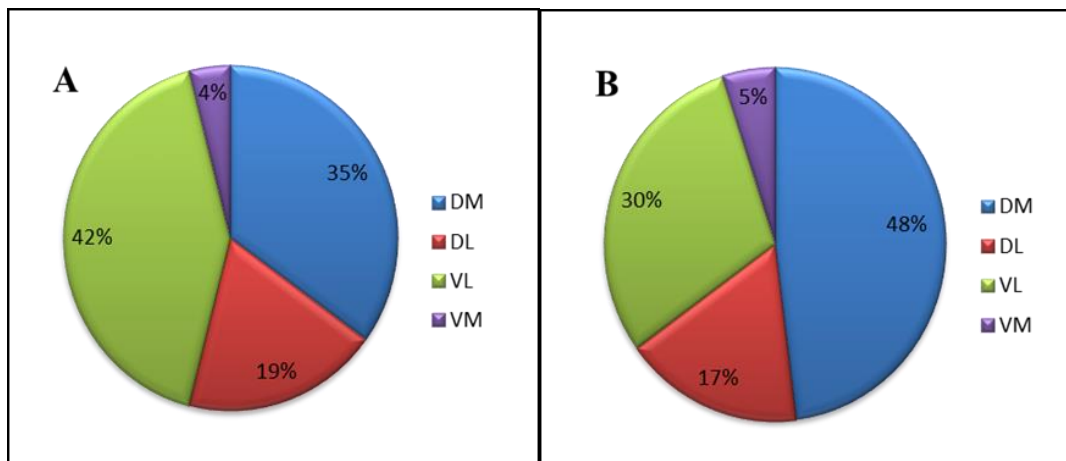
körülötte lévő teret négy kvadránsra (dorsomedialis -DM, dorsolateralis -DL, ventromedialis -VM, ventrolateralis -VL) osztottuk (26. ábra).



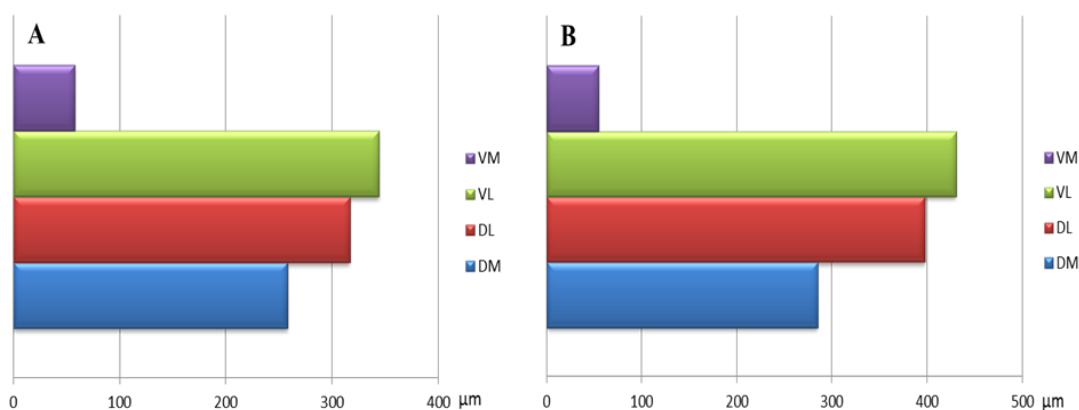
26. ábra: A különböző irányú dendritek meghatározásához használt az agytörzsre helyezett koordináta rendszer.

DM: dorsomedialis; DL: dorsolateralis;
VM: ventromedialis; VL: ventrolateralis

Kvadránsenként meghatároztuk a kapcsolatok számát, valamint rögzítettük az adott kvadránsban a számától mért távolságukat is (27.-28. ábra).

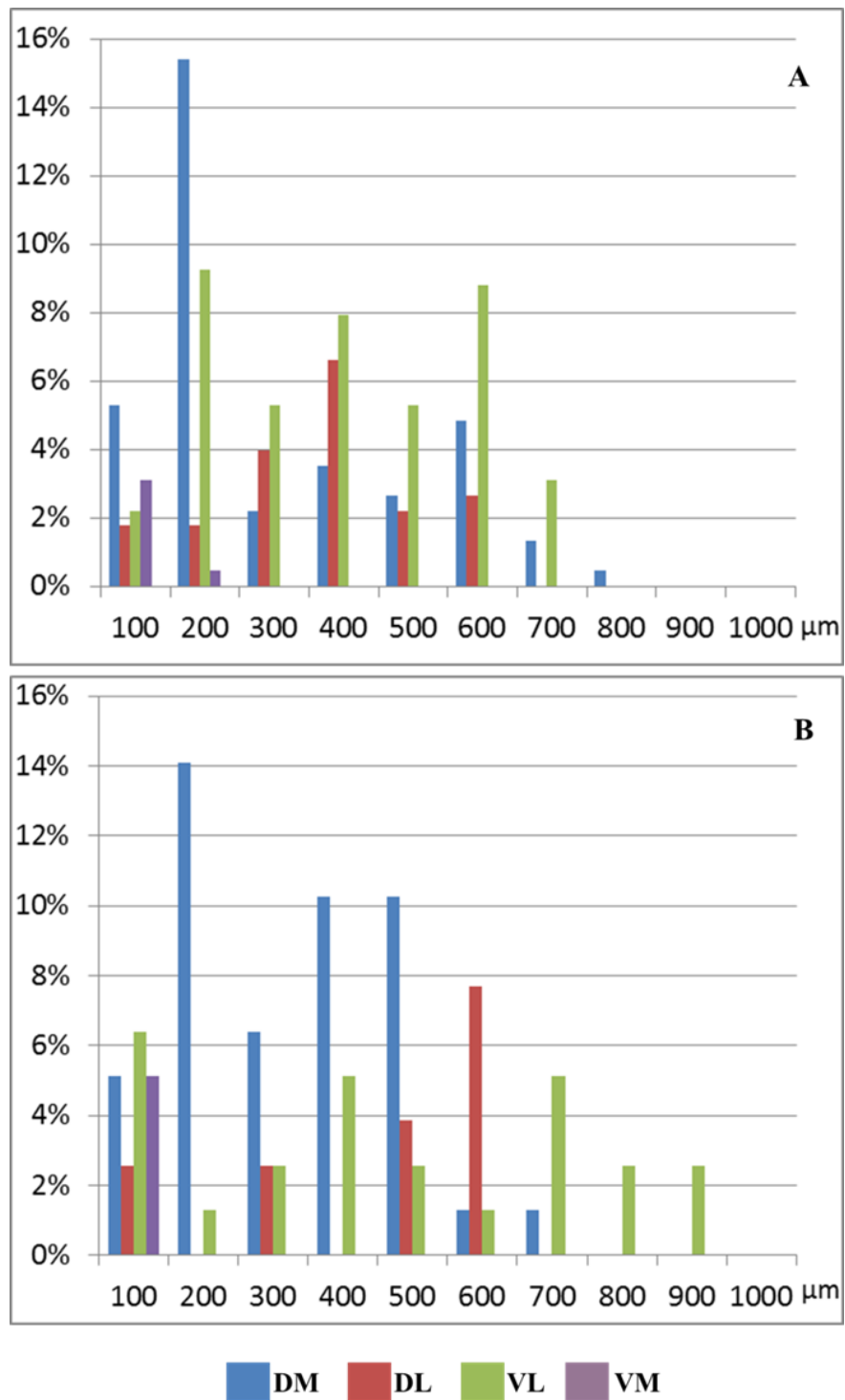


27. ábra: A nervus trigeminus motoneuronok és a primer afferens vestibularis végződések közötti közvetlen kapcsolatok eloszlása a motoneuronok különböző irányú dendritfáin a nucleus motorius nervi trigemini rostralis (A) és caudalis (B) területén. VL: ventrolateralis; VM: ventromedialis; DL: dorsolateralis; DM: dorsomedialis



28. ábra: A nervus trigeminus motoneuronok és a vestibularis afferens végződészek közötti közvetlen kapcsolatok szómától mért átlagos távolsága a motoneuronok különböző irányú dendritfáin a nucleus motorius nervi trigemini rostralis (A) és caudalis (B) területén. DL: dorsolateralis; DM: dorsomedialis; VL: ventrolateralis; VM: ventromedialis

Eredményeink szerint a közvetlen kapcsolatok több, mint 75%-a a dorsomedialis és a ventrolateralis dendriteken helyezkedik el a mag mindkét részében. A száj zárását végző motoneuronok ventrolateralis, míg a száj nyitásban résztvevő motoneuronok dorsomedialis dendritfáin találtuk a legtöbb kontaktust. A dorsolateralis és ventromedialis szegmenseken közel azonos volt a kapcsolatok megoszlása (27. ábra). A két motoneuron csoport, különböző irányú dendritjein fellelhető kapcsolatainak szómától mért átlagos távolsága is közel megegyezőnek bizonyult (28. ábra). A dorsomedialis szegmenseken a kapcsolatok 74%-ka a szómához közel, 400µm távolságon belül helyezkedett el a mag rostralis és caudalis részén is. Viszonylag kevés kapcsolatot sikerült azonosítani a két motoneuron típus ventromedialis irányú dendritfáin, de ezek a kapcsolatok, a szómához nagyon közel, rostralisán 200 µm (29. A ábra), míg caudalisán 100 µm radialis távolságon belül (29. B ábra) helyezkedtek el. A ventrolateralis és a dorsolateralis irányú dendritfák esetében, a kapcsolatokat főként a dendritek középső szakaszain találtuk (Birinyi és mtsai. 2016).



