

A szenzoros és motoros működés integrációja békák zsákmányszerző viselkedése során

Rácz Éva

Egyetemi doktori (Ph.D.) értekezés



Témavezető: Dr. Matesz Klára

Debreceni Egyetem, Orvos- és Egészségtudományi Centrum

Általános Orvostudományi Kar

Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet

Debrecen, 2008

Tartalomjegyzék

A dolgozatban előforduló rövidítések jegyzéke	4
1. Bevezetés	6
2. Irodalmi áttekintés	8
2. 1. A vestibularis rendszer	8
2. 1. 1. A perifériás vestibularis rendszer	8
2. 1. 1. 1. A vestibularis receptorok	8
2. 1. 1. 2. A nervus vestibulocochlearis lefutása	9
2. 1. 2. A centrális vestibularis rendszer	10
2. 1. 2. 1. A primer vestibularis afferens rostok végződési területei	11
2. 1. 2. 2. A vestibularis magkomplex afferens kapcsolatai	12
2. 1. 2. 3. A vestibularis magkomplex efferens kapcsolatai	12
2. 2. A kisagy (cerebellum)	13
2. 2. 1. A béka kisagy felépítése	13
2. 2. 2. A kisagy afferens kapcsolatai	14
2. 2. 3. A kisagy efferens kapcsolatai	15
2. 3. A zsákmányszerző viselkedés morfológiai háttere	16
2. 3. 1. A nucleus nervi hypoglossi zsákmányszerző viselkedésben betöltött szerepe	19
3. Célkitűzések	22
4. Anyagok és módszerek	24
4. 1. Kísérleti állat	24
4. 2. A vestibularis afferens rostok és a gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai	25
4. 2. 1. A nervus vestibulocochlearis különböző vestibularis receptor szervekhez futó idegágainak, valamint a C2, L8 és L9 gerincvelői idegek szelektív jelölése	25
4. 2. 2. Fixálás és preparálás	26
4. 2. 3. Beágyazás és metszés	27
4. 2. 4. A jelölőanyag előhívása	27
4. 2. 4. 1. A reakció kivitelezése	27
4. 2. 5. Tárgylemezre történő felvitel és lefedés	28
4. 2. 6. A dye-coupled szemcses sejtek feltérképezése	28
4. 3. A nyelv protraktor és retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok szerveződése	28
4. 3. 1. Preparálás és a jelölőanyag injektálása	28
4. 3. 2. Feldolgozás	29
5. Eredmények	31
5. 1. A vestibularis afferens rostok és a gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai	31
5. 1. 1. A vestibularis afferens rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai	32
5. 1. 1. 1. A félkörös ívjáratok kisagyi célterülete	33
5. 1. 1. 1. 1. Mediolateralis irányú térképezés	33
5. 1. 1. 1. 2. Rostrocaudalis irányú térképezés	35
5. 1. 1. 1. 3. Dorsoventralis irányú térképezés	37
5. 1. 1. 2. Az otolith szervek kisagyi célterülete	38
5. 1. 1. 2. 1. Mediolateralis irányú térképezés	38
5. 1. 1. 2. 2. Rostrocaudalis irányú térképezés	40

5. 1. 1. 2. 3. Dorsoventralis irányú térképezés.....	41
5. 1. 2. A gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai.....	42
5. 1. 2. 1. Mediolateralis irányú térképezés	43
5. 1. 2. 2. Rostrocaudalis irányú térképezés	45
5. 1. 2. 3. Dorsoventralis irányú térképezés.....	46
5. 2. A nucleus nervi hypoglossi utolsó rendű premotor interneuronjainak szerveződése	48
5. 2. 1. A nyelv protraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok vizsgálata.....	48
5. 2. 1. 1. Az utolsó rendű premotor interneuronok eloszlása az agytörzs területén.....	48
5. 2. 1. 2. Az utolsó rendű premotor interneuronok morfológiai tulajdonságai	51
5. 2. 2. A nyelv retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok vizsgálata.....	52
5. 2. 2. 1. Az utolsó rendű premotor interneuronok eloszlása az agytörzs és a gerincvelő területén	52
5. 2. 2. 2. Az utolsó rendű premotor interneuronok morfológiai tulajdonságai	54
6. Megbeszélés	57
6. 1. A vestibularis afferens rostok és a gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye- coupled kapcsolatai.....	57
6. 1. 1. A dye-coupled neuronális jelölési módszer.....	57
6. 1. 2. A primer afferens rostokkal kapcsolatban álló kisagyi dye-coupled szemcses sejtek eloszlási mintázata	58
6. 1. 3. Az elektromos transzmisszió szerepe a mozgáskoordinációt szabályozó szenzorimotoros rendszer működésében	63
6. 2. A nyelv protraktor és retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok szerveződésének vizsgálata.....	67
6. 2. 1. BDA alkalmazásával történő retrográd neuronális jelölési módszer.....	67
6. 2. 2. Az utolsó rendű premotor interneuronok szerveződése	68
6. 2. 3. A zsákmányszerző magatartás neuronális háttere	70
7. Összefoglalás, eredmények jelentősége.....	72
Summary.....	74
Köszönetnyilvánítás	76
Irodalomjegyzék	77
Saját közlemények jegyzéke.....	87

A dolgozatban előforduló rövidítések jegyzéke:

ABC: avidin - biotin komplex
BDA: biotinilált dextran - amin
C: canalis centralis
CC: corpus cerebelli
CD: cornu dorsale
Cn: kisagyi magok
CPG: central pattern generator, központi ritmus generátor
C2: 2. cervicalis gerincvelői ideg
D: dorsalis
DAB: 3,3-diaminobenzidin-tetrahidroklorid
De: a Purkinje-sejt dendritje
DM: nucleus nervi hypoglossi, dorsomedialis subnucleus
E: elülső félkörös ívjárat
FLM: fasciculus longitudinalis medialis
FR: formatio reticularis
Gr: stratum granulosum, kisagyi szemcses sejtek
GRA: glycyrrhetin sav
H: hátsó félkörös ívjárat
HM: hátsó kötegi magok
IM: nucleus nervi hypoglossi, intermedius subnucleus
IN: interneuronok
L: a hátyás labirintus vestibularis receptorai
LA: lobus auricularis
L8: 8. lumbalis gerincvelői ideg
L9: 9. lumbalis gerincvelői ideg
M: medialis
Mol: stratum moleculare
NA: nucleus ambiguus
NM: nucleus marginalis (Hoffmann mag)
nspV: nucleus tractus spinalis nervi trigemini
nTS: nucleus tractus solitarii

NVD: nucleus vestibularis descendens
NVL: nucleus vestibularis lateralis
NVM: nucleus vestibularis medialis
NVS: nucleus vestibularis superior
N. VIII., VIII.: nervus vestibulocochlearis
P: proprioceptor
PB: phosphate buffer
PBS: phosphate buffer saline
PHA-L: Phaseolus vulgaris leucoagglutinin
PHy: nucleus prepositus hypoglossi
PI: utolsó rendű premotor interneuron
PS: Purkinje-sejt
R: rostralis
Ra: nucleus raphe
Ri: nucleus reticularis inferior
Rm: nucleus reticularis medius
S: sacculus
SpMN: spinalis motoneuronok
TRIS: TRIS puffer
U: utriculus
VL: nucleus nervi hypoglossi, ventrolateralis subnucleus
2ndVN: szekunder vestibularis neuronok
IV: IV. agykamra
XII: nucleus nervi hypoglossi

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

1. Bevezetés

Az evolúció során a kétéltűek (*Amphibia*) központi idegrendszerének szerveződése és működése meglehetősen magas fejlettségi szintet ért el. A ma élő kétéltűek közül kiemelhetjük a békák (*Anuran*) rendjét, hiszen viselkedési reakcióik tekintetében kimagaslóan alkalmazkodtak életformájukhoz. Egyedülálló magatartási reakcióikra vonatkozóan mind morfológiai, mind fiziológiai ismereteink egyre inkább bővülnek, ennek ellenére számos kérdés vár még megválaszolásra annak érdekében, hogy ezeket a komplex rendszereket teljes egészében átláthassuk. A békák túlélése szempontjából óriási jelentőséggel bír a zsákmányszerző és táplálkozási magatartás során a test egyensúlyi helyzetének megtartása, valamint a rendkívül gyors, célirányos mozgások megfelelő koordinálása, melyeknek hátterében egy bonyolult szenzorimotoros rendszer integrált működése áll. E bonyolult rendszer működésében központi szerepet tölt be a kisagy (cerebellum), mely szerteágazó afferens és efferens kapcsolatain keresztül a test egyensúlyi helyzetének megtartása mellett, a mozgást szabályozó motoros kimenetek megfelelő időzítését is biztosítja (Anderson, 2001). Az egyensúly megtartásában jelentős szerepet játszanak a kisagy és a vestibularis rendszer között jelenlévő reciprok kapcsolatok (Stern és Robinson, 1971; Kuruvilla és mtsai., 1985; Matesz és mtsai., 2002). A cerebellum aktivitását a vestibularis rendszer felől érkező információk mellett a bőr, az izmok és az ízületek receptoraiból származó szomatoszenzoros impulzusok is nagymértékben befolyásolják, melyek elengedhetetlenül szükségesek a gyors, célirányos mozgások megfelelő koordinációjához (González és mtsai., 1984; Muñoz és mtsai., 1997). A zsákmányszerző viselkedést valamilyen vizuális stimulus indítja el, így a mozgó tárgy (zsákmány) képi ingerére kiváltott ingerület a látóidegen (n. opticus) keresztül a retinából a tectum opticumba szállítódik. Korábbi fiziológiai megfigyelések alapján azt feltételezik, hogy a sztereotíp elemeket tartalmazó mozgásmintázat az idegrendszerbe be van programozva, és a program végrehajtásáért a „központi ritmus generátornak” (central pattern generator, CPG) nevezett neuronhálózat felelős (Grobstein és mtsai., 1983; Ewert, 1984; Matsushima és mtsai., 1989). A CPG-be mind a központi, mind a perifériás idegrendszer számos területéről (tectum opticum, kisagy, vestibularis magkomplex, motoros agyidegi magok) érkeznek direkt vagy indirekt módon szenzoros, illetve motoros impulzusok, melyek együttesen határozzák meg a magatartás mintázatát (Anderson és Nishikawa, 1996). Feltételezik, hogy a központi ritmus generátor területéről származó

információ az ún. utolsó rendű premotor interneuronokon keresztül éri el a motoros agyidegi magokat, amelyek közvetlenül befolyásolják az adott mozgás végrehajtásában résztvevő izmok aktivitását (Matsushima és mtsai., 1989; Ewert és mtsai., 1990; Schwippert és mtsai., 1990). Ezen motoros magok közül kiemelhetjük a nucleus nervi hypoglossit, mely a zsákmányszerző viselkedés egyik fontos efferens komponense, és amely a nyelv protrakciójában és retrakciójában szerepet játszó izmok aktiválásáért felelős (Matesz és mtsai., 1999). A leírtak alapján látható tehát, hogy a zsákmányszerző viselkedés során a rendkívül gyors, célirányos mozgások kivitelezését végző bonyolult idegrendszeri körfolyamatokban az agytörzs és a kisagy, valamint ezek afferens és efferens kapcsolatai igen fontos szerepet töltenek be. Ezen bonyolult folyamatok megértéséhez alapvetően szükséges a kapcsolatok morfológiai hátterének felderítése. A munkám során kapott eredményekkel szeretnék hozzájárulni két, ez idáig felderítetlen terület vizsgálatához. Mivel bizonyított, hogy a vestibularis afferenseken, valamint a gerincvelői hátsó kötegi rostokon keresztül szállított információk nagymértékben befolyásolják a cerebellum aktivitását, kísérleteim első részében célul tűztem ki az egyes vestibularis receptor szervek, valamint a C2, L8 és L9 gerincvelői idegek kisagyi kapcsolatainak tanulmányozását. Meglehetősen kevés információ áll rendelkezésünkre a tectum opticum és a hypoglossus mag közötti információáramlásról, de az alapján, hogy a tectumból érkező direkt rostterminálisokat ez idáig nem sikerült kimutatni a mag motoneuronjain (Rubinson, 1968; Lazar, 1969), feltételezhetjük a közbeiktatott utolsó rendű premotor interneuronok jelenlétét. Mivel a hypoglossus mag premotor interneuronjairól nem áll rendelkezésünkre morfológiai információ, munkám második részében célul tűztem ki azon interneuronok eloszlásának vizsgálatát, melyek a nyelv protractor, illetve retraktor izmaival állnak kapcsolatban.

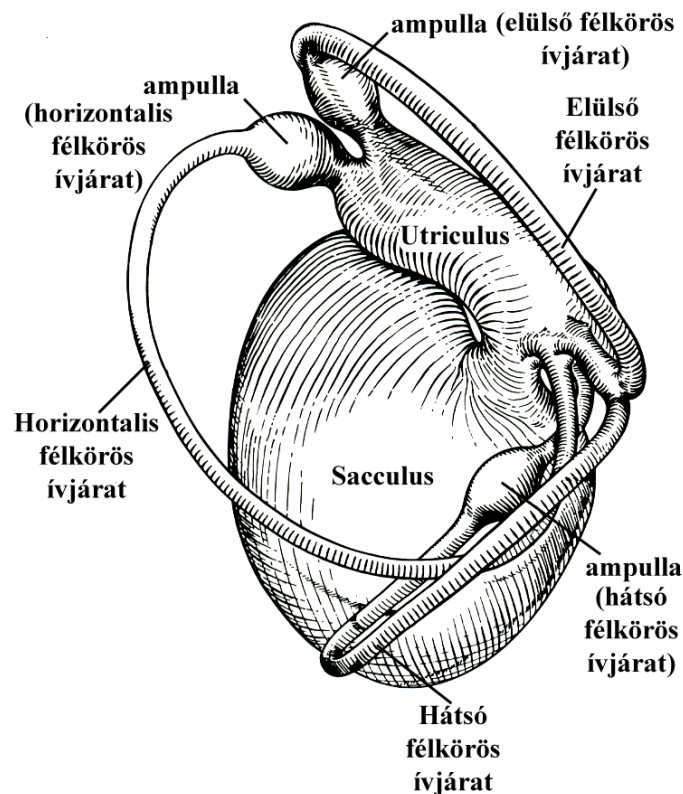
2. Irodalmi áttekintés

2. 1. A vestibularis rendszer

2. 1. 1. A perifériás vestibularis rendszer

2. 1. 1. 1. A vestibularis receptorok

Békák esetében a capsula oticumban helyezkedik el a belső fül, melynek kialakításában egy bonyolult üregrendszer, a csontos labirintus, valamint az azon belül elhelyezkedő hártvás labirintus vesz részt. A csontos és hártvás labirintus közötti teret az extracellularis folyadékhoz hasonló összetételű perilympha tölti ki, míg a hártvás labirintusban található endolympha összetétele az intracellularis folyadékhoz hasonló. A vestibularis receptorok a hártvás labirintus specializált régióiban helyezkednek el. Hat receptor struktúrát különíthetünk el: három félkörös ívjáratot és három otolith szervet (1. ábra).

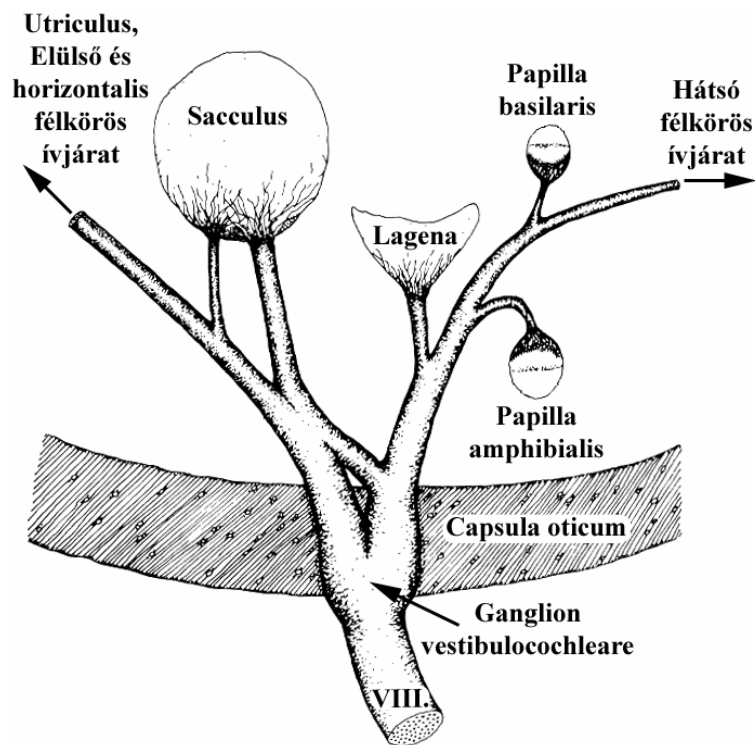


1. ábra: A hártvás labirintus felépítése (Hillman után módosítva, 1976).

A hat vestibularis receptor szerv funkciója hasonló, de nem teljesen azonos. A félkörös ívjáratok (elülső, hátsó és horizontális) a szöggyorsulást, az otolith szervek (sacculus, utriculus és lagena) pedig a lineáris gyorsulást érzékelik. Külön figyelmet érdemel, hogy a lagena és a sacculus receptorai felől érkező afferensek nem kizárólag a vestibularis központokat látják el, hanem a nucleus cochlearis felé is közvetítenek információt (Matesz, 1979). A szöggyorsulás receptorai a crista ampullarisok, melyek a félkörös ívjáratok ampulláiban helyezkednek el. A lineáris gyorsulást az utriculus alapi részén, illetve a sacculus medialis falán található receptorok, a macula utriculi és sacculi érzékelik (**1. ábra**). Az egyes vestibularis szervekben lévő receptor sejteket primer afferensek idegzik be, melyek a halló receptorokból származó rostokhoz csatlakozva alkotják a vestibulocochlearis (N. VIII.) agyideget (Hillman, 1976).

2. 1. 1. 2. A nervus vestibulocochlearis lefutása

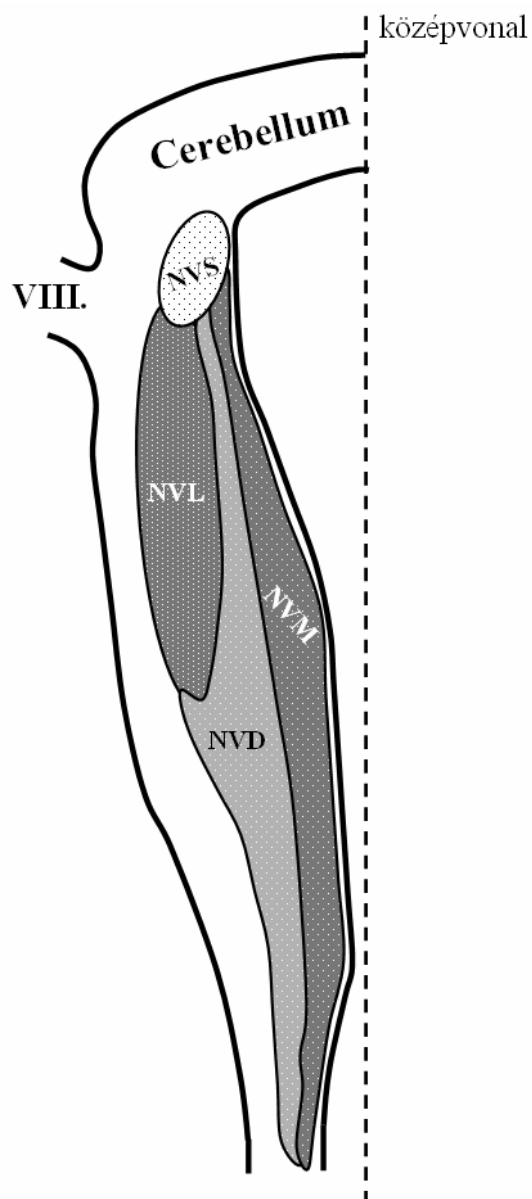
A nervus vestibulocochlearis a belső fülbe történő belépéséhez közel egy bipoláris sejtekből álló megvastagodást, a vestibulocochlearis gangliont hozza létre. A ganglion distalisan az agyideg két osztatában folytatódik, melyek közül az elülső kizárólag az egyensúlyérző (vestibularis) receptorokkal áll kapcsolatban, míg a hátsó részt vesz mind a halló (cochlearis), mind a vestibularis receptorok beidegzésében. A capsula oticumba belépve az elülső osztat első oldalága a sacculus egy részét látja el, a második az utriculus felé irányul, majd a főtörzs ketté válva ellátja az elülső és horizontális félkörös ívjáratok ampulláiban elhelyezkedő receptorokat (Honrubia és mtsai., 1984). A hátsó osztat szintén ágakra válik, melyek beidegzik a sacculus maradék részét, a lagenat, a hátsó félkörös ívjárat ampulláját, valamint a papilla amphibialist és a papilla basilarist (Geisler és mtsai., 1964). A papilla amphibialis és a papilla basilaris receptorai a hallórendszer részét képezik (**2. ábra**). Proximalis irányban a nervus vestibulocochlearis ganglionjában található bipoláris sejtek axonjai az agytörzsbe belépve elsősorban a vestibularis magkomplex területén végződnek (Hillman, 1976).



2. ábra: A vestibulocochlearis ganglion és a VIII. agyideg perifériás ágainak sematikus rajza, az egyedi vestibularis receptorok beidegzését mutatva békában (Caprancia után módosítva, 1976).

2. 1. 2. A centrális vestibularis rendszer

A vestibularis receptorokból származó idegi információ a nervus vestibulocochlearis afferens rostjain keresztül elsősorban a vestibularis magkomplexbe szállítódik, mely a cerebellum caudalis részétől egészen az obexig kiterjed. A magkomplex négy vestibularis magból tevődik össze. A nucleus vestibularis superior (NVS) az agytörzs rostralis részén helyezkedik el, míg a nucleus vestibularis descendens (NVD) tőle caudalisabban található. A nucleus vestibularis medialis (NVM) a negyedik agykamra laterális oldalán, a híd és a nyúltvelő területén rostrocaudalis kiterjedésben figyelhető meg. A nucleus vestibularis laterális (NVL), mely nagyméretű, úgynevezett Deiters sejteket tartalmaz, a medialis magtól lateralisán fekszik (**3. ábra**). Az egyes vestibularis magok mind citoarchitektonikailag, mind afferens és efferens összeköttetéseiket illetően különböznek egymástól, de a kapcsolataikban mutatkozó eltérések még nem tisztázottak teljes mértékben.



3. ábra: A vestibularis magkomplex szerveződése békában. VIII.: nervus vestibulocochlearis, NVS: nucleus vestibularis superior, NVL: nucleus vestibularis lateralis, NVM: nucleus vestibularis medialis, NVD: nucleus vestibularis descendens.

2. 1. 2. 1. A primer vestibularis afferens rostok végződési területei

A nervus vestibulocochlearis primer afferens rostjai a híd hátsó részénél lépnek be az agytörzsbe, és elsősorban a vestibularis magkomplex területét célozzák meg. A különböző félkörös ívjáratokból és otolith szervekből származó afferensek végződési területei átfedést

mutatnak az egyes vestibularis magokban, de a kizárólagos végződési terület egyik receptor esetében sem igazolható (Matesz, 1979; Birinyi és mtsai., 2001). Az agytörzs területére belépő primer vestibularis afferens rostok egy része leszáll egészen a XII. agyidegi mag szintjéig, míg számos felszálló rost közvetlenül a kisagy, illetve a nucleus cerebelli területére projiciál (Hillman, 1969 a, 1972; Gregory, 1972; Mehler, 1972). Mindezek mellett a vestibularis rostok ellátják a nucleus acusticus és a formatio reticularis számos részét is (Kuruvilla és mtsai., 1985). Előzetes morfológiai és fiziológiai kutatások eredményei azt mutatják, hogy mind kétéltűekben, mind emlősökben a primer afferens rostok kémiai és elektromos szinapszisok révén létesítenek kapcsolatot szekunder vestibularis neuronjaikkal (Precht és mtsai., 1974; Babalian és Shapovalov, 1984; Straka és Dieringer, 1996; Birinyi és mtsai., 2001).

2. 1. 2. 2. A vestibularis magkomplex afferens kapcsolatai

A vestibularis magok a periférián található vestibularis receptorokon kívül a központi idegrendszer számos területéről is bemenetet kapnak, melyek közül kiemelhetjük a kisagyi Purkinje-sejteket (Hillman, 1969 b; Stern és Rubinson, 1971), valamint a formatio reticularist és gerincvelőt (Joseph és Whitlock, 1968).

2. 1. 2. 3. A vestibularis magkomplex efferens kapcsolatai

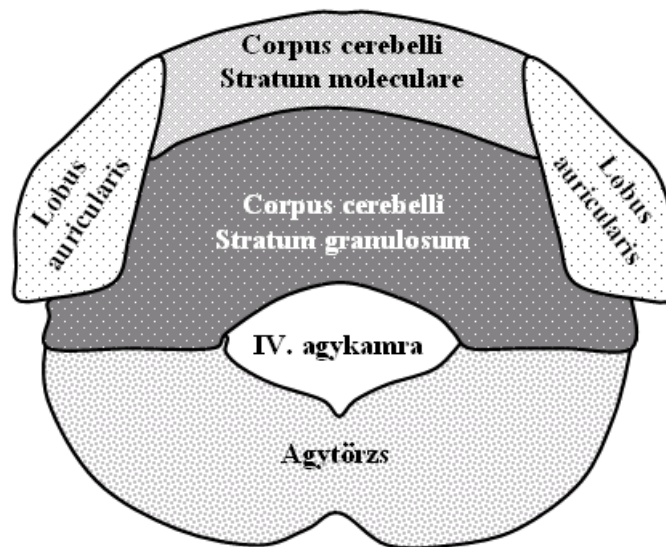
A vestibularis magokban található ún. szekunder vestibularis neuronok legfontosabb célállomásai a cerebellum, az agytörzsben található szemmozgató agyidegi magok, a formatio reticularis és a gerincvelő (Montgomery, 1988; Matesz és mtsai., 2002). A szekunder vestibularis rostok elsősorban a fasciculus longitudinalis medialis (FLM), valamint a tractus vestibulospinalis közvetítésével érik el célterületüket. A gerincvelőbe leszálló rostok terminálisai közvetve, vagy közvetlenül az izmokat beidegző motoneuronokon végződnek, így azok aktivitását nagymértékben befolyásolják. A vestibulospinalis összeköttetések, a vestibulocerebellaris kapcsolatok, valamint a vestibularis rendszer tectum opticummal létrehozott reciprok kapcsolata jelentős mértékben hozzájárul a test egyensúlyi helyzetének megtartásához (Corvaja és Grofová, 1972; Corvaja és mtsai., 1973; Fuller, 1974). Az oculomotorius, trochlearis és abducens magokban végződő vestibularis rostok által létrehozott vestibulo-ocularis összeköttetések helyzetváltoztatás során a kompenzáló szemmozgásokat biztosítják (Straka és Dieringer,

2004). Igen nagyszámú vestibularis terminális található a formatio reticularis területén, ahonnan az információ az agytörzsi és gerincvelői vegetatív központok felé továbbítódik. A kétoldali vestibularis magkomplexet összekötő commissuralis kapcsolatok lehetővé teszik az ellenoldali félkörös ívjáratokból és otolith szervekből érkező információk összehasonlítását, ezáltal szerepet játszanak a vestibularis kompenzáció biztosításában, mely főként a testtartásra irányul (Grofová és Corvaja, 1972; Fuller, 1974).

2. 2. A kisagy (cerebellum)

2. 2. 1. A béka kisagy felépítése

Békákban a kisagy két nagy részre osztható. Középen található a corpus cerebelli, két oldalon pedig a lobus auricularis, mely utóbbi a vestibulocerebellumot alkotja (Larsell, 1967; Nieuwenhuys, 1967). Szövettanilag három fő réteget különíthetünk el. Dorsalisan helyezkedik el a stratum moleculare, mely nagyszámú, haránt irányú rostot és csak kevés sejtes elemet tartalmaz. A középső réteget a Purkinje-sejtek alkotják, míg ventralisan a stratum granulosum található, mely sűrűn egymás mellett elhelyezkedő szemcsesejteket, valamint számos rostot tartalmaz. A lobus auricularis szövettanilag a stratum granulosum rétegéhez tartozik (**4. ábra**).



4. ábra: A béka agy coronalis metszete a kisagy magasságában.

Az idegrendszer különböző területeiről a kisagyba érkező bemenetek moharostok formájában végződnek a szemcsesejteken, melyek axonjai, a parallel rostok belépve a stratum moleculare területére, kapcsolatot létesítenek a Purkinje-sejtek dendritfájával (Hillman, 1969 a, b; Llinás és mtsai., 1969; Sotelo, 1976). A Purkinje-sejtek továbbá bemenetet kapnak a kúszórostokon keresztül az oliva inferiorból (Straka és Dieringer, 1992), majd a kapott információkat összegezve ezen sejtek biztosítják a kisagyból kilépő információ továbbítását a megfelelő célterületek felé. Külön figyelmet érdemel a nucleus cerebelli, mely egy lateralisabban elhelyezkedő, a kisagyi pedunculusba beágyazott, nagyméretű bipoláris sejtek csoportjából, valamint egy medialisabban, a stratum granulosum szemcsesejtjei között található kisebb sejtcsoportból tevődik össze (Gregory, 1974; Opdam és mtsai., 1976). Ez a terület mintegy átkapcsoló állomásként szolgálhat a kisagy afferens és efferens kapcsolatai számára.

2. 2. 2. A kisagy afferens kapcsolatai

A kisagy szerteágazó afferens kapcsolatokkal rendelkezik. Emlősöktől eltérően mind szekunder, mind primer vestibularis afferens rostokat fogad, amelyek kémiai és elektromos szinapszisokon keresztül végződnek a szemcsesejteken (Llinás és Precht, 1972; Sotelo, 1976; Matesz, 1979; Kuruvilla és mtsai., 1985; Montgomery, 1988; Matesz és mtsai., 2002). A primer vestibularis rostok közvetlenül a vestibularis ganglionból erednek (Matesz, 1979; Altman és Dawes, 1983), míg a szekunder afferensek a vestibularis magkomplex területéről származnak (Fuller, 1974). A felszálló rostok egy része belép az auricularis lebenybe, majd gazdagon elágazódik, és moharostok formájában végződik a stratum granulosum rétegében. Az afferensek egy kisebb csoportja a corpus cerebellit célozza meg, néhányan pedig átkereszteződnek és a kontralateralis oldalon végződnek (Matesz és mtsai., 2002). A vestibularis rendszer és a kisagy közötti reciprok kapcsolat a szemmozgás, a fejmozgás és a testtartás magas szintű szabályozását biztosítja.

Kiemelhetjük a spinocerebellaris kapcsolatok jelentőségét. A gerincvelőből származó szomatoszenzoros rostok a tractus spinocerebellaris dorsalis és ventralis közvetítésével érkeznek a kisagy területére (Joseph és Whitlock, 1968; Ebbesson, 1969, 1976; Hayle, 1973; Antal és mtsai., 1980; Szekely és mtsai., 1980). Az izomorsókból a tractus spinocerebellaris dorsalisra keresztül proprioceptív információt szállító rostok eléri az agytörzsi hátsó kötegei magokat, majd innen közvetlenül a kisagy stratum granulosumába

projiciálnak (Rushmer, 1970; Ebbesson, 1976; Antal és mtsai., 1980; Szekely és mtsai., 1980; González és mtsai., 1984; Muñoz és mtsai., 1997). A tractus spinocerebellaris ventralis bilateralisan ered a gerincvelői szürkeállomány ventromedialis és ventrolateralis részéből, így indirekt információt továbbít a szomatoszenzoros receptorokból a kisagy felé (González és mtsai., 1984). A szomatoszenzoros receptorokból érkező primer afferens hátsó kötegi rostok a kisagy mellett az agytörzs és a gerincvelő számos területével kapcsolatban állnak. Felszálló rostok érkeznek a nyúltvelő (medulla) és a nucleus tractus spinalis nervi trigemini területére, de gazdag beidegzést kap a formatio reticularis és a vestibularis magkomplex is (Antal és mtsai., 1980). A vestibularis magok és a kisagy területén végződő hátsó kötegi rostok elsősorban a gerincvelő végtagokat beidegző szegmentumaiból erednek (Antal és mtsai., 1980; Szekely és mtsai., 1980).