29. ábra: A primer afferens vestibularis kapcsolatok eloszlása a szómától mért radialis távolságuk függvényében a motoneuronok különböző irányú dendritfáin a motoros trigeminus mag rostralis (A) és caudalis (B) területén. DL: dorsolateralis; DM: dorsomedialis; VL: ventrolateralis; VM: ventromedialis

4.2 A nervus trigeminus és a nervus facialis szenzori-motoros kapcsolatrendszerének vizsgálata

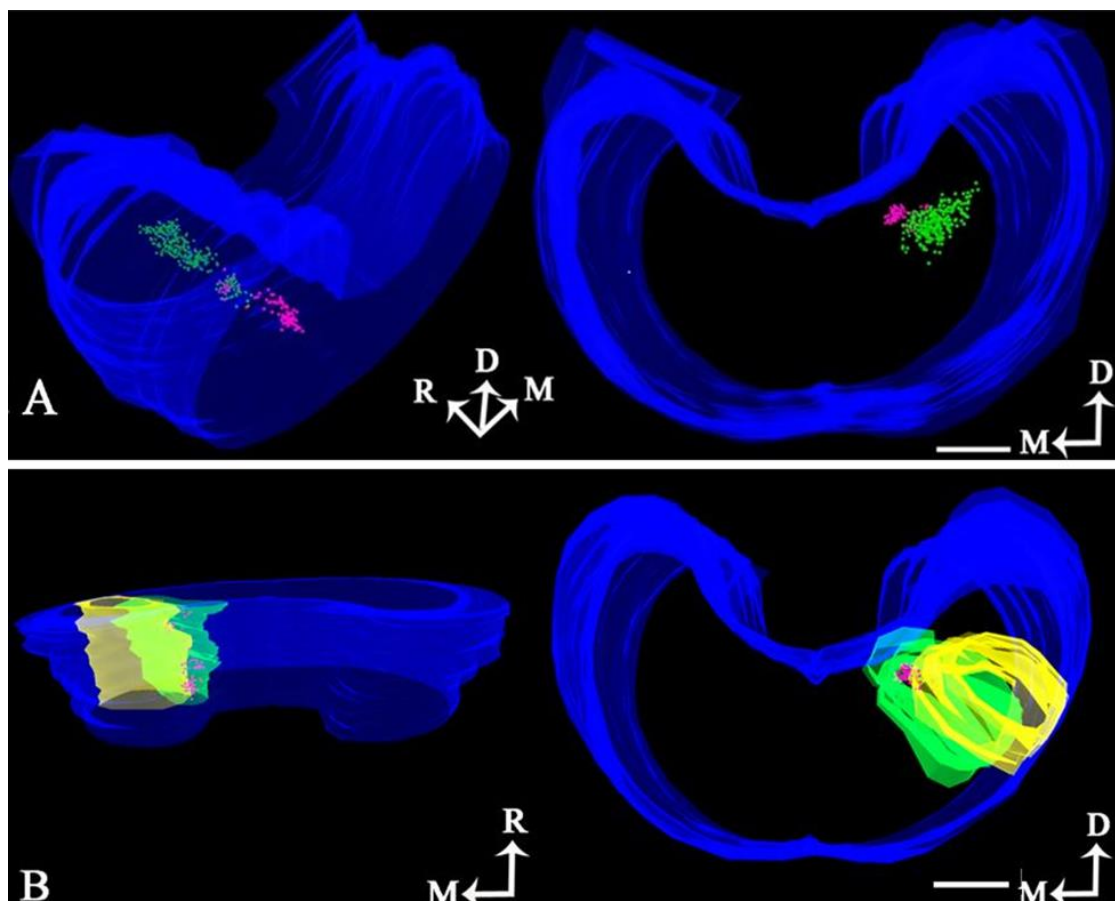
4.2.1 Az agytörzs neurolucida rekonstrukciója a trigeminus és facialis neuronális elemek átfedési területeinek illusztrációjához

A facialis motoros mag és a trigeminus primer afferensek kapcsolatrendszerének tanulmányozásához első lépésként a trigeminus és a facialis motoros magok kiterjedését és egymáshoz viszonyított helyzetét, valamint a facialis motoneuronok dendrit arborizációja és a trigeminus axon kollaterálisok közötti feltételezett agytörzsi átfedési területeket szeretnénk volna térben megjeleníteni. A rekonstrukciót a korábbi kovalttal jelölt agytörzsi sorozatmetszetek felhasználásával (Matesz és Székely, 1978), neurolucida program segítségével készítettük el **(30. ábra)**.

A rekonstrukción jól látható, hogy a facialis motoneuronok caudalisabban, és dorso-medialisán helyezkednek el a trigeminus motoros maghoz képest, és a magok egy része egymással átfedő területet képez. Az átfedő terület motoneuronjai mindkét agyideg esetében a szájnyitó izmokat idegzik be **(30. A ábra)**. A trigeminus afferensek és azok kollaterálisai eloszlanak a facialis motoneuronok perikaryonjai között, és határozott átfedési területet képeznek a ventrolateralis dentrit elágazódásokkal **(30. B ábra)**.

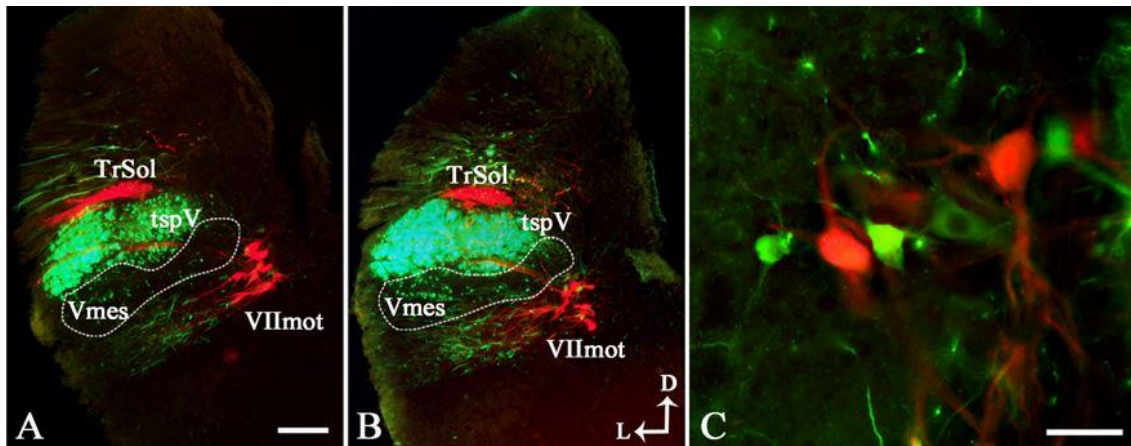
4.2.2 A nervus trigeminus neurobiotinnal és a nervus facialis dextranamin-Alexa Fluor 555-tel történő jelölése

A n. facialis átvágott proximális csonkjára helyezett Alexa Fluor 555 segítségével felismerhetővé váltak a retrográd úton jelölődött facialis motoneuronok sejtestjeit és dendritfái, valamint az anterográd jelölődött tractus solitarius axon kötegei **(31. ábra)**.



30. ábra: Az agytörzs háromdimenziós rekonstrukciója. Az A ábra szemlélteti a motoneuronok térbeli helyzetét. Zöld pontok: nervus trigeminus motoneuronok; rózsaszín pontok: nervus facialis motoneuronok. A B ábrán mutatjuk be a facialis motoneuronok dendritfái (zöld terület) és a trigeminus afferensek (sárga terület) közötti átfedési területet. R: rostralis; M: medialis; D: dorsalis; kék terület: az agytörzs határának rekonstrukciója.

A dendritek túlnyomó többsége a sejttesttől ventrolateralis irányban halad és csak egy kisebb kötegük mutat dorsomedialis irányultságot. A n. trigeminus neurobiotin jelölésének eredményeként azt láttuk, hogy a trigeminus motoneuronok sejttestjei a facialis motoros magoszloptól rostralisán helyezkednek el, néhány szóma azonban már megjelenik a facialis motoneuronok között is (**31. C ábra**).

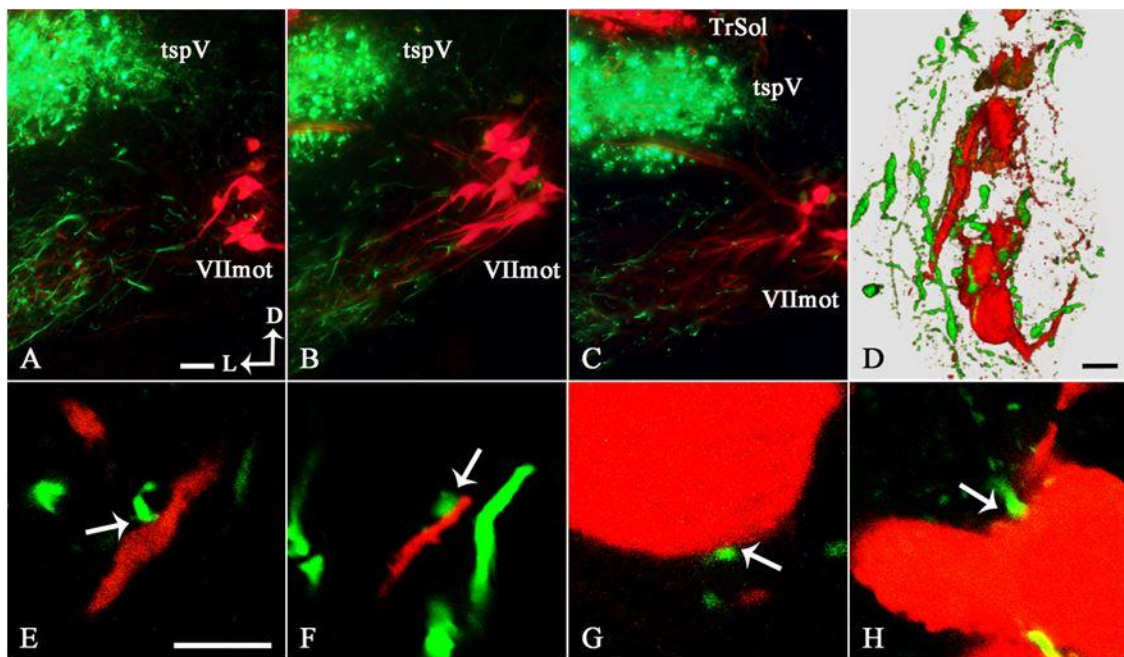


31. ábra: Fluoreszcens mikroszkópos felvételek a trigeminus afferensek eloszlásáról (zöld) a nervus facialis motoneuronok sejttestjeiről, dendritarborizációjukról és a tractus solitariusról a facialis motoros mag rostralis (A) és caudalis (B) szintjében. A C ábra szemlélteti a trigeminus (zöld) és a facialis (piros) motoneuronok átfedési területét. TrSol: tractus solitarius; tspV: tractus spinalis nervi trigemini; Vmes: tractus mesencephalicus nervi trigemini (bekarikázott terület); VIImot: nervus facialis motoneuronok; D: dorsalis; L: lateralis; Kalibrációs vonal: 100 μ m A-B ábra; 50 μ m C ábra

Az V. agyideg szenzoros rostjai a tractus solitarius (TrSol) medialis oldalán haladnak és jól meghatározható axon kötegeket alkotnak a tractus spinalis nervi trigemini (tspV) és a tractus mesencephalicus (Vmes) területén (31. A, B ábra).