Nagyszámú szomatoszenzoros projekció érkezik a cerebellumba a nucleus descendens nervi trigemini területéről (Muñoz és mtsai., 1992, 1994 b, 1995).

Az emlősökben ismert, oliva inferiorral homológ terület projekciói képzik békákban a kúszórostok rendszerét, melyek a kisagyi Purkinje-sejtek dendritjeivel lépnek kapcsolatba (Cochran és Hackett, 1977). A rhombencephalon ezen része, melyet precerebellaris magnak tekinthetünk, elsősorban a gerincvelőtől kap bemeneteket (Ebbesson, 1969, 1976).

Az emlősökben ismert nucleus prepositus hypoglossi homológjának tekintik a nucleus raphe-t, mely szintén rendelkezik cerebellaris összeköttetésekkel.

A legrostralisabban elhelyezkedő terület, amelytől a kisagy afferens bementeket kap, a tectum mesencephali. Ez a kapcsolat biztosítja a vizuális stimulus hatására kiváltott ingerület továbbítását a kisagy felé (Sotelo, 1976; Ansorge és Grüsser-Cornehls, 1977).

2. 2. 3. A kisagy efferens kapcsolatai

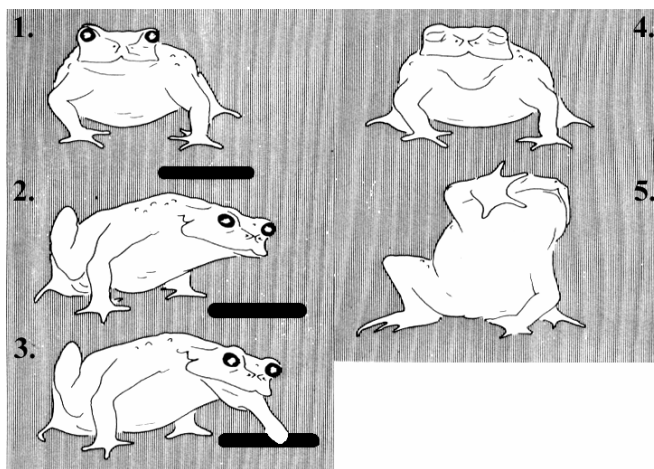
A kisagyból kilépő efferens rostok fő célállomása a vestibularis magkomplex, melyet vagy közvetlenül, a Purkinje-sejtek axonjain keresztül, vagy a nucleus cerebelli közvetítésével érnek el. Ezen rostok elsősorban a magkomplex ipsilateralis oldalát célozzák meg, de bizonyítottak kontralateralis kapcsolatok is (Stern és Robinson, 1971). Irodalmi adatok szerint a lobus auricularis területén létezik néhány olyan Purkinje-sejt, mely a VIII. agyidegen keresztül a labirintusba projiciál (Hillmann, 1972), és ezáltal mintegy visszacsatolásként, az ott található receptorokra gátló hatást gyakorol (Llinás és Precht, 1969).

A kisagy efferens kapcsolatai közül kiemelhetjük azon projekciókat, melyek a nucleus cerebelliből erednek, és a nervus oculomotorius tegmentumban található magját célozzák meg (Grover, 1983).

Szintén nagy jelentőséggel bír a nucleus ruber és a kisagy nucleus cerebellin keresztül fenntartott reciprok kapcsolata, hiszen a nucleus ruber, a kontralateralis gerincvelői szürkeállományból (Muñoz és mtsai., 1997), valamint a hátsó kötegi magok területéről (Muñoz és mtsai., 1994 a, 1995) kapott szomatoszenzoros bemeneteit ezen kapcsolaton keresztül a kisagy felé közvetíti (Keifer és mtsai., 1992).

2. 3. A zsákmányszerző viselkedés morfológiai háttere

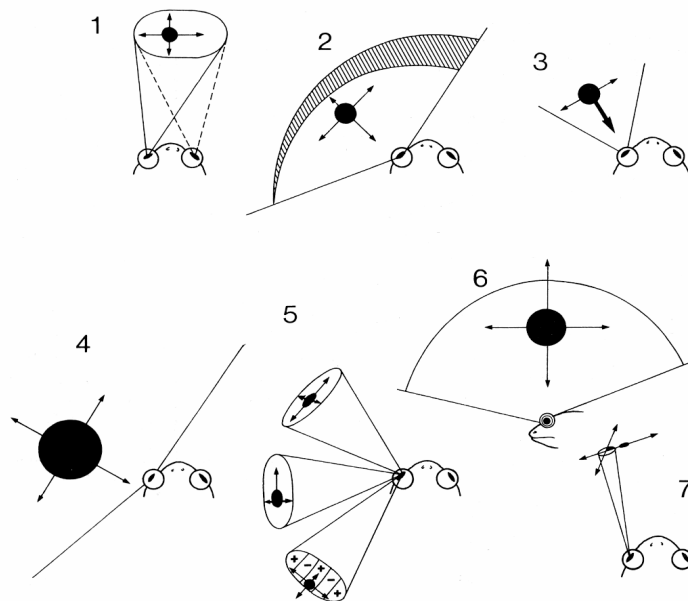
A zsákmányszerző viselkedés egy összetett és időben összerendezett mozgássorozat, ami a zsákmány, azaz egy mozgó tárgy képi ingerére váltódik ki és láncreakciószerűen zajlik le. Az ingerforrásnak az állat látóterében való mozgása kiváltja a viselkedési mintázat első két lépését, vagyis a fej és a test többi részének a zsákmány felé történő orientációját (1) és a fixálást (2), majd ezt követi a megragadás (3), a nyelés (4) és végül a száj körüli bőr ingerlése miatt a törlés (5) (5. ábra).



5. ábra: A zsákmányszerző viselkedés fázisai (Ewert után módosítva, 1984).

Korábbi fiziológiai megfigyelések alapján azt feltételezik, hogy ez a viselkedési mintázat az állat idegrendszerébe be van programozva, és a program végrehajtásáért egy bonyolult neuronhálózat felelős, melyben központi szerepet tölt be a tectum opticum

(Ingle, 1976; Ewert, 1984, 1987). A tectum opticum elsősorban a retinától kap nagyrészt kontralateralis, kisebb részben ipsilateralis bemeneteket. Egyes vélemények szerint a zsákmány felismeréséért a retinában található neuronok felelősek, melyek közül kiemelhetjük a ganglion sejtek, mint specifikus detektorok jelentőségét (Barlow, 1953; Lettvin és mtsai., 1959, 1961; Maturana és mtsai., 1960). Ezen sejteket hat osztályba sorolhatjuk, melyek közül legalább négy vesz részt az ingerületnek a tectumba való továbbításában (Grüsser és Grüsser-Cornehls, 1976). Elképzelhető, hogy a ganglion sejtek az ingerforrás tekintetében különböző preferenciával rendelkeznek, de eltérő funkciójuk még nem tisztázott teljes mértékben. Más feltételezések szerint a zsákmány detektálásáért a tectumban található speciális sejtek felelősek (Lettvin és mtsai., 1961).

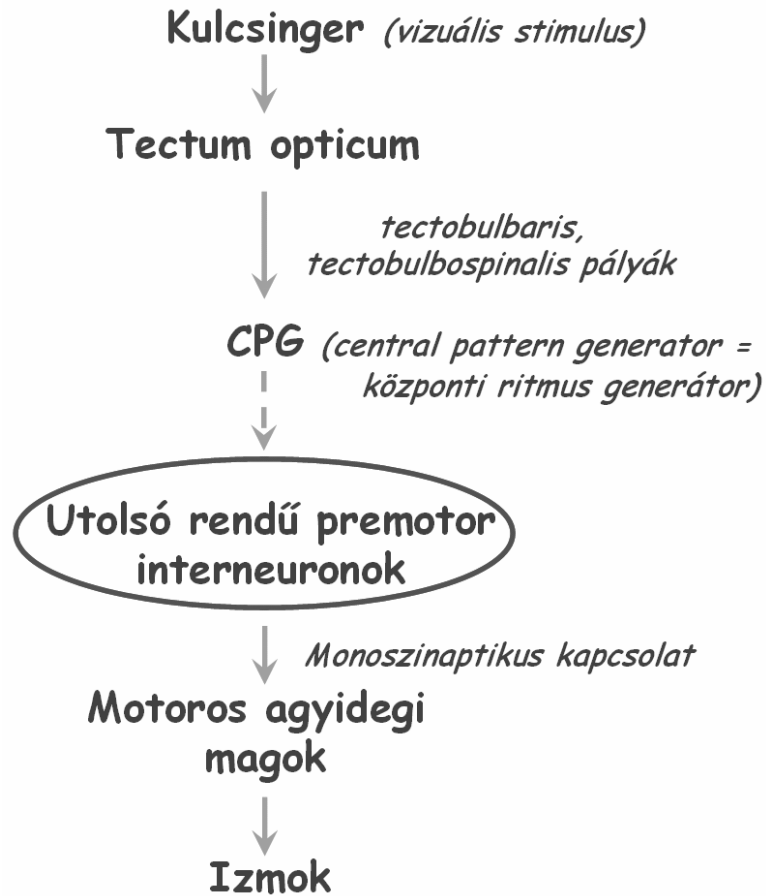


6. ábra: A tectum zsákmányfelismerésért felelős neuronjainak osztályozása az általuk érzékelt receptor mező nagysága szerint (T1-T7) (Grüsser és Grüsser-Cornehls után módosítva, 1970).

Neurofiziológiai vizsgálatok bebizonyították, hogy figyelembe véve a tectum neuronjainak alakját, méretét, lokalizációját és funkcióját, a sejteket két nagy csoportba sorolhatjuk. Az első csoportba tartoznak azok a neuronok, melyek kizárólag egy $4 - 40^\circ$ - os szöget bezáró, kis területű receptor mezőből kapnak bemenetet (T1, T3, T5 és T7), míg a másik csoport sejtjei viszonylag nagy receptor mezővel rendelkeznek ($90 - 360^\circ$) (T2, T4, T6) (Grüsser és Grüsser-Cornehls, 1976; Ewert, 1984; Grüsser-Cornehls, 1984; Gaillard, 1990) (6. ábra).

Egyes kutatási eredmények szerint a magasan specializált sejtcsoportok közül a T5 osztálynak van kiemelkedő szerepe a zsákmány azonosításában, azonban ez valószínűleg nem egyetlen sejtcsoport feladata, hanem a tectumban található bonyolult neuronhálózatok együttes működésének eredményeként jön létre (Ewert, 1984).

Meglehetősen kevés adat áll rendelkezésünkre arról, hogy a zsákmány felismerését követően az impulzusok milyen útvonalon keresztül érik el a motoros agyidegi magok területét. Az információ továbbításának négy lehetséges szintje van: az első maga a tectum, a második a tegmentum rostralis része és/vagy a regio isthmi, a harmadik a formatio reticularis, és végül a motoros agyidegi magok területe. A tectum két fő leszálló pályával rendelkezik. Az egyik az átkereszteződő tectobulbospinalis útvonal, a másik az át nem kereszteződő tractus tectobulbaris (Kostyk és Grobstein, 1982, 1987 a, b, c; Grobstein és mtsai., 1983; Ingle, 1983; Masino és Grobstein, 1989 a, b). Mindkét leszálló pálya kapcsolatban áll a motoros mintázatot (ritmust) generáló központokkal, melyek az említett leszálló pályákon kívül a perifériás és központi idegrendszer számos területéről kapnak szenzoros bemeneteket (Grobstein és mtsai., 1983; Matsushima és mtsai., 1989; Nishikawa és Gans, 1992). Feltételezések szerint a formatio reticularis olyan premotor központokat tartalmaz, melyekben az ún. utolsó rendű premotor interneuronok összegzik a központi ritmus generátorból származó impulzusokat, majd monoszinaptikus kapcsolatokon keresztül továbbítják azokat a motoros agyidegi magok motoneuronjai felé (Matsushima és mtsai., 1989; Ewert és mtsai., 1990; Schwippert és mtsai., 1990). Tehát a ritmus generáló központok és az utolsó rendű premotor interneuronok felelősek a motoneuronok térben és időben összehangolt működéséért, aminek eredményeként egy tüzelési mintázat generálódik és továbbítódik az izmok felé. Amellett, hogy az utolsó rendű premotor interneuronok serkentik egymást és a motoneuronokat, gátló interneuronokat is aktiválhatnak. Ez a folyamat egy olyan kapuzó mechanizmus részét képezi, ami gondoskodik arról, hogy a mozgási ciklus minden fázisában az afferens bemenetekre a megfelelő válaszok következzenek be (Roberts és Sillar, 1990). Ennek során a premotor interneuronok mellett szenzoros interneuronok is szerepet játszanak, melyek ritmusosan aktívak a helyzetváltoztatás során, és amelyek szinaptikus bemenetet kapnak a ritmus generáló központoktól (Sillar és Roberts, 1992) (**7. ábra**).



7. ábra: A zsákmányszerző viselkedés feltételezett jelátviteli útvonala.

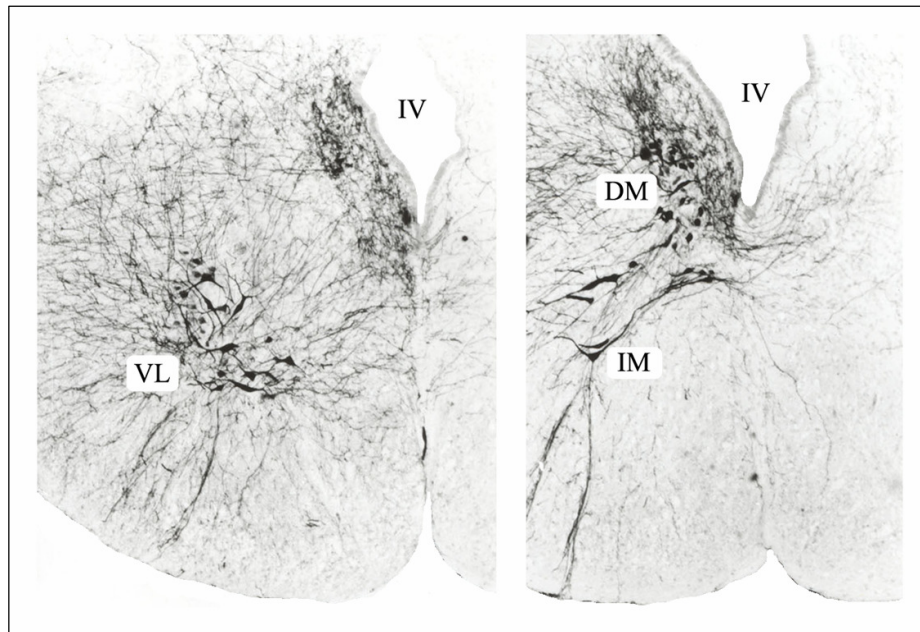
A zsákmányszerző magatartás kivitelezésében résztvevő izmok beidegzését három fő motoros mag végzi. Az állkapocszáró izmok (m. masseter major, m. temporalis) ellátásáért a nucleus motorius nervi trigemini felelős, míg a száj nyitását végző m. depressor mandibulae-t a nucleus nervi facialis motoneuronjai idegzik be. A nyelv izmainak koordinált működését a nucleus nervi hypoglossi biztosítja (Takei és mtsai., 1987).

2. 3. 1. A nucleus nervi hypoglossi zsákmányszerző viselkedésben betöltött szerepe

A zsákmányszerző viselkedés során láncreakciószerűen lezajló mozgássorozat fontos elemét képezi a nyelv protrakciója és retrakciója, melyek végrehajtását az extrinsic és intrinsic nyelvizmok beidegzésén keresztül a hypoglossus mag biztosítja. Az extrinsic

izmok közül kettő, a m. geniohyoideus és a m. genioglossus felelős a nyelv protrakciójáért (O'Reilly és Nishikawa, 1995), míg a retrakció a m. hyoglossus, a m. omohyoideus, valamint a m. sternohyoideus együttes működésének eredménye. Az intrinsic nyelvizmok, melyek a nyelv alakjának megtartásáért felelősek, mind a protrakció, mind pedig a retrakció alatt aktívak.

A hypoglossus mag három alegységre osztható, melyek motoneuronjai muszkulotópiás organizációt mutatnak (**8. ábra**).



8. ábra: A nucleus nervi hypoglossi alegységei kobalt-klorid jelölés után. VL: ventrolateralis subnucleus; DM: dorsomedialis subnucleus; IM: intermedius subnucleus; IV: IV. agykamra.

A dorsomedialis subnucleusban található neuronok elsődlegesen a protraktor izmok (m. geniohyoideus, a m. genioglossus) beidegzésében vesznek részt, de kapcsolatban állnak a m. hyoglossussal és az intrinsic izmokkal is. A ventrolateralis alegység sejtjei elsősorban a retrakciót végző izmokat idegzik be (m. sternohyoideus), melyek a nyelvcsont mozgásán keresztül végzik a nyelv visszahúzását, valamint ez a neuroncsoport részt vesz a m. geniohyoideus és az intrinsic izmok ellátásában is. Az intermedius subnucleus beidegzési területe átfedést mutat az első két neuroncsoportéval (m. genioglossus, m. omohyoideus, intrinsic izmok) (Matesz és mtsai., 1999).

A nervus hypoglossus az egyes subnucleusokból kilépő és a nyelvizmokat ellátó efferens rostok mellett, a nyelv területéről származó szenzoros afferens rostokat is

tartalmaz békában (Stuesse és mtsai., 1983), melyek visszacsatolásként szolgálnak a hypoglossus mag által kiadott parancs számára. Az agy területére a harmadik gerincvelői ideg dorsalis gyökerének szintjében belépő rostok felszálló pályákon (funiculus dorsomedialis) keresztül elsősorban ipsilateralisan érik el a kisagyi Purkinje-sejtek rétegét, valamint a formatio reticularis medialis részét. Ez a feedback mechanizmus koordinálja táplálkozás során a száj nyitásának időzítését és ezáltal a nyelv protrakcióját (Anderson és Nishikawa, 1993). A száj nyitása a nervus trigeminus által beidegzett fő állkapocszáró izom (m. adductor mandibulae) gátlásán és a nervus facialis által ellátott m. depressor mandibulae aktiválásán keresztül valósul meg (Nishikawa és Gans, 1992). Ez az összehangolt működés úgy jöhet létre, hogy a tectum opticum felől érkező vizuális impulzusok, a nervus hypoglossuson keresztül szállított proprioceptív bemenetek, valamint a kisagy, a vestibularis magkomplex, a nucleus tractus spinalis nervi trigemini és a nucleus nervi facialis felől érkező információk integrációja a formatio reticularis medialis részén történik, melyet az elsődleges motoros mintázatot generáló központnak tekintünk (Anderson és Nishikawa, 1997; Anderson, 2001). Ezen területre érkező impulzusok tehát együttesen határozzák meg a magatartás mintázatát (Anderson és Nishikawa, 1996).

3. Célkitűzések

Békákban a spinalis proprioceptív és a vestibularis rendszer afferens rostjai egészen a kisagyig követhetők, ahol moharostok formájában végződnek a szemcsesejtek dendritjein (Rushmer, 1970; Llinás és Precht, 1972; Ebbesson, 1976; Matesz, 1979; Antal és mtsai., 1980; Szekely és mtsai., 1980; González és mtsai., 1984; Kuruvilla és mtsai., 1985; Montgomery, 1988; Muñoz és mtsai., 1997; Matesz és mtsai., 2002). Ezen afferensek interakciója kiemelkedő fontossággal bír a cerebellum aktivitásának szabályozásában, és ezáltal a zsákmányszerző viselkedés során lezajló motoros folyamatok modulálásában. Korábbi vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a vestibularis receptor szervekből, valamint a proprioceptorokból származó afferens rostok a kémiai szinapszisok mellett gap junctionokon keresztül létesítenek kapcsolatot a kisgyi szemcsesejtekkel (Bacsikai és Matesz, 2002). Fénymikroszkópos szinten ezek a kapcsolatok, melyeket az elektromos jelátvitel morfológiai alapjainak tekintenek úgy vizsgálhatók, hogy alacsony molekulásúlyú jelölőanyagok in vivo áthaladnak rajtuk és kimutathatók a posztzinaptikus neuronokban. Így az elektromos szinapszisokat más néven dye-coupled kapcsolatoknak, a jelölt posztzinaptikus sejteket pedig dye-coupled neuronoknak nevezzük (Bass és mtsai., 1994; Pereda és mtsai., 1995; Velázquez és Carlen, 2000; Birinyi és mtsai., 2001; Bacsikai és Matesz, 2002). Korábbi vizsgálatok szerint a különböző vestibularis receptor szerveket beidegző afferens rostok a vestibularis magkomplex, valamint az agytörzs egyéb területein szomatotópiás lokalizációt mutatnak (Matesz, 1979; Kuruvilla és mtsai., 1985; Birinyi és mtsai., 2001). **Kísérleteink első részében a különböző vestibularis receptorokból, valamint a proprioceptorokból származó primer afferensek kisgyi dye-coupled kapcsolataira fókuszáltunk. Az elvégzett kísérletekkel azt szándékoztuk megvizsgálni, hogy a primer afferens rostok által jelölődött szemcsesejtek mutatnak-e szomatotópiás lokalizációt a kisgy területén.**

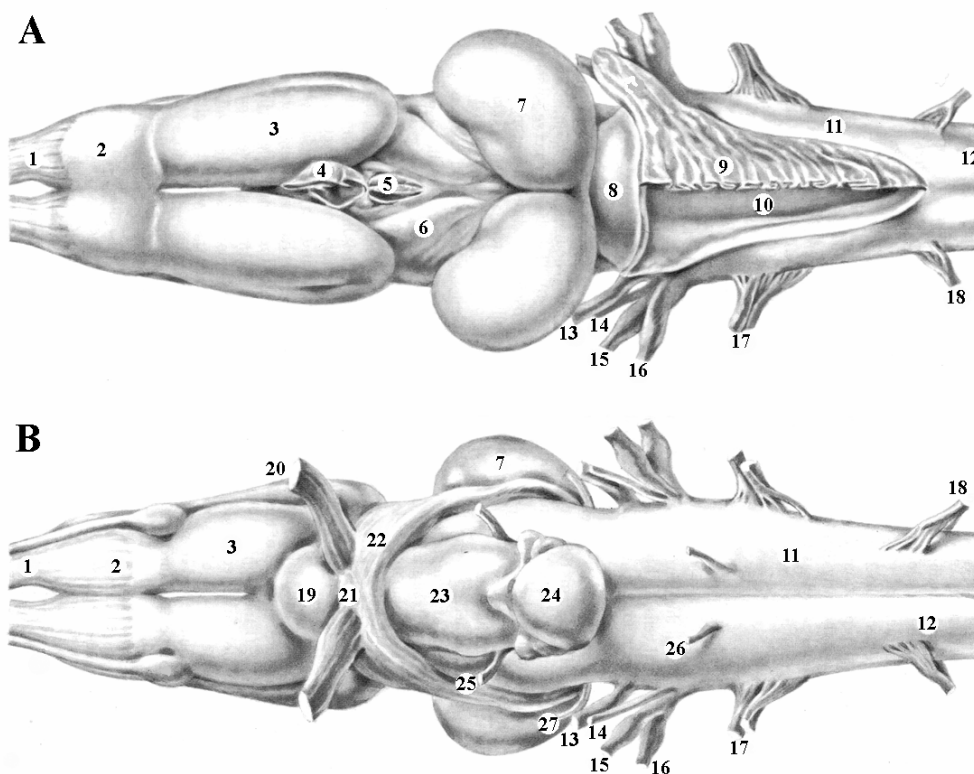
Zsákmányszerző viselkedés során vizuális stimulus hatására a retinában kiváltott ingerület a tectum opticumba szállítódik, majd onnan leszálló pályákon keresztül az agytörzs és a gerincvelő különböző motoros agyidegi magjai felé projiciál. Ezek közül kiemelhetjük a nucleus nervi hypoglossit, mely a nyelv izmainak koordinált működéséért felelős. Meglehetősen keveset tudunk a tectum opticum és a hypoglossus mag közötti információáramlásról, de az a tény, hogy a motoneuronokon ez idáig nem sikerült a tectum felől érkező közvetlen rostterminálisokat kimutatni (Rubinson, 1968; Lazar, 1969),

közbeiktatott utolsó rendű premotor interneuronok jelenlétére utal. Nem áll rendelkezésünkre információ ezen interneuronok eloszlására, illetve morfológiai sajátosságaira vonatkozóan, de annak tudatában, hogy a hypoglossus mag motoneuronjai muszkulotópiás organizációt mutatnak (Stuesse és mtsai., 1983., Sokoloff, 1991; Matesz és mtsai., 1999; Birinyi és mtsai., 2004), feltételezhetjük a velük kapcsolatban álló interneuronok hasonló elrendeződését. **Kísérleteink második részének célja a nyelv protraktor és retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok eloszlásának és morfológiai tulajdonságainak vizsgálata.**

4. Anyagok és módszerek

4. 1. Kísérleti állat

Számos tanulmány tárgyát képezi az általunk kísérleti állatként választott, a valódi békák családjába (*Ranidae*) tartozó kecskebéka (*Rana esculenta*) központi idegrendszerének vizsgálata. Ennek oka egyrészt, hogy Európában széles körben elterjedt, így viszonylag könnyen hozzáférhető kísérleti állat, másrészt, hogy számos, az idegrendszerük felépítésére és működésére vonatkozó információ áll már rendelkezésünkre. A **9. ábra** a kecskebéka központi idegrendszerének felépítését mutatja.



9. ábra: Az agytörzs, a kisagy és a gerincvelő kezdeti szakasza dorsalis (A) illetve ventralis (B) nézetből (Donkelaar után módosítva, 1998). 1. nervus olfactorius, 2. bulbus olfactorius, 3. telencephalon, 4. paraphysis cerebri, 5. epiphysis cerebri, 6. diencephalon, 7. tectum mesencephali, 8. cerebellum, 9. plexus choroideus, 10. ventriculus quartus, 11. rhombencephalon, 12. gerincvelő, 13. nervus trigeminus, 14. nervus facialis, 15. nervus

vestibulocochlearis (elülső osztat), 16. nervus vestibulocochlearis (hátsó osztat), 17. nervus glossopharyngeus, nervus vagus, 18. nervus spinalis 2, 19. preopticus area, 20. nervus opticus, 21. chiasma opticum, 22. tractus opticus, 23. infundibulum, 24. hypophysis cerebri, 25. nervus oculomotorius, 26. nervus abducens, 27. nervus trochlearis.

4. 2. A vestibularis afferens rostok és a gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai

Vizsgálatainkat összesen 87 kecskebékán (*Rana esculenta*) végeztük el. Az egyes idegágak szelektív jelöléséhez felhasznált állatok számát az **1. táblázat**ban foglaltuk össze.

A jelölt idegág	A felhasznált állatok száma	
	horizontalis metszet	keresztmetszet
Elülső félkörös ívjárat	5	3
Hátsó félkörös ívjárat	7	5
Horizontalis félkörös ívjárat	3	3
Utriculus	4	5
Sacculus	7	6
Lagena	3	4
C2	5	7
L8	4	5
L9	4	5
Összesen	42	43

1. táblázat: A különböző idegágak szelektív jelöléséhez felhasznált állatok száma.

4. 2. 1. A nervus vestibulocochlearis különböző vestibularis receptor szervekhez futó idegágainak, valamint a C2, L8 és L9 gerincvelői idegek dorsalis gyökerének szelektív jelölése

Az állatok altatása 0.1 % tricain-metán-szulfonáttal (MS 222, Sigma) történt transdermalisan.

A kecskebékák első csoportjában (n = 55) a szájüreget borító nyálkahártyát felvágtuk és a parasphenoidalis csont egy részét eltávolítottuk, így láthatóvá vált a capsula oticum, melynek felnyitását követően ventralis megközelítésből kipreparáltuk a VIII. agyideg

perifériás ágait. A vizsgálni kívánt receptorhoz haladó idegágat átvágtuk, majd az idegcsonk alá parafilm darabot helyeztünk. Jelölőanyagként neurobiotint (Vector, 286 Da) alkalmaztunk, melyről ismeretes, hogy behatol az axonok vékony oldalágaiba, és képes áthaladni a gap junctionokon is. A jelölőanyag nyomon követi az afferens rostok útját, melynek eredményeként dye-coupled neuronokat detektálhatunk a rostok végződési területein. A neurobiotin kristályokat az átvágott ideg proximalis csonkjára helyeztük, majd az operált területet szilikonolaj és zsír keverékével fedtük be annak érdekében, hogy a VIII. agyideg egyes ágai végződéseiken keresztül szelektíven jelölődjének és a jelölőanyag ne terjedjen át a szomszédos idegágakra. A beavatkozást követően az állatok nyálkahártyáját szövetragasztóval rögzítettük. A jelölőanyag néhány nap leforgása alatt axonalis transzport révén eljutott a cerebellumba.

A kecskebékák második csoportjában (n = 30) a megfelelő csigolyaívek eltávolítását követően kipreparáltuk a C2, L8 és L9 gerincvelői idegek dorsalis gyökerét. Ezek neurobiotinnal való szelektív jelölése a vestibularis ágakéhoz hasonlóan történt.

Minden egyes béka esetében csak egyetlen idegágat jelöltünk meg.

Az állatok harmadik csoportját (n = 2) a jelölt szemcses sejtek feltérképezéséhez kontrollként használtuk, így ezek esetében egyetlen idegágat sem jelöltünk meg. Az agytörzset a kisaggyal együtt eltávolítottuk, 10 % formalinnal történő fixálást követően paraffinba beágyaztuk, majd 30 µm vastagságú horizontális, illetve coronalis metszeteket készítettünk. A metszeteket deparaffinálást és rehidrációt követően cresylbolyával festettük meg, majd dehidrációs után lefedtük azokat.

4. 2. 2. Fixálás és preparálás

A békákat 3 - 6 napos túlélési időt követően a fent leírt módon ismét elaltattuk és transcardialisan perfundáltuk fiziológiás sóoldattal, majd pedig fixálószerrel (0.1 M foszfát pufferben (PB) oldott 1.25 % glutáraldehid és 2 % paraformaldehid, pH 7.4). Ezután az agytörzset a kisaggyal és a gerincvelő egy részével együtt eltávolítottuk és egy éjszakára a perfúzióra használt fixálószerbe helyeztük.

4. 2. 3. Beágyazás és metszés

A fixálást követően a preparátumokat 0.1 M foszfát pufferben (PB) mostuk, majd a dura mater eltávolítását követően 10 % és 20 % cukoroldatba helyeztük (szukróz 0.1 M foszfát pufferben (PB) oldva). Miután a cukoroldatban lesüllyedtek, 15 % zselatinba ágyasztuk be őket, majd a blokkok megszilárdulását követően 1 órán át tartó utófixálás következett. Fagyasztó microtom segítségével 60 µm vastagságú horizontalis és coronalis metszeteket készítettünk.