Mintáinkat összehasonlítottuk a laboratóriumunkban történt korábbi vizsgálatok kobalt-kloriddal jelölt sorozatmetszeteivel (Matesz és Székely,1978). A két anyagban a jelölt neuronok megjelenése és eloszlása is megegyezést mutatott.

A neurobiotin - dextranamin-Alexa Fluor 555 kettős jelöléssel készült metszeteink mikroszkópos felvételeinek egymásra vetítésével jelentős átfedési területeket detektáltunk a két ideg agytörzsi területei között, ahogy azt a neurolucida rekonstrukció eredményei alapján vártuk (32. ábra).



32. ábra: Fluoreszcens mikroszkópos felvételek a nervus facialis motoros magjának különböző szintjeiben valamint a trigeminális kapcsolatok konfokális felvételei. Az A, B, C ábrák szemléltetik a pirosan jelölt motoneuronokat és a zölddel jelölődött trigeminalis axonokat. A D ábra a konfokális felvételek háromdimenziós rekonstrukciója, ahol a motoneuron sejttestek és dendritek, valamint a trigeminus afferensek térbeli helyzete látható. A konfokális felvételek a facialis motoneuronok és a primer trigeminális afferens végződés közötti direkt axo-dendritikus (E, F) és axo-szomatikus (G, H) kapcsolatokról (nyilak) készültek. TrSol:tractus solitarius; tspV:tractus spinalis nervi trigemini; VIImot: nervus facialis motoneuronok; D: dorsalis; L: lateralis; Kalibrációs vonal: 50 μ m A,B,C ábra; 25 μ m D ábra; 10 μ m E-H ábra

Konfokális felvételekből háromdimenziós rekonstrukciót készítettünk az átfedési területekről, melyen azt láttuk, hogy a n. trigeminus axon kollaterálisai a facialis motoneuronok közé hatolnak, és a motoneuronok sejttestjeihez valamint a proximalis dendritekhez nagyon közel, sűrű hálózatot alkotnak (32. D ábra).

A közvetlen szenzori-motoros kapcsolatok bizonyításához 1 μ m vastag optikai szeletekből álló sorozatfelvételeket készítettünk konfokális mikroszkóppal.

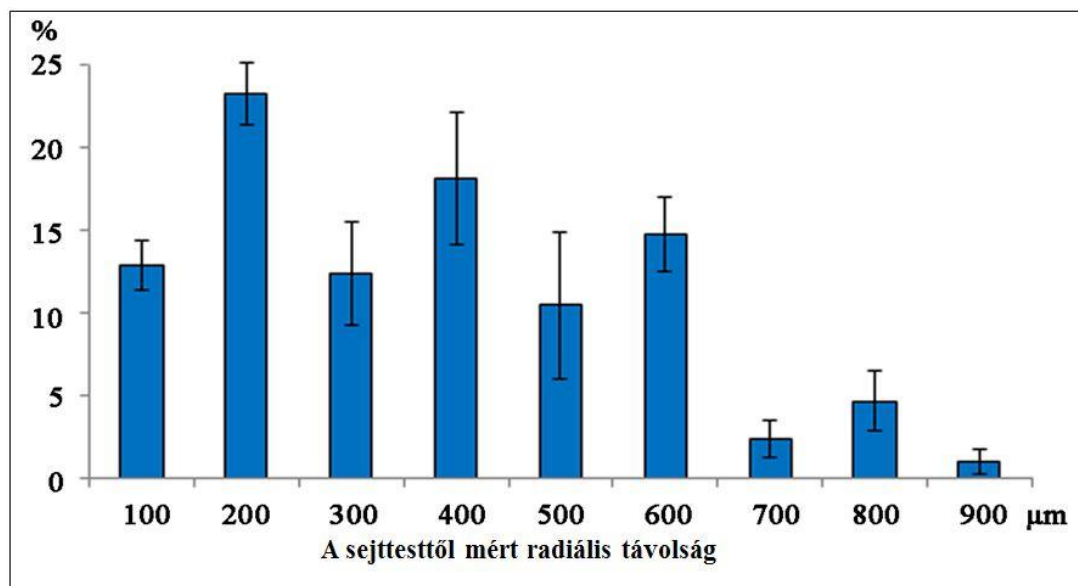
A facialis motoros mag teljes hosszában átvizsgáltuk a retrográd jelölt facialis motoneuronok dendritfáit és szómáit axo-dendritikus (32. E, F ábra) és axo-szomatikus (32. G, H ábra) direkt kapcsolatokat keresve az anterográd jelölt trigeminus axonterminálisokkal.

Abban az esetben, ha nem láttunk térbeli elkülönülést a motoneuron és az axonterminális között feltételeztük, hogy szoros appozíció van közöttük. A konfokális felvételeket négy állat agytörzsi metszeteiről készítettük és 5050 optikai szeletet vizsgáltunk át. Összesen 831 közvetlen kapcsolatot azonosítottunk a nervus trigeminus axonterminálisai és a nervus facialis motoneuronjai között. A kapcsolatok többségét a dendritfákon detektáltuk (87%), míg 13%-uk a sejttesteken elhelyezkedő axo-szomatikus kapcsolatnak bizonyult (1. táblázat).

	Axo-szomatikus	Axo-dendritikus	Sejttesttől mért átlagos távolság (μm)
1	28 (17%)	132 (83%)	218 $\pm$ 11
2	25 (13%)	162 (87%)	269 $\pm$ 14
3	27 (10%)	237 (90%)	308 $\pm$ 14
4	27 (12%)	193 (88%)	277 $\pm$ 12
átlag $\pm$ SEM	27 $\pm$ 1	181 $\pm$ 23	275 $\pm$ 7
Összes	107 (13%)	724 (87%)	

1. táblázat: A nervus trigeminus primer afferens terminalisok száma a facialis motoneuronokon, valamint a sejttesttől mért átlagos távolságuk

A legtöbb kapcsolat a facialis motoneuronok szómájától mért, 600 μm távolságon belül helyezkedett el (**33. ábra**).



33. ábra: A nervus trigeminus primer afferens terminalisok és a facialis motoneuronok közötti közvetlen kapcsolatok szómától mért távolságának eloszlása.

5 MEGBESZÉLÉS

Jelen munkában tanulmányoztuk a béka zsákmányszerző magatartását befolyásoló szenzori-motoros kapcsolatok morfológiai hátterét neuronális jelölési technikák alkalmazásával. Ezen belül vizsgáltuk a n. vestibularis kapcsolatait a n. trigeminus érző és motoros magjaival, és a motoros trigeminus mag funkcionálisan különböző motoneuronjaival közvetlen kapcsolatban álló primer afferens vestibularis terminálisok eloszlását, valamint a n. trigeminus primer afferenseinek megoszlását a n. facialis funkcionálisan különböző motoneuronjain.

5.1 A nervus trigeminus és a nervus vestibularis kapcsolatai

Kísérleteink során elsőként mutattunk ki a n. vestibularis és a n. trigeminus neuronális elemei között egyértelmű átfedési területeket az agytörzs különböző szintjeiben, mely átfedések a vestibulotrigeminalis pályarendszer morfológiai hátterét képezhetik. Az átfedési területek két csoportra oszthatók: egyrészt a trigeminus motoneuronok, másrészt a trigeminus sensoros magjai területén. A talált közvetlen kapcsolatok mindeddig nem ismert monoszintaptikus kapcsolatok létezésére utalnak a labirintus szerv afferens neuronjai és a trigeminus motoneuronok kapcsolatrendszerében.

A motoros trigeminus mag rostralis része a szájzárásban résztvevő izmok motoneuronjait, a caudalis területe pedig a szájnyitó izmok összehúzódsáért felelős motoneuronokat tartalmazza (Székely és Matesz 1993; Matesz és mtsai. 1995), ami alapján azt feltételezhetjük, hogy közvetlen labirintus input működik közre a zsákmányszerzés során az állkapocsmozgásokért felelős izmok aktivitásának módosításában. A vestibulotrigeminalis kapcsolatok háromnegyedét a motoros mag rostralis területén elhelyezkedő, a száj zárásában résztvevő izmok motoneuronjain találtuk, ami nem meglepő, hiszen a szájzárásban résztvevő motoneuronok több izom működésének irányításában vesznek részt, és az itt megtalálható motoneuronok száma is jóval meghaladja a mag caudalis területén fellelhető szájnyitó motoneuronok számát. Mindkét típusú motoneuron esetében a kapcsolatok 95%-a axo-dendritikus volt. Hasonló megoszlást mutattak a trigeminus afferensek a nucleus ambiguus és a hypoglossus mag motoneuronjain, valamint a vestibularis, glossopharyngeus-