4. 2. 4. A jelölőanyag előhívása

A neurobiotin jelölés vizualizálása ABC reakcióval történt. Az ABC rövidítés az avidin-biotin komplexet takarja, mely az általunk használt festési eljárás molekuláris alapja. Az avidin egy glikozilált és pozitívan töltött fehérje, mely képes megkötni akár négy D-biotin molekulát is. Az idegsejtek festésére alkalmazott neurobiotin megköti a rendszerhez hozzáadott peroxidázzal konjugált extravidint (Sigma). A peroxidáz szubsztrátuma a H_2O_2 , e két reagens megfelelő kromogén (DAB, 3,3–diaminobenzidin-tetrahidroklorid) és nikkel–ammónium-szulfát jelenlétében fekete színreakciót képez, mely fénymikroszkóp alatt detektálható.

4. 2. 4. 1. A reakció kivitelezése

1. mosás 0.1 M PB-ben 2 x 10 perc
2. mosás PBS-ben 1 x 10 perc
3. extravidinnel történő inkubálás (Sigma, peroxidáz konjugátum) 1 óra, hígítás: 1:1000 PBS-ben
4. mosás PBS-ben 1 x 10 perc
5. mosás PB-ben 1 x 10 perc
6. mosás 0.05 M TRIS-ben (pH 8) 1 x 10 perc
7. inkubálás a következő oldattal: 0.05 M TRIS + 0.075 % DAB (Sigma) + 0.6 % nikkel-ammónium-szulfát + 0.015 % hidrogén-peroxid 5 perc
9. mosás TRIS-ben
10. mosás PB-ben 2 x 10 perc

4. 2. 5. Tárgylemezre történő felvitel és lefedés

A metszeteket zselatinba merített tárgylemezre vittük fel, majd egy éjszakán át száradni hagytuk őket. Egy felszálló alkoholsor segítségével eltávolítottuk a metszetekben lévő felesleges vizet, majd ezt követően a lefedés DPX-el történt.

4. 2. 6. A dye-coupled szemcsesejtek feltérképezése

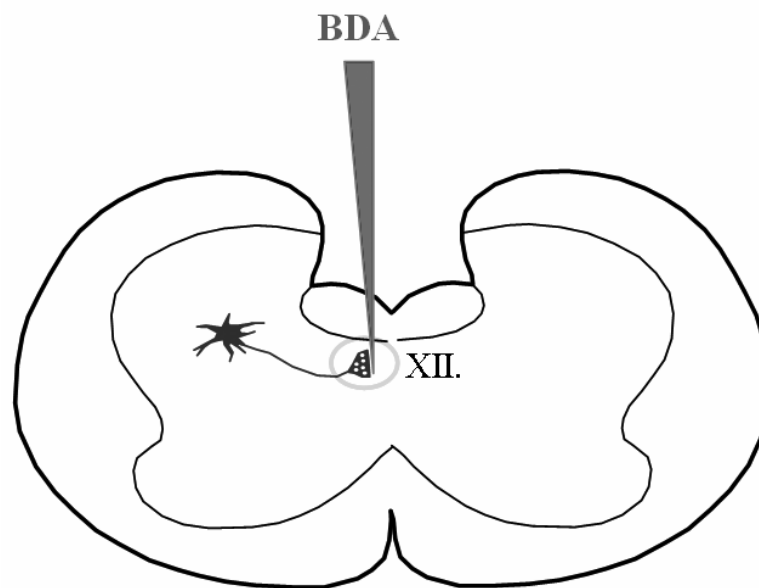
A dye-coupled sejteket tartalmazó metszetekben a kisagy kontúráját és a jelölt szemcsesejtek sejtestének lokalizációját, valamint a Nissl-festéssel kezelt és kontrollként használt kisagymetszetek körvonalát a Neurolucida nevű számítógépes program (MicroBrightField) segítségével rajzoltuk ki. Mivel a kontroll metszetek vastagsága 30 μm volt, a neurobiotinnal jelölteké pedig 60 μm , a jelölt szemcsesejtek feltérképezéséhez a kontroll metszetek közül csak minden másodikat használtunk fel, így rostrocaudalis irányban 16-ot, míg dorsoventralisan 9-et. A jelölt neuronok fényképezése Leitz Diaplan mikroszkópra rögzített Nikon E 800 kamera és a SPOT Advanced program segítségével történt.

4. 3. A nyelv protraktor és retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok szerveződése

4. 3. 1. Preparálás és a jelölőanyag injektálása

Kísérleteinket 10 kecskebékán (*Rana esculenta*) végeztük el. Az állatokat 0.1 % tricain-metán-szulfonát (MS 222, Sigma) transdermalis alkalmazásával altattuk el. Sztereomikroszkóp alatt a koponya occipitalis csontjának caudalis részét, valamint a IV. agykamra tetejét eltávolítottuk. Az állatot sztereotaxiás készülékbe helyeztük, ahol a fejet a felső állkapcsánál rögzítettük. Biotinilált dextran-amint (BDA 10kDa, Molecular Probes) tartalmazó oldatot (10 % BDA 0.1 M foszfát pufferben (PB) oldva, pH 7.4) 10 -20 μm átmérőjű üvegelektroda segítségével 5 állat esetében a hypoglossus mag dorsomedialis subnucleusának caudalis részébe, míg másik 5 béka esetében a ventrolateralis subnucleus caudalis részébe injektáltunk. A dorsomedialis subnucleus caudalis része tartalmazza azon

motoneuronokat, melyek a nyelv protraktor izmaival állnak kapcsolatban, míg a ventrolateralis subnucleus caudalis része elsősorban a retraktor izmok beidegzéséért felelős. Bizonyított, hogy a BDA, mely mind retrográd, mind anterográd módon transzportálódik, képes bejutni a neuronok axonterminálisaiba, dendritjeibe, valamint a sejttestekbe, ezáltal képes megjelölni az adott subnucleus motoneuronaival kapcsolatban álló interneuronokat (**10. ábra**). Az injektálás pontos helyét Kemali és Braitenberg (1969) koordinátái, valamint a korábbi kobalt jelöléses vizsgálatok alapján határoztuk meg (Matesz és mtsai., 1999). Az injektálás iontoforézissel történt, pulzáló (7 s injektálás, 3 s szünet) 5 μ A áramerősséget használva 10 percen keresztül.



10. ábra: A BDA-val történő injektálás sémás ábrázolása.

4. 3. 2. Feldolgozás

Az állatokat 5 nap túlélési időt követően a fent leírt módon újra elaltattuk, és fiziológiás sóoldattal, majd fixálószerrel (2.5 % glutáraldehid, 0.5 % paraformaldehid és 0.2 % pikrinsav 0.1 M foszfát pufferben (PB) oldva, pH 7.4) transcardialisan perfundáltuk. Az agytörzset eltávolítottuk, majd egy éjszakán át immerziósan utófixáltuk. A fixálást követően a preparátumokat 0.1 M foszfát pufferben (PB) 1 órán át mostuk, majd a dura mater eltávolítását követően 10 % és 20 % cukoroldatba helyeztük (szukróz 0.1 M foszfát

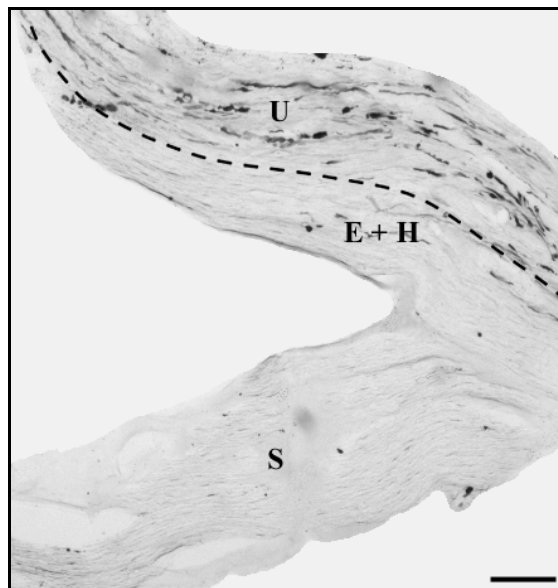
pufferben (PB) oldva). Vibratom segítségével 60 μm vastagságú keresztmetszeteket készítettünk, melyeket 0.1 M foszfát pufferben (PB) gyűjtöttük össze. A BDA vizualizálása a neurobiotinnal megegyező módon ABC reakcióval, valamint DAB - nikkell oldat segítségével történt. A metszeteket zselatinba merített tárgylemezre helyeztük, majd száradást és alkoholos dehidrációt követően DPX-el lefedtük. A BDA - val jelölt sejtek lokalizációját Neurolucida (MicroBrightField) segítségével rajzoltuk ki, a fényképeket Leitz Diaplan mikroszkópra rögzített Nikon E 800 kamera és a SPOT Advanced program segítségével készítettük.

Az állatkísérletek végzéséhez az adott időszakban érvényes egyetemi engedéllyel rendelkezünk.

5. Eredmények

5. 1. A vestibularis afferens rostok és a gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai

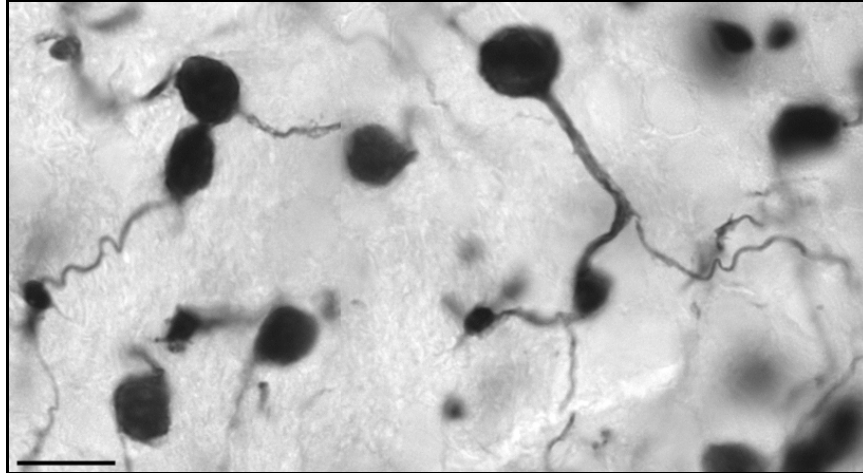
A kisagy területére érkező primer afferensek moharostok formájában végződnek a szemcses sejtek dendritjein. A nervus vestibulocochlearis különböző vestibularis receptor szervekhez futó idegágainak, valamint a C2, L8 és L9 gerincvelői idegek dorsalis gyökerének neurobiotinnal történő szelektív jelölésének eredményeként (**11. ábra**) azt tapasztaltuk, hogy a jelölőanyag behatolt az átvágott axonokba, nyomon követte az afferens rostok útját, valamint megjelölte a kisagyi szemcses sejtek sejttestét, dendritjeit és axontját is.



11. ábra: Neurobiotin jelölés a nervus vestibulocochlearisban. Az urticulussal (U) kapcsolatban álló idegágot szelektíven jelöltük, míg az elülső (E) és horizontális (H) félkörös ívjáratot, valamint a sacculust (S) ellátó ágak jelöletlenek. Lépték: 100 μ m.

A szelektív jelölés eredményeként tehát az adott idegággal kapcsolatban álló kisagyi területen jelölt moharostokat és dye-coupled szemcses sejteket találtunk (**12. ábra**). A

szemcses sejtek jellegzetes, kerek sejttesttel és 2 - 4 vékony dendrittel rendelkeznek, axonjuk pedig parallel rost formájában követhető a kisagy molekuláris rétegébe (**13. A; 14. B; 15. A ábra**), ahol a Purkinje – sejtek dendritfájával létesítenek kapcsolatot.



12. ábra: Neurobiotinnal jelölt dye-coupled szemcses sejtek a kisagy lobus auricularisának területén. Lépték: 10 μ m.

A VIII. agyideg felől jelölődött moharostok és szemcses sejtek elsősorban a kisagy ipsilateralis lobus auricularisában jelentek meg, melyet békákban a vestibulocerebellumnak tekinthetjük, míg a gerincvelői idegekkel kapcsolatban álló dye-coupled sejtek elsődlegesen a corpus cerebelli területén voltak megtalálhatók.

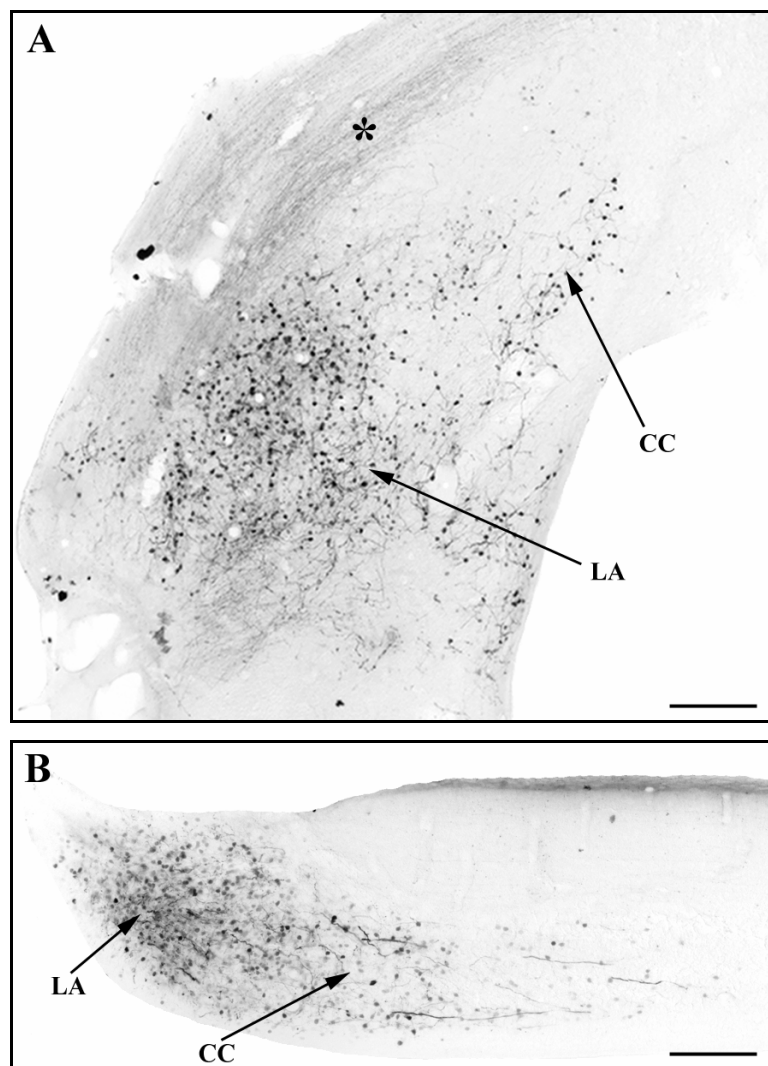
5. 1. 1. A vestibularis afferens rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai

Bár a különböző vestibularis receptor szervekkel kapcsolatban álló idegágak kisagyi célterülete jelentős átfedést mutatott, a dye-coupled szekunder vestibularis neuronok eloszlási mintázata eltérő volt annak megfelelően, hogy mely vestibularis végszerv afferens rostján történt a kezelés. Mivel a félkörös ívjáratok (elülső, hátsó és horizontális) és az otolith szervek (sacculus, utriculus és lagena) funkcionálisan különböznek egymástól, vagyis a félkörös ívjáratok a szöggyorsulást, az otolith szervek pedig a lineáris gyorsulást érzékelik, a két különböző csoportba tartozó vestibularis receptor szervek kisagyi célterületének összehasonlítását külön-külön végeztük el.