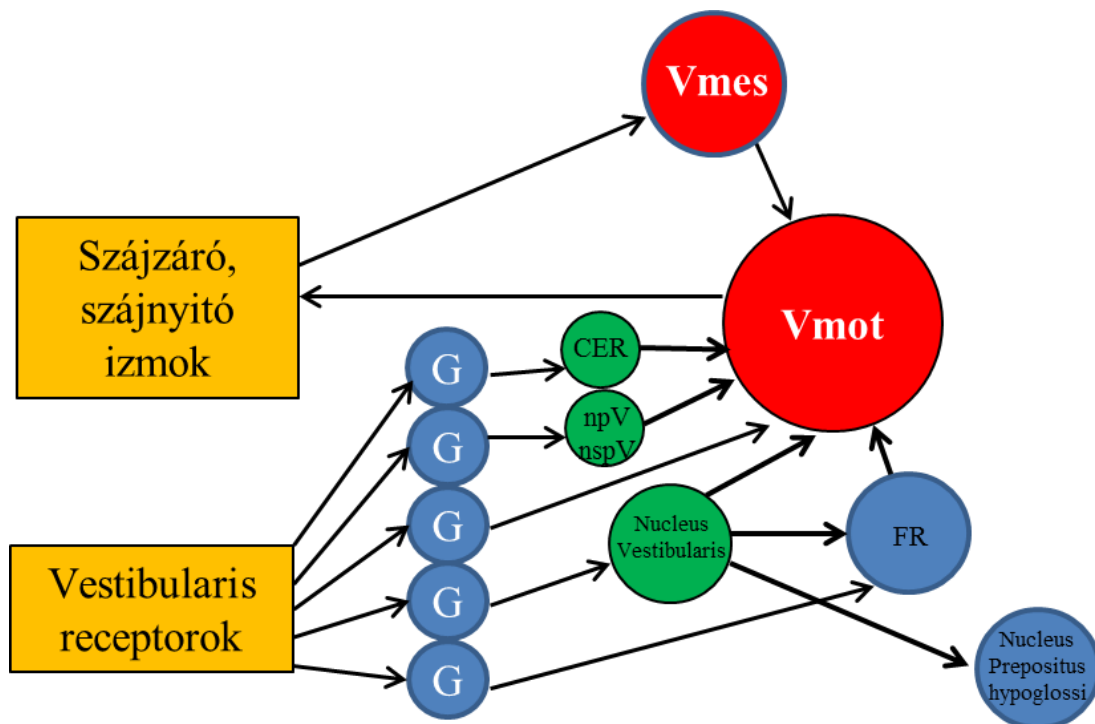
vagus, hypoglossus és gerincvelői afferensek a nyelvmozgató izmok motoneuronjain is (Kecskés és mtsai. 2013, 2016). Mindezek alapján egyre valószínűbbnek látszik egy általános törvényszerűség, amely szerint a TPB típusú zsákmányszerző magatartást kontrolláló primer afferens rostok döntően axo-dendritikus kapcsolatot létesítenek az efferens neuronokkal.

A vestibulotrigeminalis kapcsolatok sejttesttől mért átlagos távolsága mind a szájzáró, mind a nyitó izmok motoneuronjai esetében 250-300 mikrométer közötti tartományban volt. Ettől az értéktől jelentősen eltér a ventromedialis kvadránsba eső kapcsolatok távolsága, ahol az átlagos távolság mindkét izomcsoport esetében 100 mikrométer alatt volt. Ezek a kapcsolatok ugyan csak 4-5 %-át teszik ki az összes kapcsolatnak, a sejttesthez való közelségük miatt szerepük valószínűleg nem elhanyagolható. A vestibularis afferensek szomatodendritikus megoszlását korábban a nyelvmozgató motoneuronokon vizsgálták. Ebben az esetben, különösen a nyelv visszahúzásáért felelős motoneuronok esetében, a vestibularis afferensek a dendritfa távolabbi szegmensein helyezkedtek el (Kecskés és mtsai. 2016). Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a vestibularis rendszer moduláló szerepe eltérő a zsákmányszerző magatartás különböző efferens elemeire.

Jelentős számú vestibularis terminálist detektáltunk a n. trigeminus agytörzsi somatosensoros magjaiban: - a nucleus principalis és a nucleus tractus spinalis nervi trigeminiben valamint a nucleus mesencephalicus nervi trigemini leszálló kollaterálisainak (Probst köteg) végződési területén is. Ezek a terminálisok a konfokális felvételek elemzése alapján valószínűleg interneuronokkal létesítenek szinaptikus kapcsolatot, így a vestibularis ingerület poliszinaptikus úton is elérheti a nervus trigeminus motoneuronjait. Hasonló átfedés található a vestibularis magokból és a trigeminus érző magjaiból a thalamusba projiciáló rostok végződési területein is, mely színén alátámasztja a szenzoros modalitások konvergenciájának szerepét az egyensúlyérzékelésben (Muñoz és mtsai. 1994; Matesz és mtsai. 2002; Westhoff és mtsai. 2004). A képalkotó eljárásokkal készült vizsgálatok emberi agykéregben is kimutatták a vestibularis és a szomatoszensoros rendszer közötti konvergenciát, amelynek fontos szerepet tulajdonítanak a test helyzetének és környezet viszonyának érzékelésében és a test egyensúlyi helyzetének megtartásában (Ferré és Haggard 2015).

A vestibularis rendszer hatását az állkapocsmozgásokra korábban még nem írták le olyan élőlényekben, amelyek primer állkapocsízülettel rendelkeznek, ami csak a száj nyitását és zárását teszi lehetővé. Ezzel szemben számos vizsgálat igazolta a vestibularis rendszer kontrollját a rágómozgásokra alkalmas szekunder állkapocsízülettel rendelkező, különböző emlős fajok esetében (Tolu és mtsai. 1996; Valla és mtsai. 2003; Satoh és mtsai. 2009a, 2009b, 2011, 2012, 2016). Jóllehet a kétfajta ízület morfológiai és funkcionális különbözőségei miatt a nem emlős és az emlős fajokban kapott eredmények közvetlenül nem vethetők össze, a szájnyitó és -záró komponenseinek azonossága, az izmokat beidegző motoneuronok közötti jelentős egyezések, valamint a vestibularis rendszer filogenetikailag konzervatív volta lehetővé teszi bizonyos összehasonlítást (Székely és Matesz 1993). Patkányban végzett vizsgálatok azt mutatták, hogy a szájpád nyálkahártya mechanikai ingerlése ritmikus állkapocsmozgást vált ki, miközben a vestibularis neuronok spontán meglévő aktivitási mintázata megváltozik (Thexton és mtsai. 1982; Pinganaud és mtsai. 1999; Satoh és mtsai. 2012). Ez a vizsgálat alátámasztja azokat a korábbi eredményeket, amely szerint a vestibularis rendszer ingerlése serkenti a szájnyitó és -záró izmok aktivitását tengerimalacban (Tolu és Pugliatti 1993; Tolu és mtsai. 1996). A válaszok latenciaideje arra utal, hogy a vestibularis primer afferens rostok poliszinaptikus úton befolyásolják az állkapocs mozgató izmok aktivitását. A különböző neuronális jelölési módszereket alkalmazó kísérletek is a poliszinaptikus útvonal jelenlétére utalnak emlősökben (Matesz 1981; Marfurt és Rajchert 1991; Cuccurazzu és mtsai 2007).

Eredményeink a kételtűek vestibulotrigeminalis kapcsolatrendszerének komplexitására utalnak. Az általunk azonosított közvetlen kapcsolatok monoszinaptikus útvonalakat is feltételeznek, tehát a direkt és indirekt vestibularis útvonalak kombinációja lehetővé teszi a zsákmányszerzés során megkívánt fejmozgások alatt a gyors motoros válaszok létrejöttét, a motoneuronok időben összehangolt aktivációját az állkapocsmozgások során **(34. ábra)**.



34. ábra: Összefoglaló diagram a vestibulotrigeminális pályarendszer lehetséges szerveződéséről békában. CER: cerebellum, G: ganglion vestibulare, nspV: nucleus spinalis nervi trigemini, npV: nucleus principalis nervi trigemini, FR: formatio reticularis, Vmes: nucleus mesencephalicus nervi trigemini, Vmot: nucleus motorius nervi trigemini.

5.2 A nervus trigeminus és a nervus facialis motoros magjának kapcsolatai

Konfokális mikroszkóp segítségével nagy számban detektáltunk direkt kapcsolatokat a n. trigeminus szenzoros rostjai és a szájnyitó izmokat ellátó facialis motoneuronok között. A központi idegrendszer különböző területeit elektronmikroszkópos szinten vizsgálva a direkt kapcsolatok nagy részéről bebizonyosodott, hogy valódi szinaptikus kapcsolatok (Wouterlood és mtsai. 2002, 2003; Corson és Erisir 2013). Az általunk elsőként azonosított monoszinaptikus kapcsolatok morfológiai alapját képezhetik a zsákmányszerzés folyamata során a motoros válaszok gyors feedback és feedforward szabályozásának.

Békákban a m. depressor mandibulae összehúzódásának hatására az állkapocs lefelé mozdul el, látszólag ezzel indul a szájnyitás folyamata. Az izom működését regisztráló elektromiográfiás vizsgálatok és a mozgás

folyamatáról készült filmfelvételek számítógépes elemzése azonban azt mutatta, hogy az összehúzódásának első csúcsa a zsákmányszerzés előkészítő fázisában figyelhető meg, még a szájnyitás kezdete előtt (Gans és Gorniak 1982) és kontrakciójának mértéke a TPB végrehajtása során folyamatosan változik. Az előkészítő fázisban az izom aktivitási szintje 10-100% között mozog, majd ezt követően 16 milliszekundum alatt bekövetkezik a száj gyors nyitása, mely a m. depressor mandibulae közel maximális aktivitásával együtt járó protrúziós fázissal folytatódik. A protrúziós szakasz végén, amikor a nyelv eléri a táplálékot az izomaktivitás lecsökken 10-50%-ra. A retrakció kezdetén az aktivitása ismét emelkedik, mivel ahhoz, hogy az állat a nyelvvel a szájüregbe tudja húzni zsákmányát, a szájnyitás mértékének ismét növekednie kell. Mielőtt a nyelv visszakerül a szájüreg hátsó részébe, a retrakció későbbi szakaszában, a m. depressor mandibulae aktivitása megszűnik.

Figyelembe véve a zsákmányszerzés ilyen gyors időbeli lefolyását, feltételezhetjük, hogy a m. depressor mandibulae rapid aktivitás változásainak hátterében lévő feedback és feedforward mechanizmusok során monoszinaptikus kapcsolatok részvételével jutnak el a szenzoros információk a n. trigeminus útján a n. facialis motoneuronjaihoz.

A zsákmányszerzéshez szükséges n. trigeminus által közvetített szenzoros információk különböző receptorokból származnak, különböző morfológiájú és fiziológiai tulajdonságokkal rendelkező axonok részvételével továbbítódnak a nervus facialis motoneuronjaihoz.

A receptorok egyik csoportjába az állkapocsizmok izomorsóinak proprioceptorai és a Golgi-féle ínorsók tartoznak, melyekből az ingerület főként vastag axonok által szállítódik (Proske 1969 a, b; Granit 1975). A receptorok másik csoportjába a szájüregi nyálkahártya és a nyelv mechanoreceptorai tartoznak, melyek vékony és közepes méretű rostok által közvetítik a szenzoros információt a központi idegrendszer felé. A különböző receptorokból származó szenzoros információk sokasága tehát a primer afferens axonok mentén különböző sebességű impulzusokkal terjed, ami lehetővé teszi a TPB során a nagyon gyors fázisváltások pontos összerendezését. Ezen kívül nagyon valószínű, hogy a tengeri varangyokban azonosított két különböző izomorsó típus is szerepet játszhat a zsákmányszerzés különböző fázisaiban az izom összehúzódások szabályozásában (Mandal és Anderson 2010). A két eltérő

receptorból kiinduló eltérő fázisos és tónusos válaszreakciók megléte a hüllőkben szintén igazolódott (Proske 1969 a, b).

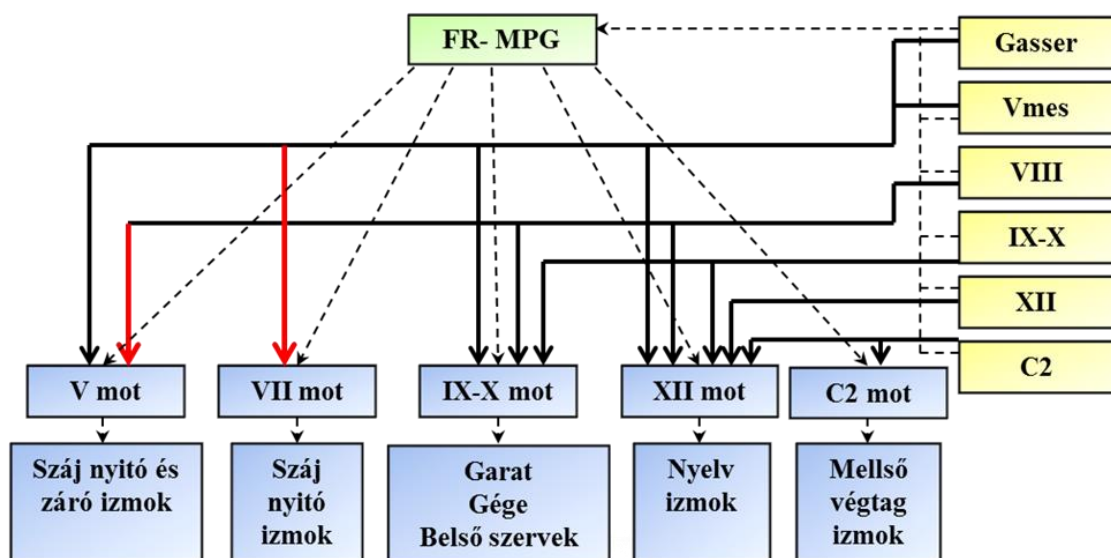
A vizsgálatainkban talált, a nervus trigeminus axon terminálisai által létrehozott közvetlen kapcsolatok többsége a facialis motoneuronok dendritfáján helyezkedett el, csak körülbelül 10%-uk bizonyult axo-szomatikus kapcsolatnak. Az axodendritikus kapcsolatok a ventrolateralis dendrit szegmensek proximalis kétharmadában helyezkedtek el.

A tractus mesencephalicus nervi trigemini (Vmes) és a tractus spinalis nervi trigemini (tspV) végződési területeinek elhelyezkedését tekintve, a korábbi kobalt jelöléses vizsgálataink eredményei szerint, nagyon valószínű, hogy a Vmes kifejezettebb hatást gyakorol a m. depressor mandibulae aktivitására, mivel rostjai az izom működésében szerepet játszó motoneuronok perikaryonjainak és proximális dendrit szegmenseinek területén végződnek (Matesz és Székely 1978; Matesz 1994). Ezt fiziológiai vizsgálatok is megerősítik, melyek eredményei szerint a szájzáró izmok proprioceptorai folyamatos aktivitást mutatnak mind a nyelv protrakció, mind a retrakció alatt, szemben a szájüregi mechanoreceptorokkal, melyeket az elejtett zsákmány érzete stimulál a nyelv retrakció kezdeti szakaszában (Nishikawa és Gans 1992; Corbacho és mtsai. 2005). Tengeri békákon végzett morfológiai tanulmányok eredményei is arra utalnak, hogy az állcsont és nyelv mozgások összehangolása során a trigeminalis input, döntő többséggel az izomorsókból ered (Mandal és Anderson 2010).

A facialis motoneuronok szerepe vitathatatlan egyéb motoros tevékenységek során is, mint például légzés, hangképzés, hányás (Schmidt 1966; Martin és Gans 1972; Liao és mtsai. 1996; Torgerson és mtsai. 2001; Broch és mtsai. 2002), így az általunk leírt direkt trigeminalis szenzoros kapcsolatok is hozzájárulhatnak ezen motoros programok/funkciók gyors módosításainak megvalósulásához.

5.3 A közvetlen szenzori-motoros kapcsolatok szerepe az állkapocs mozgások irányításában a béka zsákmányszerző viselkedése során

A disszertáció alapjául szolgáló vizsgálataink eredményeit korábbi tanulmányok adataival kiegészítve (Antal és mtsai 1980; Matesz 1994; Nishikawa 2000; Harwood és Anderson 2000; Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005; Deák és mtsai. 2009; Mandal és Anderson 2010; Matesz és mtsai. 2008, 2014; Kecskés és mtsai. 2013, 2015), összefoglaltuk a zsákmányszerző viselkedés mozgás folyamataiban szerepet játszó agytörzsi hálózat közvetlen és közvetett szenzoros bemeneteinek lehetséges útvonalait (**35. ábra**).



35. ábra: Sematikus illusztráció a béka zsákmányszerző viselkedésének neuronális szerveződéséről. A folytonos vonalak jelölik a direkt, a szaggatott vonalak az indirekt útvonalakat. Piros nyilakkal jelöltük az általunk talált közvetlen kapcsolatokat. FR-MPG: központi ritmus generátor a formatio reticularisban; Vmot: nucleus motorius nervi trigemini; VIImot: nucleus motorius nervi facialis; IX-Xmot: nucleus motorius nervi glossopharingei et vagi; XIImot: nucleus motorius nervi hypoglossi; C2: a második gerincvelői szegment motoneuronjai; Vmes: tractus mesencephalicus nervi trigemini; Gasser: ganglion trigeminale; a római számok az adott ideg afferenseit jelölik.

Feltételezésünk szerint a n. trigeminus szenzoros rostjai és a facialis és trigeminus motoneuronok közötti közvetlen kapcsolatok a táplálkozás során megkívánt állkapocs mozgások szinkronizálásának és időzítésének morfológiai alapját képezhetik. A direkt és a poliszinaptikus útvonalak együttesen biztosítják a nyelv előreöltésével történő (TPB) zsákmányszerzés során a motoros parancsok optimális végrehajtásához elengedhetetlen plaszticitást.

6 ÖSSZEFOGLALÁS

A béka zsákmányszerző viselkedése során az állkapocsmozgásokban szerepet játszó izmok összehangolt működése elengedhetetlen fontosságú. Aktivitásukat motoneuronjaikhoz érkező, a központi motoros neuronhálózat által generált impulzusok és a különböző agyidegek által szállított szenzoros információk befolyásolhatják közvetlenül vagy interneuronokon keresztül. Munkánk során kettős neuronális jelölési technikák alkalmazásával vizsgáltuk a vestibularis és trigeminus rendszer agytörzsi kapcsolatait és céljaink között szerepelt annak felderítése is, hogy a primer afferens trigeminus rostok létesítenek-e közvetlen kapcsolatot a szájnyitásban szerepet játszó másik agyideg, a nervus facialis motoneuronjaival.

Kísérleteinkkel elsőként mutattunk ki egyértelmű átfedési területeket a nervus vestibularis és a nervus trigeminus neuronális elemei között az agytörzs különböző szintjeiben. Konfokális felvételeken közvetlen kapcsolatokat azonosítottunk az afferens vestibularis rostok és a nervus trigeminus szájnyitásban és -zárában szerepet játszó motoneuronjai között. A talált kapcsolatok sejttesttől mért távolsága arra utal, hogy a vestibularis afferensek nagymértékben hatnak mindkét motoneuron típusra. A nervus trigeminus szomatoszenzoros magjaiban detektált számos vestibularis végződés arra utal, hogy a vestibularis ingerület poliszinaptikus úton is elérheti a nervus trigeminus motoneuronjait. A direkt és indirekt vestibularis útvonalak kombinációja lehetővé teszi a zsákmányszerzés során megkívánt fejmozgások alatt a gyors motoros válaszok létrejöttét, a motoneuronok időben összehangolt aktivációját az állkapocsmozgások során.

A konfokális felvételeken nagy számban detektáltunk direkt kapcsolatokat a nervus trigeminus szenzoros rostjai és a nervus facialis motoneuronjai között. Az axodendritikus kapcsolatok lokalizációja alapján elmondható, hogy az izomorsókból eredő és a tractus mesencephalicus nervi trigemini útján szállított trigeminalis input szerepe döntő fontosságú a facialis motoneuronok működése szempontjából.

Az azonosított közvetlen kapcsolatok többsége mindkét vizsgálatunkban axodendritikusnak bizonyult, ami a jelen és korábbi vizsgálataink alapján arra enged következtetni, hogy a nyelv előreöltésével járó zsákmányszerző

magatartás során a primer afferens rostok főként axodendritikus kapcsolatot létesítenek az efferens neuronokkal. Az azonosított monoszinaptikus kapcsolatok morfológiai alapját képezhetik a zsákmányszerzés során a motoros válaszok gyors feedback és feedforward mechanizmusainak szabályozásában.