5. 1. 1. 1. A félkörös ívjáratok kisagyi célterülete

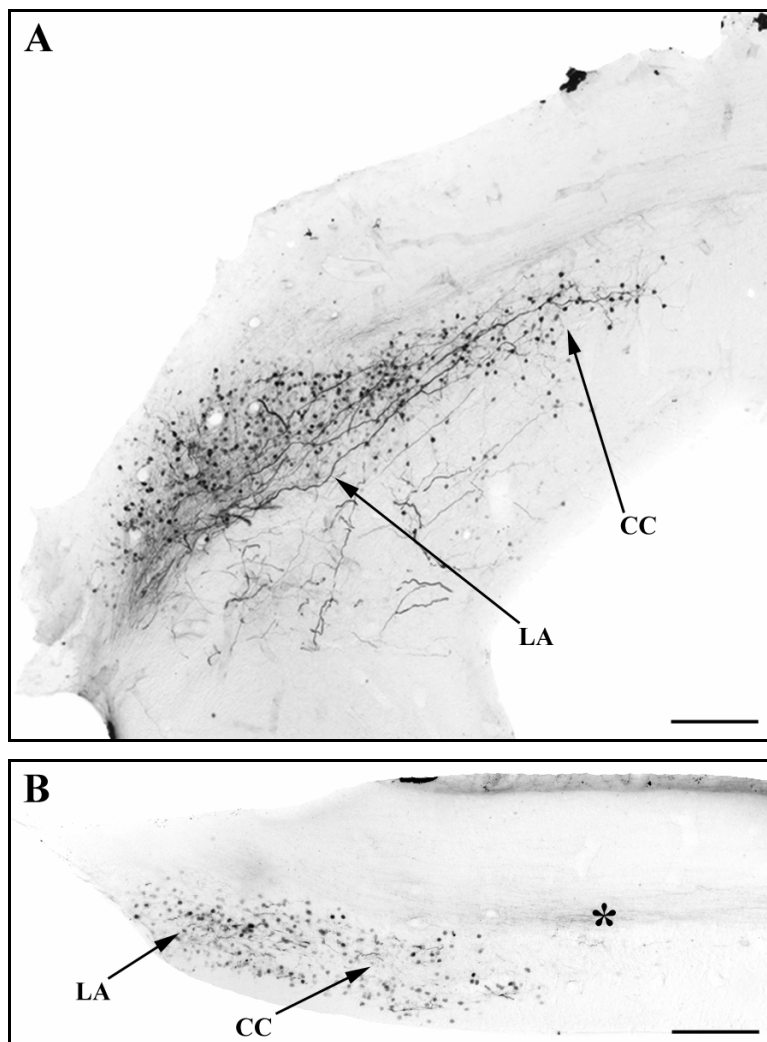
5. 1. 1. 1. 1. Mediolateralis irányú térképezés

Az elülső és hátsó félkörös ívjáratokkal kapcsolatban álló kisagyi dye-coupled szemcses sejtek a lobus auricularis lateralis szélétől kezdődően medialis irányban haladva betérjedtek a corpus cerebelli területére. A két receptor szerv kisagyi célterületének leghosszabb kiterjedése mediolateralis irányban szinte tökéletes átfedést mutatott (**13. A, B; 14. A, B; 34. A, B ábra**).



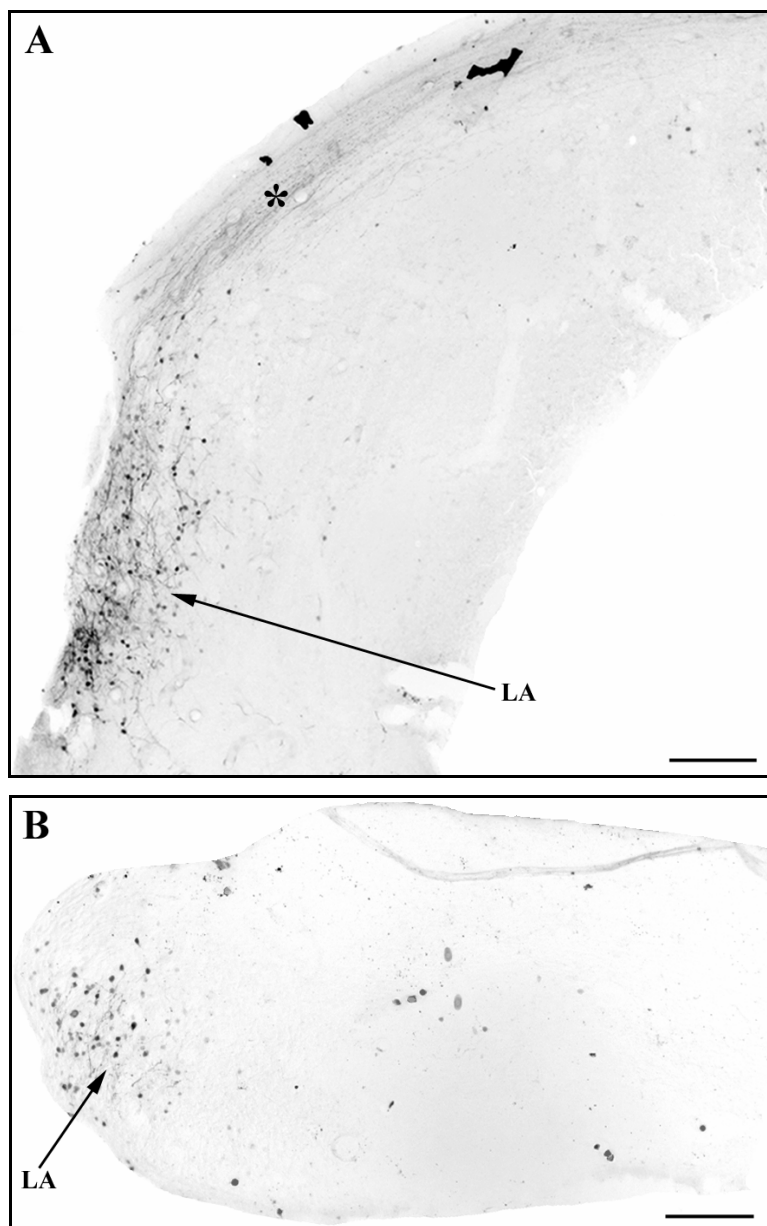
13. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontális (B) metszete, melyekben az *elülső félkörös*

ívjárat felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. A csillag a parallel rostok kötegét jelöli. Lépték: 250 μ m.



14. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontalis (B) metszete, melyekben a *hátsó félkörös ívjárat* felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. A csillag a parallel rostok kötegét jelöli. Lépték: 250 μ m.

A horizontalis félkörös ívjáratban kapcsolatban álló kisagyi szemcsesejtek kizárólag a lobus auricularis lateralis részében voltak megtalálhatók, így ezen vestibularis receptor szerv kisagyi célterülete mediolaterális irányban a verticalis félkörös ívjáratok esetében tapasztaltakhoz képest mintegy fele akkora kiterjedést mutatott (15. A, B; 34. A, B ábra).

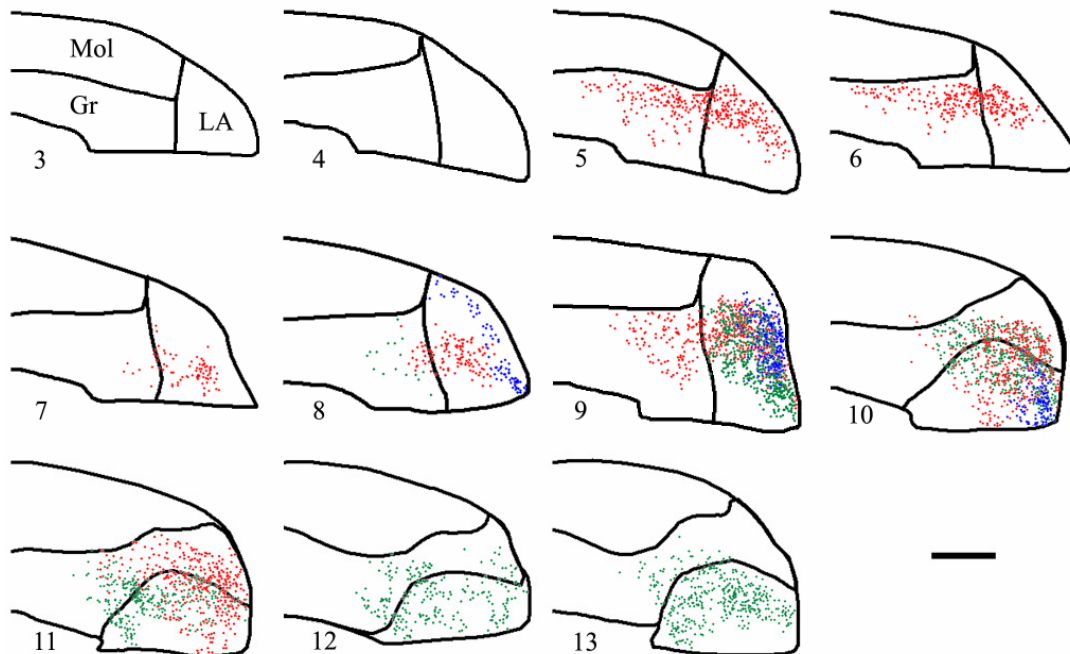


15. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontális (B) metszete, melyekben a *horizontalis félkörös ívjárat* felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. A csillag a parallel rostok kötegét jelöli. Lépték: 250 μ m.

5. 1. 1. 1. 2. Rostrocaudalis irányú térképezés

Rostrocaudalis irányban a három félkörös ívjárat felől jelölődött szemcsesejtek átfedési területe egy olyan képzeletbeli vonaltól indult, mely a kisagyat egy rostralis és egy caudalis félre osztja, majd ettől a vonaltól caudalis irányban kb. 200 μ m hosszúságban

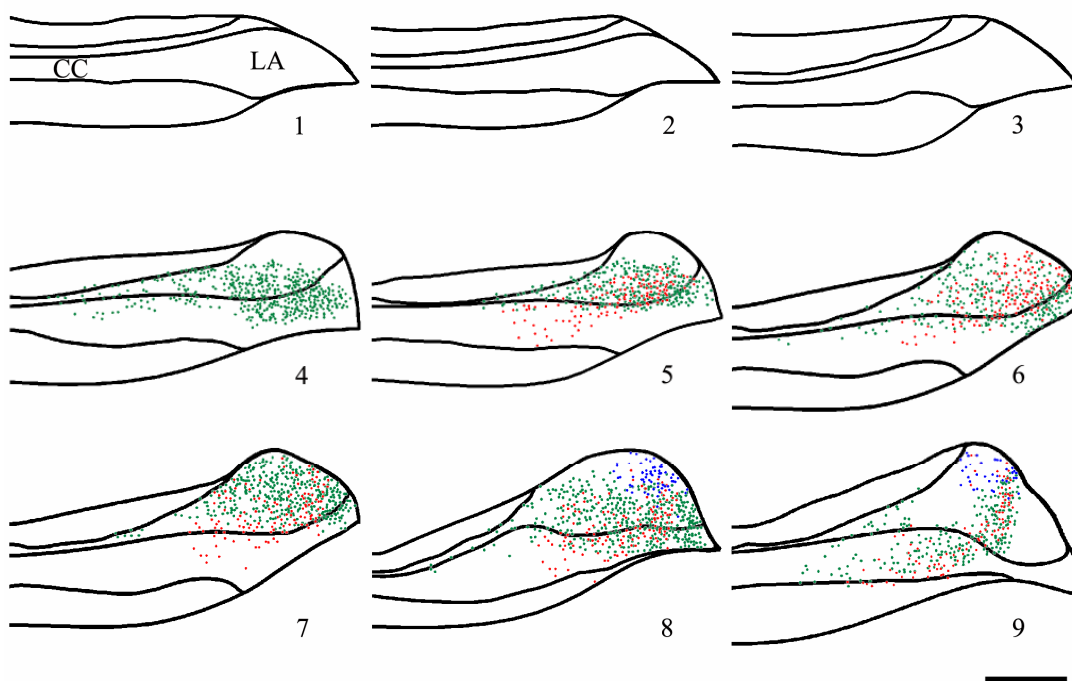
folytatódott. A hátsó félkörös ívjárat kisagyi célterülete mutatott legnagyobb kiterjedést, majd ezt követte méretben az elülső félkörös ívjáratnál kapcsolatban álló dye-coupled sejtek által elfoglalt terület. A hátsó félkörös ívjárat felől jelölődött szemcses sejtek helyezkedtek el legrostralisabban, míg az elülső félkörös ívjárat célterülete legcaudalisabban volt megtalálható. A horizontális félkörös ívjáratnál kapcsolatban álló terület a verticalis félkörös ívjáratok vizsgálata során tapasztaltakhoz képest ebben az esetben is fele akkora kiterjedést mutatott (16. ábra).



16. ábra: Neurolucida rekonstrukció, mely a félkörös ívjáratok felől jelölődött dye-coupled szemcses sejtek rostrocaudalis irányú eloszlását mutatja a béka kisagyból készült coronalis metszetsorozatban. Az egyes félkörös ívjáratokkal kapcsolatban álló kisagyi szemcses sejteket különböző színekkel jelöltük. Kék: horizontális félkörös ívjárat; zöld: elülső félkörös ívjárat; piros: hátsó félkörös ívjárat. A számok a metszetek pozícióját jelzik a kisagy rostrocaudalis irányú tengelye mentén egy 16 darabból álló metszetsorozatban. A metszetek vastagsága 60 μm . Mol: stratum moleculare; Gr: stratum granulosum; LA: lobus auricularis. Lépték: 500 μm .

5. 1. 1. 1. 3. Dorsoventralis irányú térképezés

Dorsoventralis irányban a félkörös ívjáratok felől jelölődött szemcsesejtek a kisagy ventralis részében helyezkedtek el. A három félkörös ívjárat közül az elülső félkörös ívjárat célterülete helyezkedett el legdorsalisabban, míg a horizontális félkörös ívjárat legventralisabban. Az elülső félkörös ívjárhoz tartozó dye-coupled sejtek által elfoglalt terület mutatta a legnagyobb kiterjedést, majd ezt követte méretben a hátsó félkörös ívjárat kisagyi célterülete, végül a horizontális félkörös ívjáratall kapcsolatban álló szemcsesejtek által lefedett terület bizonyult a legkisebbnek (17. ábra).

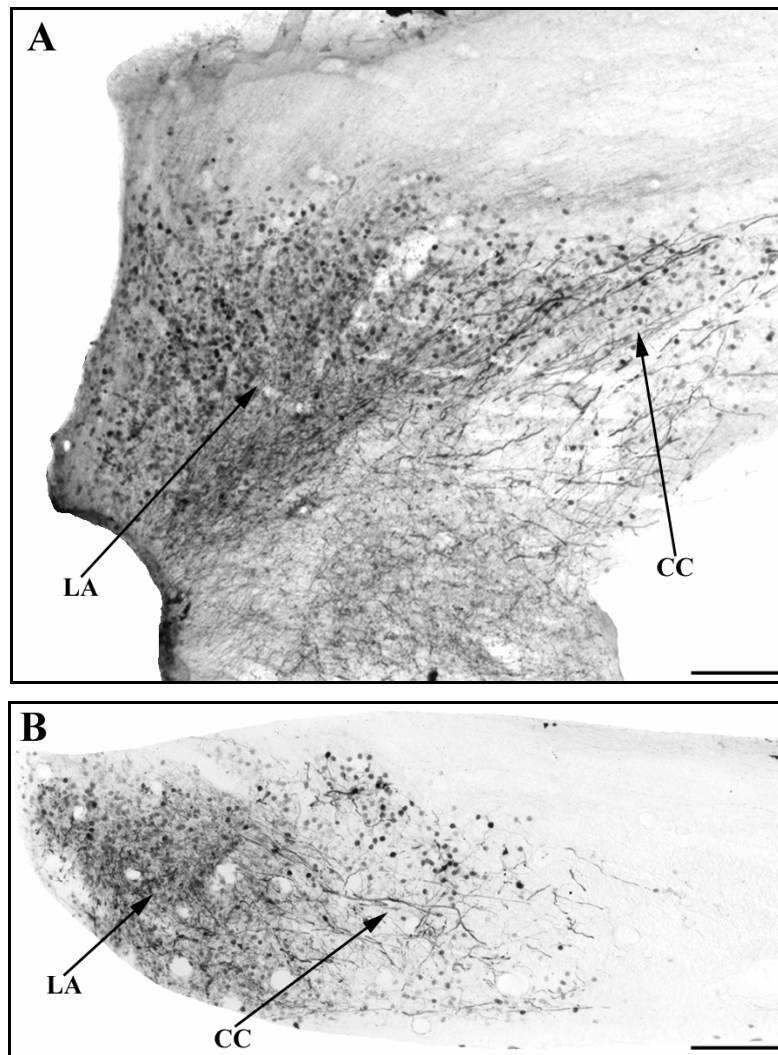


17. ábra: Neurolucida rekonstrukció, mely a félkörös ívjáratok felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek dorsoventralis irányú eloszlását mutatja a béka kisagyból készült horizontális metszetsorozatban. Az egyes félkörös ívjáratokkal kapcsolatban álló kisagyi szemcsesejteket különböző színekkel jelöltük. Kék: horizontális félkörös ívjárat; zöld: elülső félkörös ívjárat; piros: hátsó félkörös ívjárat. A számok a metszetek pozícióját jelzik a kisagy dorsoventralis irányú tengelye mentén egy 9 darabból álló metszetsorozatban. A metszetek vastagsága 60 μm . CC: corpus cerebelli; LA: lobus auricularis. Lépték: 500 μm .