SUMMARY

In the prey-catching behavior of frogs the coordinated activity of muscles participating in jaw movements is of pivotal importance. The activity of the motoneurons is generated by the central motor pattern generator and modified by sensory information conveyed by different cranial nerves either directly or via interneurons. Using double neuronal labeling techniques, we studied the possible neuronal connections between the vestibular and trigeminal systems in the brainstem, and examined whether the primary afferent trigeminal fibres establish direct contacts with the motoneurons of the facial nerve, which plays an important role in opening the mouth.

We have demonstrated for the first time that overlapping areas exist between the neuronal elements of vestibular and trigeminal nerves at different levels of the brainstem. In the confocal images, direct contacts were identified between the afferent vestibular fibres and the motoneurons of the trigeminal nerve participating in the opening and the closing of the mouth. The distance of the connections from the cell body suggest, that the vestibular afferents affect the activity of both motoneuron types to a great extent. The several vestibular terminals detected in the somato-sensory nuclei of of the trigeminal nerve may indicate that the vestibular information can reach the motoneurons of trigeminal nerve via polysynaptic routes. The combination of direct and indirect vestibular pathways may be one of the underlying mechanisms of a very quick response during the head movements required by prey-catching and of the temporally coordinated activation of the motoneurons during the jaw movements.

In the confocal images, we also demonstrated a large number of direct connections between the sensory fibres of the trigeminal nerve and the motoneurons of the facial nerve. It can be concluded, from the localization of the axodendritic contacts, that the trigeminal input originating from the proprioceptors and conveyed via the mesencephalic tract of trigeminal nerve, play important role in the proper contraction of facial motoneurons.

The majority of direct contacts identified proved to be axodendritic by both our investigations, which, on the basis of our present and previous research, allows us to conclude that during the tongue prehension behavior the primary afferent fibres establish mainly axodendritic connections with the

efferent neurons. The identified monosynaptic connections may serve as one of the neuromorphological substrates to regulate the quick feedback and feedforward mechanisms of motor responses during the prey-catching behavior.

7 IRODALOMJEGYZÉK

- Anderson CW (2001) Anatomical evidence for brainstem circuits mediating feeding motor program in the leopard frog, *Rana pipiens*. *Exp Brain Res* 140 (1):12-19.
- Anderson CW, Nishikawa KC (1993) A prey-type dependent hypoglossal feedback system in the frog, *Rana Pipiens*. *Brain Behav Evol* 42 (3):189-196.
- Anderson CW, Nishikawa KC (1996) The roles of visual and proprioceptive information during motor program choice in frog. *J Comp Physiol A* 179 (6):753-762.
- 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 (7):1311-1322.
- Babalian AL, Shapovalov AI (1984) Mode of synaptic transmission between vestibular afferents and neurons of the vestibular nucleus in the frog. *Brain Res* 309 (1): 163-167.
- Bácskai T, Matesz C (2002) Primary afferent fibers establish dye-coupled connections in the frog central nervous system. *Brain Res Bull* 57 (3-4):317-319.
- Barbas-Henry HA, Lohman AH (1988) Primary projection and efferent cells of the VIIIth cranial nerve in the monitor lizard, *Varanus exanthematicus*. *J Comp Neurol* 277 (2):234-249.
- Barnard JW (1936) A phylogenetic study of visceral afferent areas associated with facial, glossopharyngeal and vagus nerves and their fiber connections. *J Comp Neurol* 65 (1):503-602.
- Birinyi A, Kecskés S, Kovalecz G, Matesz C (2016) Termination of vestibular afferent fibers on the trigeminal motoneurons: Possible network mediating jaw movements during prey-catching behavior of the frog. 8th European Conference on Comparative Neurobiology Munich, Germany Abstractbook 57.

- 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 (1-2):44-59.
- Broch L, Morales RD, Sandoval AV, Hedrick MS (2002) Regulation of the respiratory central pattern generator by chlotide-dependent inhibition during development in the bullfrog (*Rana catesbeiana*). *J Exp Biol* 2015 (Pt 8):1161-1169.
- Brzoska J, Schneider H. (1978) Modification of prey-catching behavior by learning in the common toad (*bufo b. bufo* [L], anura, amphibia): changes in responses to visual objects and effects of auditory stimuli. *Behav Processes* 3 (2):125-136.
- Buisseret-Delmas C, Compoin C, Delfini C, Buisseret P (1999) Organization of reciprocal connections between trigeminal and vestibular nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 409 (1):153-168.
- Comer C, Grobstein P (1981) Tactually elicited prey acquisition behavior in the frog, *Rana pipiens*, and a comparison with visually elicited behavior. *J Comp Physiol* 142 (2):141-150.
- Corbacho F, Nishikawa KC, Weerasuriya A, Liaw JS, Arbib MA (2005) Schema-based learning of adaptable and flexible prey-catching in anurans I. The basic architecture. *Biol Cybern Neurol* 93 (6):391-409.
- Corson JA, Erisir A (2013) Monosynaptic convergence of chorda tympani and glossopharyngeal afferents onto ascending relay neurons in the nucleus of the solitary tract: a high resolution confocal and correlative electron microscopy approach. *J Comp Neurol* 521 (13):2907-2926.
- Corvajá N, Grofová I (1972) Vestibulospinal projection in the toad. *Prog Brain Res* 37: 297-307.
- Cuccurazzu B, Deriu F, Tolu E, Yates BJ, Billig I (2007) A monosynaptic pathway links the vestibular nuclei and masseter muscle motoneurons in rats. *Exp Brain Res* 176 (4):665-71.

- Deák Á, Bácskai T, Veress G, Matesz C (2009) Vestibular afferents to the motoneurons of glossopharyngeal and vagus nerves in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res* 1286:60-65.
- Delcomyn F (1980) Neural basis of rhythmic behavior in animals. *Science* 210 (4469):492-498.
- Diagne M, Valla J, Delfini C, Buisseret-Delmas C, Buisseret P (2006) Trigeminovestibular and trigeminospinal pathway in rats: retrograd tracing compared with glutamic acid decarboxylase and glutamate immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 496 (6):759-772.
- Dicke U, Roth G, Matsushima T (1998) Neural substrate for motor control of feeding in amphibians. *Acta Anat (Basel)* 163 (3):127-143.
- Dieringer N (1995) 'Vestibular compensation': neural plasticity and its relations to functional recovery after labyrinthine lesions in frogs and other vertebrates. *Prog Neurobiol* 46 (2-3):97-129.
- Dole JW, Rose BB, Tachiki KH (1981) Western toads (*Bufo boreas*) learn odor of prey insects. *Herpetologica* 37 (1):63-68.
- Dutia MB (2010) Mechanisms of vestibular compensation: recent advances. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 18 (5):420-424.
- Ewert JP (1984) Tectal mechanism that underlies prey-catching and avoidance behavior in toads. In: Vanegas H (ed) *Comparative neurology of the optic tectum*. Plenum, pp 247-416.
- Ewert JP (1987) Neuroethology of releasing mechanisms: prey catching in toads. *Brain Behav Sci* 10 (3):337-405.
- Ewert JP (1997) Neural correlates of key stimulus and releasing mechanism: A case study and two concepts. *Trends Neurosci* 20 (8):332-339.

- Ewert JP, Buxbaum-Conradi H, Glasgow M, Rottgen A, Schurg-Pfeiffer E, Schwippert WW (1999) Forebrain and midbrain structures involved in prey-catching behaviour of toads: stimulus-response mediating circuits and their modulating loops. *Eur J Morphol* 37 (2-3):172-176.
- Ewert JP, Framing EM, Schurg-Pfeiffer E, Weerasuriya A (1990) Response of medullary neurons to moving visual stimuli in the common toad. I. Characterization of medial reticular neurons by extracellular recording. *J Comp Physiol A* 167 (4):495-508.
- Fanardjian VV, Manvelyan LR, Zakarian VL, Pogossian VI, Nasoyan AM (1999) Electrophysiological properties of the somatotopic organization of the vestibulospinal system in the frog. *Neurosci* 94 (3):845-857.
- Ferrè ER, Haggard P (2015) Vestibular-Somatosensory Interactions: A mechanism in search of a function? *Multisens Res* 28 (5-6):559-579.
- Fujio T, Sato F, Tachibana Y, Kato T, Tomita A, Higashiyama K, Ono T, Maeda Y, Yoshida A (2016) Revisiting the supratrigeminal nucleus in the rat. *Neuroscience* 324:307-320.
- Fuller PM (1974) Projections of the vestibular nuclear complex in the bullfrog (*Rana catesbeiana*) *Brain Behav Evol* 10 (1-3):157-169.
- Fuller PM, Ebbesson SOE (1973) Central projections of the trigeminal nerve in bullfrog *Rana Catesbeiana*. *J Comp Neur* 152 (2):193-199.
- Gans C, Gorniak GC (1982) Functional morphology of lingual protrusion in marine toads (*Bufo marinus*). *Am J Anat* 163 (3):195-222.
- Gaupp E (1904) Ecker's und R. Wiedersheim's Anatomie des Frosches, vol.3. Braunschweig: Vieweg und Sohn
- Giaconi E, Deriu F, Tolu E, Cuccurazzu B, Yates BJ, Billing I (2006) Transneuronal tracing of vestibulo-trigeminal pathway innervating the masseter muscle in the rat. *Exp Brain Res* 171 (3):330-339.

- Goto F, Straka H, Dieringer N (2002) Gradual and reversible central vestibular reorganization in frog after selective labyrinthine nerve branch lesions. *Exp Brain Res* 147 (3):374–386.
- Granit R (1975) The functional role of the muscle spindles-facts and hypotheses. *Brain* 98 (4):531-556.
- Gray LA, O'Reilly JC, Nishikawa KC (1997) Evolution of forelimb movements patterns for prey manipulation in anurans. *J Exp Zool* 277 (6):417-424.
- Grillner S (1985) Neurobiological bases of rhythmic motor acts in vertebrates. *Science* 228 (4696):143-149.
- Grobstein P, Corner C, Kostyk SK (1983) Frog prey-catching behaviour: between sensory maps and directed motor output. In: Ewert JP, Ingle DJ, Capranica RR, (Eds.) *Advances in Vertebrate Neuroethology*. Plenum, New York. 331-347.
- Harwood DV, Anderson CW (2000) Evidence for the anatomical origins of hypoglossal afferents in the tongue of the leopard frog, *Rana pipiens*. *Brain Res* 862 (1-2):288-292.
- Heiss E, Natchev N, Gumpenberger M, Weissenbacher A, Van Wassenbergh S (2013) Biomechanics and hydrodynamics of prey capture in the chinese giant salamander reveal a high-performance jaw-powered suction feeding mechanism. *J R Soc Interface* 10 (82):20121028. doi: 10.1098/rsif.2012.1028.
- Hillmann DE (1969) Light and electron microscopical study of the relationships between the cerebellum and vestibular organ of the frog. *Exp Brain Res* 9 (1):1-15.
- Huber E (1930) Evolution of facial musculature and cutaneous fields of trigeminus. *Quar Rev Biol* 5:113-437.

- Ingle DJ (1983) Brain mechanisms of visual localization by frogs and toads.. In: Ewert JP, Capranica RR, Ingle DJ (Eds.) Advances in Vertebrate Neuroethology. Plenum, New York. 177-226.
- Jaeger RG (1976) Possible prey-call window in anuran auditory perception. Copeia 1976 (4):833-834.
- Joseph BS, king RB, Whitlock DG (1968) Central distribution of trigeminal primary afferent fibers in anuran amphibians. Anat Rec 160 (4):719-727.
- Kecskés S, Matesz C, Birinyi A (2013) Termination of trigeminal primary afferents on glossopharyngeal-vagal motoneurons: possible neural networks underlying the swallowing phase and visceromotor responses of prey-catching behavior. Brain Res Bull 99:109-116.
- Kecskés S, Matesz C, Gaál B, Birinyi A (2016) Neural circuits underlying tongue movements for the prey-catching behavior in frog: distribution of primary afferent terminals on motoneurons supplying the tongue. Brain Struct 221 (3):1533-1553.
- Koyama H, Kishida R, Goris RC, Kusunoki T (1990) Organization of the primary projections of the lateral line nerves in the lamprey *Lampetra japonica*. J Comp Neurol 295 (2):277-289.
- Liao GS, Kubin L, Galante RJ, Fishman AP, Pack AI (1996) Respiratory activity in the facial nucleus in an in vitro brainstem of tadpole, *Rana catesbeiana* J Physiol 15 (2):529-544.
- Liaw J-S WA, Arbib MA (1994) Snapping: A paradigm for modeling coordination of motor synergies. Neural Netw 7 (6-7):1137-1152.
- Lowe DA, Russel IJ (1982) The central projections of lateral line and cutaneous sensory fibres (VII and X) in *Xenopus laevis*. Proc R Soc Lond B Biol Sci 216 (1204):279-297.
- Magherini PC, Precht W, Richter A (1974) Vestibulospinal effects on hindlimb motoneurons of the frog. Pflugers Arch 348 (3):211-223.

- Malinvaud D, Vassias I, Reichenberger, Rössert C, Straka HJ (2010) Functional organization of vestibular commissural connection in frog. *Neurosci* 30 (9):3310-3325.
- Mandal R, Anderson CW (2010) Identification of muscle spindles in the submentalis muscle of the marine toad, *Bufo marinus* and its potential proprioceptive capacity in jaw-tongue coordination. *Anat Rec (Hoboken)* 293 (9):1568-1573.
- Marfurt CF, Rajchert DM (1991) Trigeminal primary afferent projections to „non-trigeminal” areas of rat central nervous system. *J Comp Neurol* 303 (3):489-511.
- Martin WF, Gans C (1972) Muscular control of the vocal tract during release signaling in the toad, *Bufo valliceps*. *J Morphol* 137 (1):1-27.
- Matesz C (1979) Central projection of the VIIIth cranial nerve in the frog. *Neurosci* 4 (12):2061-2071.
- Matesz C (1981) Peripheral and central distribution of fibers of the mesencephalic trigeminal root in the rat. *Neurosci Lett* 27 (1):13-17.
- Matesz C (1983) Termination areas of primary afferent fibers of the trigeminal nerve in the rat. *Acta Biol Hung* 34 (1):31-43.
- Matesz C (1988) Fine structure of the primary afferent vestibulocochlear terminals in the frog. *Acta Biol Hung* 39 (2-3):267-277.
- Matesz C (1994) Synaptic relations of the trigeminal mononeurons in a frog (*Rana esculenta*). *Eur J Morphol* 32 (2-4):117-121.
- Matesz C, Birinyi A, Hevessy Z (1994) Motoneurons differ in size and peripheral target in the trigeminal and facial nuclear complex of the frog. *J Hirnforsch* 35 (1):67-70.

- Matesz C, Birinyi A, Kothalawala DS, Székely G (1995) Investigation of the dendritic geometry of brainstem motoneurons with different functions using multivariant multistatistical techniques in the frog. *Neurosci* 65 (4):1129-1144.
- Matesz C, Kulik A, Bácskai T (2002) Ascending and descending projections of the lateral vestibular nucleus in the frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol* 444 (2):115-128.
- Matesz C, Székely G (1978) The motor column and sensory projections of the branchial cranial nerves in the frog. *J Comp Neurol* 178 (1):157-176.
- Matesz C, Székely G (1996) Organization of the ambiguous nucleus in the frog (*Rana esculenta*) *J Comp Neurol* 371 (2):258-269.
- Matesz C, Kecskés S, Bácskai T, Rácz É, Birinyi A (2014) Brainstem circuits underlying the prey-catching behavior of the frog. *Brain Behav Evol* 83 (2):104-111.
- Matsushima T, Satou M, Ueda K (1986) Glossopharyngeal and tectal influences on tongue muscle motoneurons in the Japanese toad. *Brain Res* 365 (1):198-203.
- Matsushima T, Satou M, Ueda K (1989) Medullary reticular neurons in the Japanese toad: morphologies and excitatory inputs from the optic tectum. *J Comp Physiol A* 166 (1):7-22.
- Monroy JA, Nishikawa K (2011) prey capture in frogs. Alternative strategies, biomechanical trade-offs, and hierarchical decision making. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol* 315A (2):61-71.
- Montgomery (1988) Projections of the vestibular and cerebellar nuclei in *Rana pipiens*. *Brain Behav Evol* 31 (2):82-95.
- Muñoz M, Muñoz A, Marin O, Gonzalez A (1994) Primary afferents and second order projections of the trigeminal system in a frog (*Rana ridibunda*) *Eur J Morphol* 32 (2-4):288-292.

- Nishikawa KC (2000) Feeding in Frogs. In Schwenk K (ed) Feeding: Form, Function and Evolution in Tetrapod Vertebrates. Academic Press, San Diego, pp 117-144.
- Nishikawa KC, Gans C (1992) The role of hypoglossal sensory feedback during feeding in marine toad, *Bufo marinus*. *J Exp Zool* 264 (3):245-252.
- Nishikawa KC, Gans C (1996) Mechanisms of tongue protraction and narial closure in the marine toad *Bufo marinus*. *J Exp Biol* 199 (Pt 11):2511-2529.
- Olabi B, Bergquist F, Dutia MB (2009) Rebalancing the commissural system: mechanisms of vestibular compensation. *J Vestib Res* 19 (5-6):201-207.
- Opdam R, Kemali M, Nieuwenhuys R (1976) Topological analysis of the brain stem of the frogs *Rana esculenta* and *Rana catesbeiana*. *J Comp Neurol* 165 (3):307-332.
- Pinganaud G, Bourcier F, Buisseret-Delmas C, Buisseret P (1999) Primary trigeminal afferents to the vestibular nuclei in the rat: existence of a collateral projection to the vestibulo-cerebellum. *Neurosci Lett* 264 (1-3):133-136.
- Precht W, Llinas R (1969) Functional organization of the vestibular afferents to the cerebellar cortex of frog and cat. *Exp Brain Res* 9 (1):30-52.
- Precht W, Richter A, Ozawa S, Shimazu H (1974) Intracellular study of frog's vestibular neurons in relation to the labyrinth and spinal cord. *Exp Brain Res* 19 (4):377-379.
- Proske U (1969a) An electrophysiological analysis of responses from lizard muscle spindles. *J Physiol* 205 (2):289-304.
- Proske U (1969b) The innervation of muscle spindles in lizard *Tiliqua nigrolutea*. *J Anat* 105 (Pt 2):217-230.

- 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 (3):382-394.
- Rácz E, Bácskai T, Szabó G, Székely G, Matesz C (2008) Organization of last-order premotor interneurons related to protraction of tongue in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res* 1187:111-115.
- Rubinson K (1970) Connections of the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve in the frog. An experimental study with silver impregnation methods. *Brain Res* 19 (1):3-14.
- Satoh Y, Ishizuka K, Takahashi M, Iwasaki S (2016) Role of the vestibular nuclear complex in facilitating the jaw-opening reflex following stimulation of the red nucleus. *Neurosci Res* doi: 10.1016/j.neures.2016.02.008.
- Satoh Y, Ishizuka K, Murakami T (2009a) Modulation of the jaw-opening reflex by stimulation of vestibular nuclear complex in rats. *Neurosci Lett* 457 (1):21-26.
- Satoh Y, Ishizuka K, Murakami T (2009b) Modulation of the masseteric monosynaptic reflex by stimulation of vestibular nuclear complex in rats. *Neurosci Lett* 466 (1):16-20.
- Satoh Y, Ishizuka K, Yajima E, Nagamine Y, Iwasaki S (2012) Neuronal activities of the vestibular nuclear complex during mechanically induced rhythmic jaw movements in rats. *Brain Res Bull* 89 (3-4):86-91.
- Satoh Y, Yajima E, Nagamine Y, Ishizuka K, Murakami T (2011) effects of neck muscle activities during rhythmic jaw movements by stimulation of the medial vestibular nucleus in rats. *Brain Res Bull* 86 (5-6):447-453.
- Schmidt RS (1966) Central mechanisms of frog calling. *Behaviour* 26 (3):251-285.