5. 1. 1. 2. Az otolith szervek kisagyi célterülete

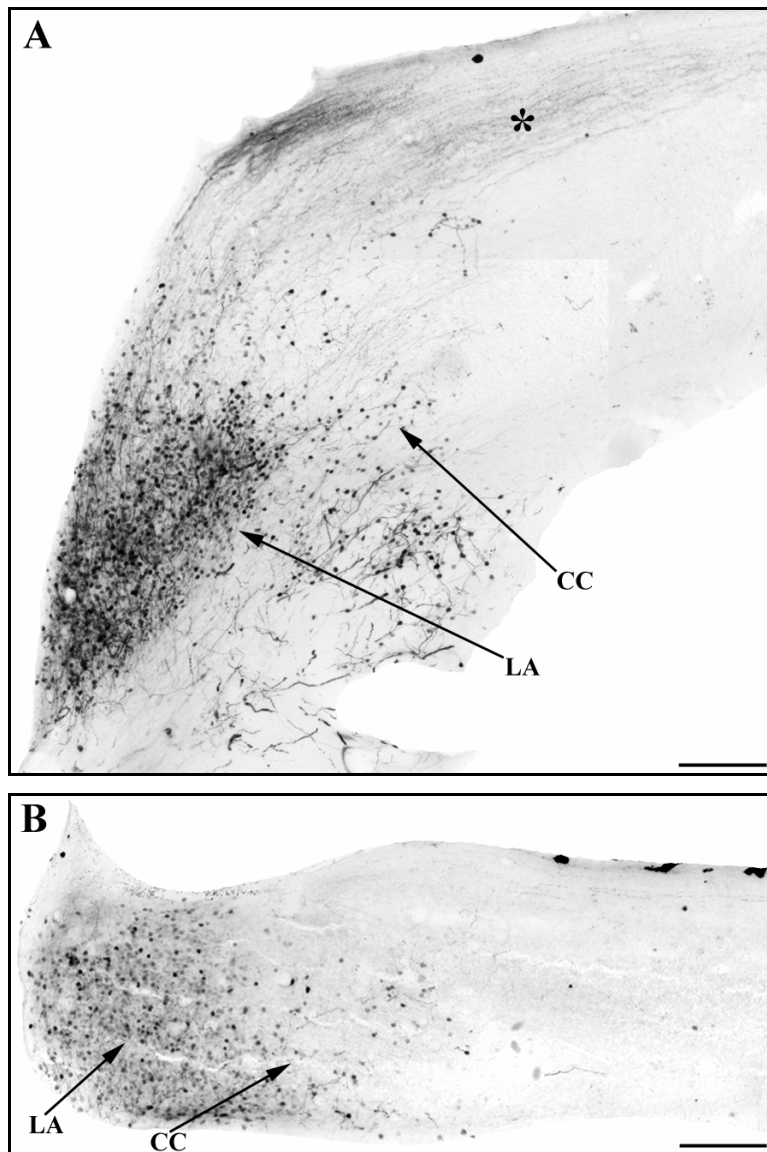
5. 1. 1. 2. 1. Mediolateralis irányú térképezés

Hasonlóan a félkörös ívjáratok vizsgálata során tapasztaltakhoz az otolith szervek felől jelölődött szemcsesejtek is elsősorban az ipsilateralis lobus auricularisban jelentek meg, valamint kisebb számban betarodtak a corpus cerebelli területére is. Mediolateralis irányban az utriculus kisagyi célterülete mutatott leghosszabb kiterjedést, ezt követte méretben a sacculus felől jelölődött szemcsesejtek által elfoglalt terület, míg végül a lagenával kapcsolatban álló dye-coupled sejtek kiterjedése bizonyult a legrövidebbnek (18. A, B; 19. A, B; 20. A, B; 34. A, B ábra).

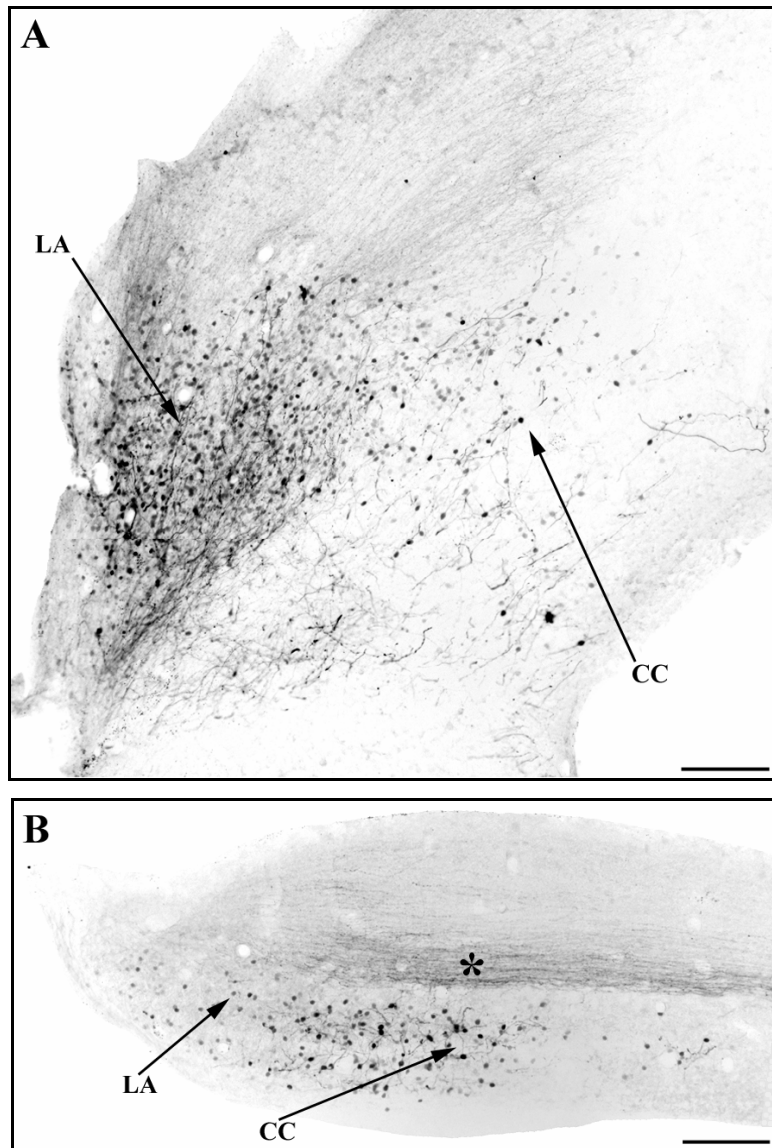


18. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontalis (B) metszete, melyekben a *sacculus* felől

jelölődött dye-coupled szemcsesejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli.
Lépték: 250 μ m.



19. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontális (B) metszete, melyekben az *utricle* felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. A csillag a parallel rostok kötegét jelöli. Lépték: 250 μ m.

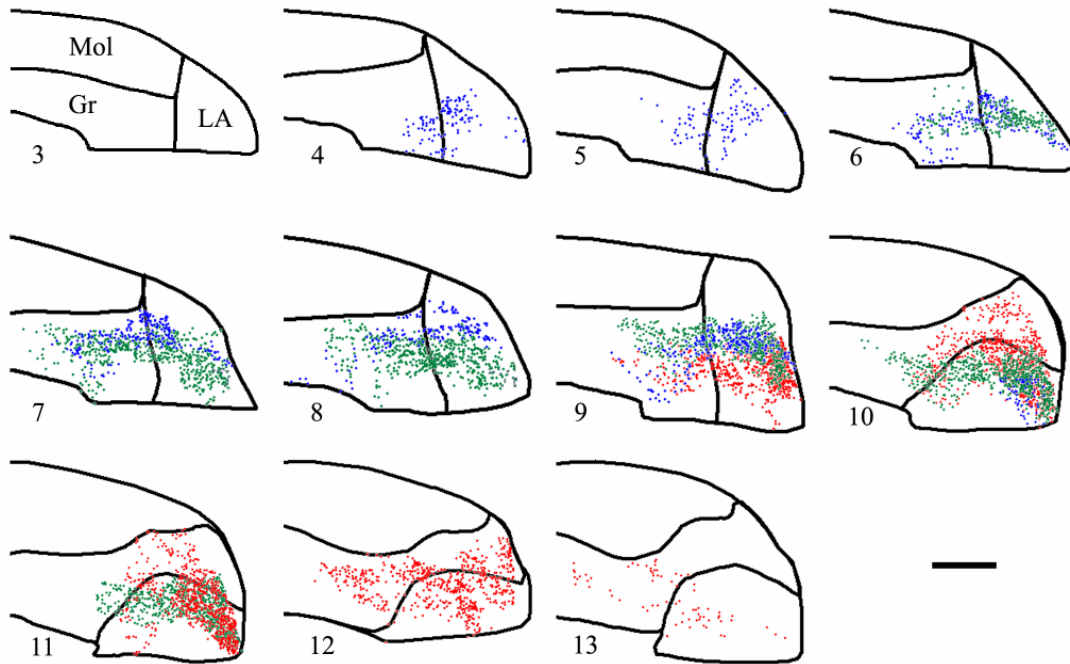


20. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontális (B) metszete, melyekben a *lagena* felől jelölődött dye-coupled szemcses sejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. A csillag a parallel rostok kötegét jelöli. Lépték: 250 μ m.

5. 1. 1. 2. 2. Rostrocaudalis irányú térképezés

A kisagy rostrocaudalis tengelye mentén a lagena felől jelölődött szemcses sejtek által elfoglalt terület helyezkedett el legrostralisabban, majd caudalis irányba ezt követte a sacculus kisagyi célterülete. Az utriculussal kapcsolatban álló sejtek a kisagy középvonalában jelentek meg először, és az általuk elfoglalt terület végződött a három

otolith szerv célterülete közül a legcaudalisabban. A lagenával kapcsolatban álló terület mutatott rostrocaudalis irányban a leghosszabb kiterjedést, míg az utriculus kisagyi célterülete bizonyult a legrövidebbnek. A három otolith szerv felől jelölődött szemcsesejtek átfedési területe hasonlóan a félkörös ívjáratok esetében tapasztaltakhoz a kisagy középső részén helyezkedett el kb. 130 μm hosszúságban (**21. ábra**).

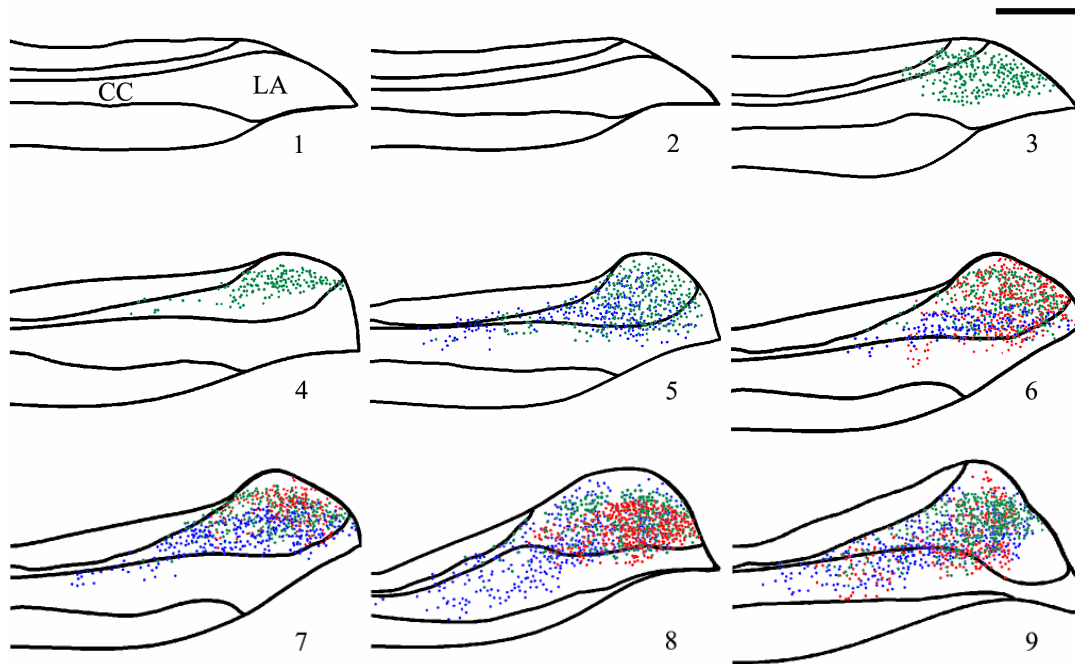


21. ábra: Neurolucida rekonstrukció, mely az otolith szervek felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek rostrocaudalis irányú eloszlását mutatja a béka kisagyból készült coronalis metszetsorozatban. Az egyes otolith szervekkel kapcsolatban álló kisagyi szemcsesejteket különböző színekkel jelöltük. Kék: lagena; zöld: sacculus; piros: utriculus. A számok a metszetek pozícióját jelzik a kisagy rostrocaudalis irányú tengelye mentén egy 16 darabból álló metszetsorozatban. A metszetek vastagsága 60 μm . Mol: stratum moleculare; Gr: stratum granulosum; LA: lobus auricularis. Lépték: 500 μm .

5. 1. 1. 2. 3. Dorsoventralis irányú térképezés

A dorsoventralis tengely mentén a három otolith szerv felől jelölődött szemcsesejtek átfedési területe a kisagy legventralisabb részében helyezkedett el. A három otolith szerv

közül a sacculus kisagyi célterülete kezdődött legdorsalisabban, ezt követte a lagena, majd legventralisabban az utriculus. A sacculus kisagyi célterületének kiterjedése bizonyult a leghosszabbnak, ezt követte méretben a lagenával kapcsolatban álló terület, végül az utriculus felől jelölődött szemcsesejtek kiterjedése bizonyult a legrövidebbnek (**22. ábra**).