- Schwippert WBT, Framing E (1989) Visual integration in bulbal structures of toads: intra/extra-cellular recording and labeling studies. In: Ewert J.-P., Arbib MA (Eds), Visuomotor Coordination: Amphibians, Comparisons, Models and Robots. Plenum, New York, 481-536.
- Schwippert WW, Beneke TW, Ewert JP (1990) Responses of medullary neurons to moving visual stimuli in the common toad. II. An intracellular recording and cobalt-lysine labeling study. Journal of comparative physiology A, Sensory, neural, and behavioral physiology 167 (4):509-520.
- Shinn EA, Dole JW (1978) Evidence for a role for olfactory cues in the feeding response of leopard frogs, *Rana pipiens*. Herpetologica 34 (2):167-172.
- 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 (3):291-299.
- 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, Biersdorf S, Dieringer N (1997) Canal-specific excitation and inhibition of frog second-order vestibular neurons. J Neurophysiol 78 (3):1363-1372.
- 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 (5):3087-3101.
- Straka H, Dieringer N (2004) Basic organization principles of the VOR: lessons from frogs. Prog Neurobiol 73 (4):259-309.

- Stuesse SL, Cruce WL, Powell KS (1983) Afferent and efferent components of the hypoglossal nerve in grass frog, *Rana Pipiens*. *J Comp Neurol* 217 (4): 432-439.
- Székely G, Matesz C (1982) The accessory motor nuclei of the trigeminal, facial, and abducens nerves in the rat. *J Comp Neurol* 210 (3):258-64.
- Székely G, Matesz C (1993) The efferent system of cranial nerve nuclei: a comparative neuromorphological study. *Adv Anat Embryol cell Biol* 128:1-92.
- Székely G, Matesz K (1987) Trigeminal motoneurons with disparate dendritic geometry innervate different muscle group in the frog. *Neurosci Lett* 77 (2):161-165.
- Székely G, Matesz K (1989) Comparative anatomy of the neural control of mastication. In: Wake DB, Roth G (Eds), *Complex organismal functions: integration and evolution in vertebrates*. John Wiley and Sons, New York 41-52.
- ten Donkelaar HJ (1997) The central nervous system of vertebrates. In: Nieuwenhuys R, ten Donkelaar, H.J., Nicholson, C. (ed) *Anurans*, vol 2. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, Tokyo, pp 1151-1314.
- Thexton AJ, Griffiths C, McGarrick JD (1982) Brainstem mechanisms underlying variations in the occurrence of experimentally elicited rhythmical oral movements in the rat. *Arc Oral Biol* 27 (5): 411-415.
- Tolu E, Caria MA, Chessa G, Melis F, Simula ME, Podda MV, Solinas A, Deriu F (1996) Trigeminal motoneuron responses to vestibular stimulation in guinea pig. *Arch Ital Biol* 134 (2):140-51.
- Tolu E, Pugliatti M (1993) The vestibular system modulates masseter muscle activity. *J Vestib Res* 3 (2):163-171.

- Torgerson CS, Gdovin MJ, Remmers JE (2001) Sites of respiratory rhythmogenesis during development in the tadpole. *Am J Physiol Regul Integr. Comp Physiol* 280 (4):R913-920.
- Torvik A (1956) Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei, the nucleus of the solitary tract and adjacent structures. An experimental study in the rat. *J Comp Neur* 106 (1):51-142.
- Valdez CM, Nishikawa KC (1997) Sensory modulation and behavioral choice during feeding in the Australian frog, *Cyclorana novaehollandiae*. *J Comp Physiol A* 180 (3):187-202.
- Valla J, Delfini C, Diagne M, Pinganaud G, Buisseret P, Buisseret-Delmas C (2003) Vestibulotrigeminal and vestibulospinal projection in rats: retrograde tracing coupled to glutamic acid decarboxylase immunoreactivity. *Neurosci Lett* 340 (3):225-228.
- Van Haeften T, Wouterlood FG (2000) Neuroanatomical tracing at high resolution. *J Neurosci Meth* 103 (1):107-116.
- Voogd J (1998) Vestibular nuclei. In: Nieuwenhuys R, ten Donkelaar HJ, Nicholson C. editors. *The Central Nervous System of Vertebrates Vol.3*. Berlin Heidelberg: Springer pp 1832-1837.
- Wachowitz S, Ewert JP (1996) A key by Which the toad's visual system gets access to the domain of prey. *Physiol Behav.* 60 (3):877-887.
- Weerasuriya A (1989) In search of the motor pattern generation for snapping in toads. In: Ewert JP, Arbib MA (Eds), *Visuomotor Coordination: Amphibians, Comparisons, Models, and Robots*. Plenum, New York, 589-614.
- Weerasuriya A (1983) Snapping in toads: some aspects of sensorimotor interfacing and motor pattern generation. In: Ewert JP, Capranica RR, Ingle DJ (Eds), *Advances in Vertebrate Neuroethology*. Plenum, New York 613-627.

- Weerasuriya A (1991) Motor pattern generators in anuran prey-capture. In: Ewert JP, Arbib MA (Eds), Visual Structure and Integrated Functions. Research Notes in Neural Computing. Springer, New York, Berlin Heidelberg pp. 255-270.
- Westberg KG, Kolta A, Clavelou P, Sandström G, Lund JP (2000) Evidence for functional compartmentalization of trigeminal muscle spindle afferents during fictive mastication in the rabbit. *Eur J Neurosci* (4):1145-54.
- Westhoff G, Roth G, Straka H (2004) Topographic representation of vestibular and somatosensory signals in the anuran thalamus. *Neurosci* 124 (3):669-683.
- Wouterlood FG, Bockers T, Witter MP (2003) Synaptic contacts between identified neurons visualized in the confocal laser scanning microscope. Neuroanatomical tracing combined with immunofluorescence detection of post-synaptic density proteins and target neuron-markers. *J Neurosci Methods* 128 (1-2):129-142.
- Wouterlood FG, Van Haeften T, Blijleven N, Perez-Templado P, Perez-Templado H (2002) Double-label confocal laser-scanning microscopy, image restoration, and real-time three-dimensional reconstruction to study axons in the central nervous system and their contacts with target neurons. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 10 (1):85-95.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/49/2016.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kovalecz Gabriella
Neptun kód: KUCD47
Doktori Iskola: Fogorvostudományi Doktori Iskola

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kovalecz, G.**, Kecskés, S., Birinyi, A., Matesz, C.: Possible neural network mediating jaw opening during prey-catching behavior of the frog.
Brain Res. Bull. 119, 19-24, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2015.09.012>
IF: 2.718 (2014)
2. Matesz, C., **Kovalecz, G.**, Veress, G., Deák, Á., Rácz, É., Bácskai, T.: Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*.
Brain Res. Bull. 75 (2-4), 371-374, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2007.10.049>
IF: 2.281

További Közlemények

3. Alberth, M., Lampé, K., **Kovalecz, G.**, Nemes, J.: Peso estremamente basso alla nascita e salute orale nella regione nord-orientale dell'Ungheria = Extremely low birth weight and oral health in north-east part of Hungary.
Il Den. Mod. 33 (9), 76-88, 2015.
4. **Kovalecz, G.**, Alberth, M., Nemes, J.: Trattamento e profilassi del "den sin dente": Report di quattro casi clinici = Management and profilactic treatment of dens invaginatus: report of four cases.
Il Den. Mod. 33 (9), 130-140, 2015.



Cím: 4032 Debrecen, Egyetem tér 1. ☐ Postacím: 4010 Debrecen, Pf. 39. ☐ Tel.: (52) 410-443
E-mail: publikaciok@lib.unideb.hu ☐ Honlap: www.lib.unideb.hu



5. Alberth, M., Majoros, L., **Kovalecz, G.**, Borbás, E., Szegedi, I., Márton, I., Kiss, C.: Significance of oral Candida infections in children with cancer.
Pathol. Oncol. Res. 12 (4), 237-241, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF02893420>
IF:1.241
6. Szepesi M., Nemes J., **Kovalecz G.**, Alberth M.: A csíráhiányok előfordulási gyakoriságának vizsgálata a DEOEC FOK Gyermekfogászatán 1999 és 2003 között.
Fogorv. Szle. 99 (6), 115-119, 2006.
7. **Kovalecz G.**, Alberth M., Nemes J.: Luxálódott fiatal maradófogak ellátása két eset kapcsán.
Fogorv. Szle. 98 (1), 31-36, 2005.
8. Alberth, M., **Kovalecz, G.**, Nemes, J., Máth, J., Kiss, C., Márton, I.J.: Oral health of long-term childhood cancer survivors.
Pediatr. Blood Cancer. 43 (1), 88-90, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/pbc.20023>
IF:1.362

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: **7,602**

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
4,999

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudománymetriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2016.03.01.



8 TÁRGYSZAVAK

Tárgyszavak: nucleus motius nervi trigemini, nucleus motorius nervi facialis, nervus vestibularis, afferens terminalis, agytörzs, zsákmányszerző viselkedés, neuronális jelölési technika, neurolucida rekonstrukció.

Key words: nucleus motius nervi trigemini, nucleus motorius nervi facialis, nervus vestibularis, afferent terminals, brainstem, prey-catching behavior, neuronal labeling, neurolucida reconstruction.

9 KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kísérleteimet a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetében végeztem. Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Matesz Klára egyetemi tanárnak, aki magas szintű tudásával és tanácsaival munkámat segítette és lehetővé tette a doktori értekezésem elkészülését.

Köszönöm Dr. Hegedűs Csaba egyetemi tanárnak, a Fogorvostudományi Kar Dékánjának, hogy támogatta kutatómunkámat.

Köszönöm az Anatómia Intézet igazgatójának, Dr. Antal Miklós egyetemi tanárnak, hogy a kísérletek elvégzését lehetővé tette az intézetben, és bekapcsolódhattam az intézet színvonalas kutatómunkájába.

Köszönöm mindazoknak a munkáját, akik a kísérletek technikai kivitelezésében segítségemre voltak, elsősorban Dr. Kecskés Szilviának, Dr. Birinyi Andrásnak, Dr. Bácskai Tímeának, Horváth Tímeának és a laboratórium többi dolgozójának, akik szakértelmükkel és segítségükkel hozzájárultak az értekezésemhez.

Köszönöm férjemnek, gyermekeimnek, családom többi tagjának, a DE FOK Gyermekfogászati és Fogszabályozási Tanszék dolgozóinak a bizalmat és a türelmet.

10 FÜGGELÉK