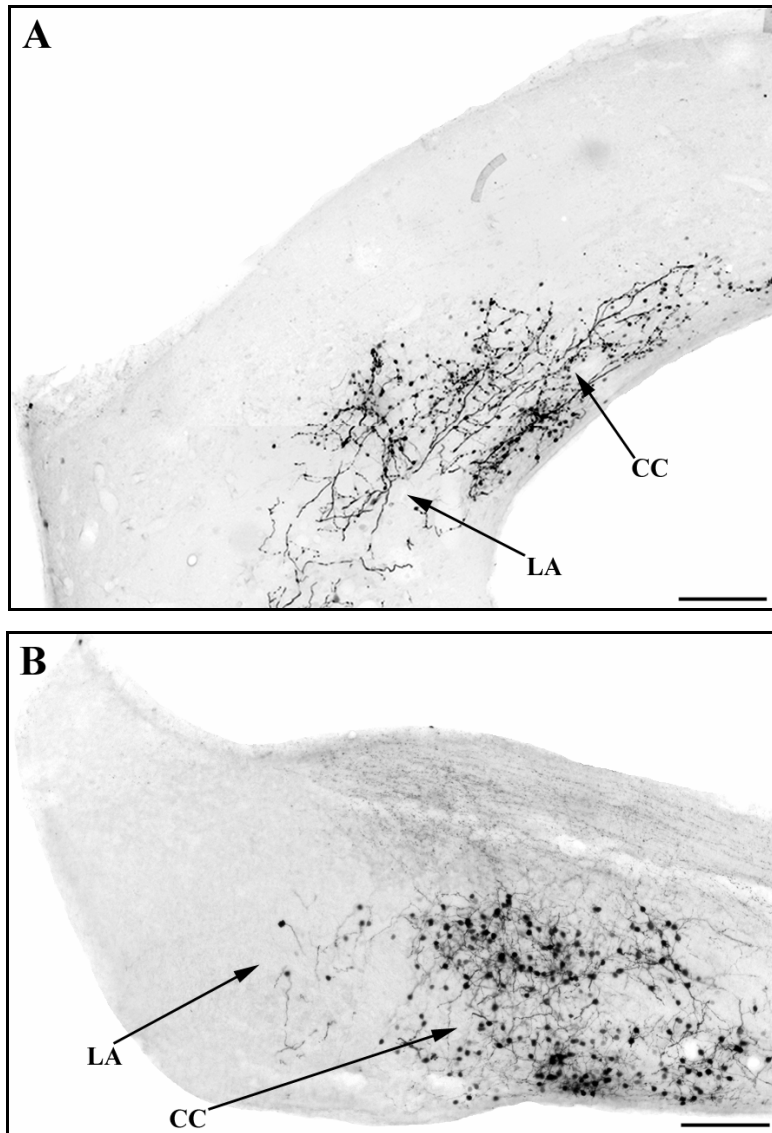
22. ábra: Neurolucida rekonstrukció, mely az otolith szervek felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek dorsoventralis irányú eloszlását mutatja a béka kisagyból készült horizontális metszetsorozatban. Az egyes otolith szervekkel kapcsolatban álló kisagyi szemcsesejteket különböző színekkel jelöltük. Kék: lagena; zöld: sacculus; piros: utriculus. A számok a metszetek pozícióját jelzik a kisagy dorsoventralis irányú tengelye mentén egy 9 darabból álló metszetsorozatban. A metszetek vastagsága 60 μm . CC: corpus cerebelli; LA: lobus auricularis. Lépték: 500 μm .

5. 1. 2. A gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai

A vizsgált gerincvelői idegek kisagyi célterülete mediolateralis irányban jelentős mértékű átfedést mutatott, a dye-coupled szemcsesejtek elsősorban a corpus cerebelli területén jelentek meg. A kisagy rostrocaudalis és dorsoventralis irányú tengelye mentén az

egyes gerincvelői idegekkel kapcsolatban álló területek kiterjedésében eltéréseket tapasztaltunk.

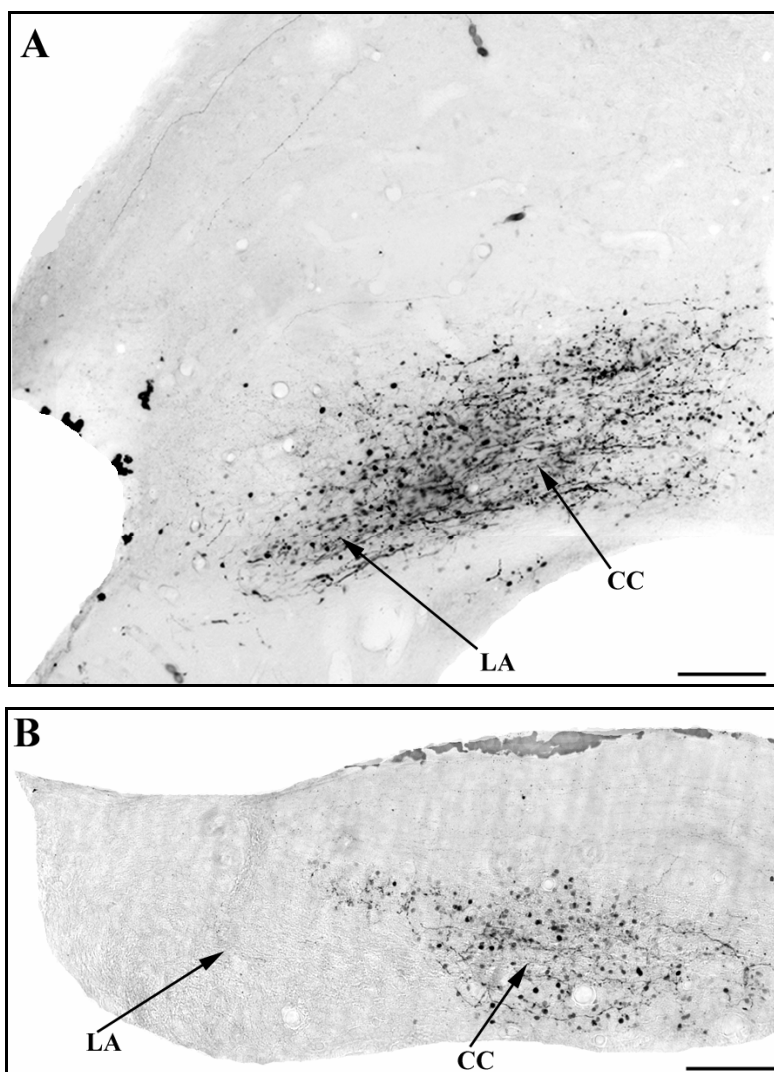
5. 1. 2. 1. Mediolateralis irányú térképezés



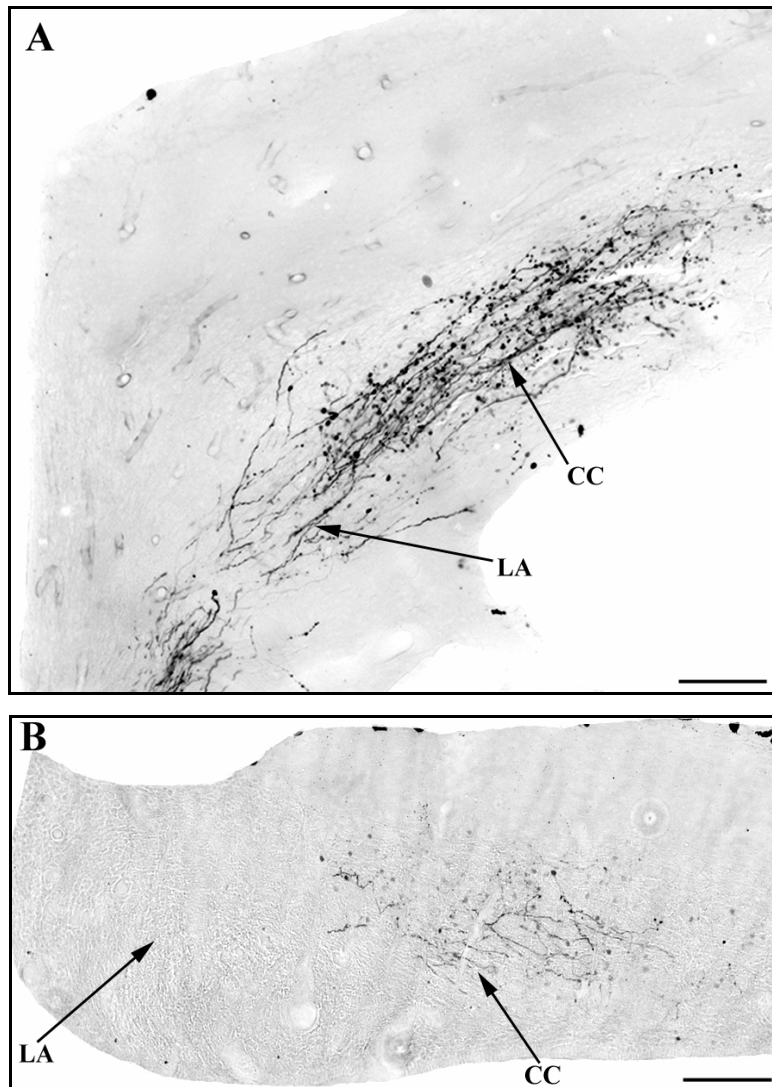
23. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontális (B) metszete, melyekben a C2 gerincvelői ideg felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. Lépték: 250 μ m.

A gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled szemcsesejtjei a lobus auricularis középső részében jelentek meg leglateralisabban, majd medial felé haladva

legnagyobb mennyiségben a corpus cerebelli területén voltak megtalálhatók. A kisagy mediolateralis tengelye mentén a L8 felől jelölődött szemcsesejtek által elfoglalt terület mutatta a leghosszabb kiterjedést, ezt követte méretben a C2, majd pedig a L9 célterülete. A különböző gerincvelő idegekkel kapcsolatban álló kisagyi területek mediolateralis irányban nagymértékű átfedést mutattak (23. A, B; 24. A, B; 25. A, B; 35. A, B ábra).



24. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontalis (B) metszete, melyekben a *L8 gerincvelői ideg* felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. Lépték: 250 μ m.

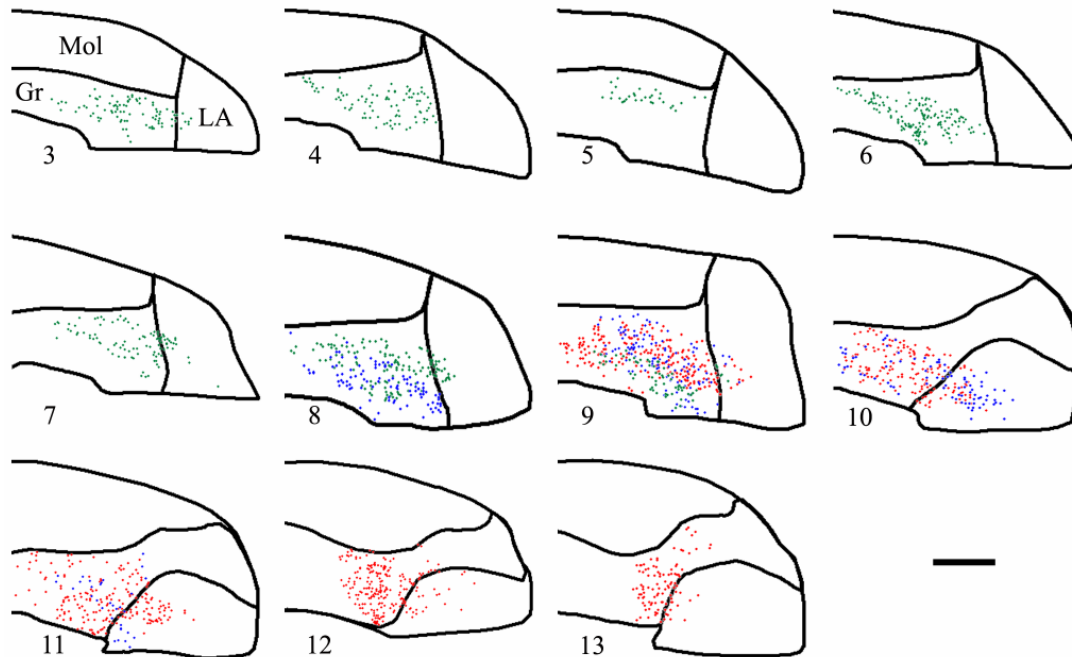


25. ábra: A kisagy coronalis (A) és horizontalis (B) metszete, melyekben a *L9 gerincvelői ideg* felől jelölődött dye-coupled szemcses sejtek láthatók. LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli. Lépték: 250 μ m.

5. 1. 2. 2. Rostrocaudalis irányú térképezés

A kisagy rostrocaudalis tengelye mentén a C2 gerincvelői ideg felől jelölődött szemcses sejtek által elfoglalt terület helyezkedett el legrostralisabban, mind a vestibularis receptor szervek, mind pedig a lumbalis gerincvelő idegek kisagyi célterületéhez viszonyítva. A lumbalis gerincvelői idegek dye-coupled szemcses sejtjei a kisagy caudalis részében helyezkedtek el. A L8 kisagyi célterülete rostrocaudalis irányban hosszabbnak bizonyult az L9 felől jelölődött szemcses sejtek által elfoglalt területéhez képest. A

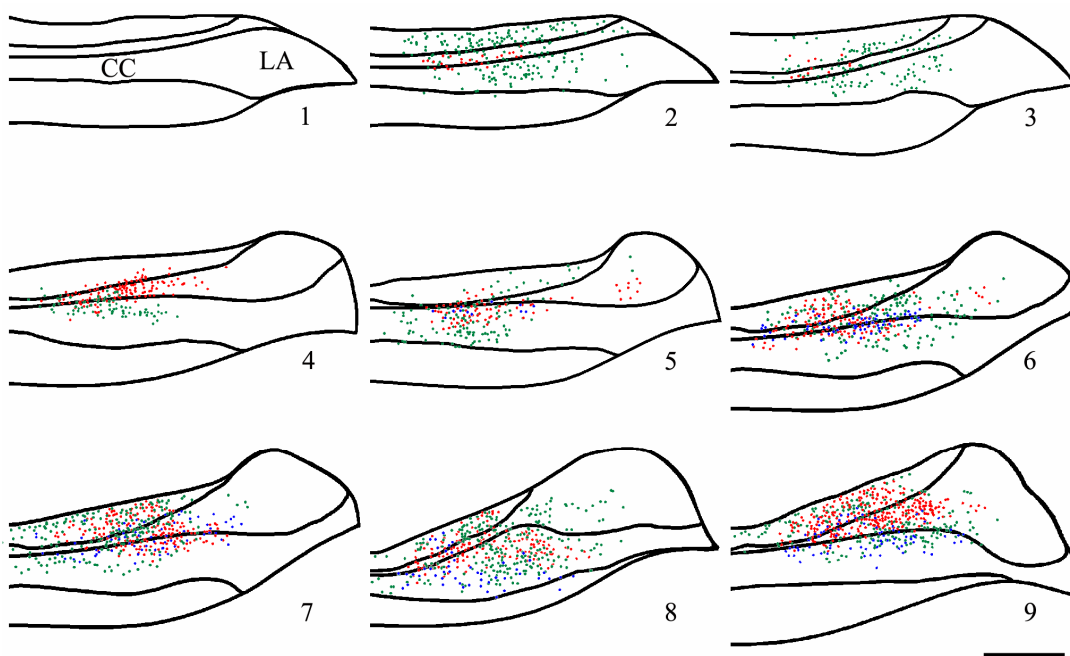
rostromedialis tengely mentén a három különböző gerincvelői ideggel kapcsolatban álló területek csekély mértékű átfedést mutattak a kisagy középső részében (**26. ábra**).



26. ábra: Neurolucida rekonstrukció, mely a C2, L8 és L9 gerincvelői idegek felől jelölődött dye-coupled szemcses sejtek rostromedialis irányú eloszlását mutatja a béka kisagyból készült coronalis metszetsorozatban. Az egyes gerincvelői idegekkel kapcsolatban álló kisagyi szemcses sejteket különböző színekkel jelöltük. Zöld: C2; piros: L8; kék: L9. A számok a metszetek pozícióját jelzik a kisagy rostromedialis irányú tengelye mentén egy 16 darabból álló metszetsorozatban. A metszetek vastagsága 60 μm . Mol: stratum moleculare; Gr: stratum granulosum; LA: lobus auricularis. Lépték: 500 μm .

5. 1. 2. 3. Dorsoventralis irányú térképezés

A három vizsgált gerincvelői ideggel kapcsolatban álló dye-coupled szemcses sejtek átfedési területe a kisagy ventralis részében kb. 320 μm hosszúságban terjedt ki. Dorsoventralis irányban a C2 és L8 gerincvelői idegek kisagyi célterülete jóval hosszabbnak bizonyult a L9 esetében tapasztaltakhoz képest (**27. ábra**).



27. ábra: Neurolucida rekonstrukció, mely a C2, L8 és L9 gerincvelői idegek felől jelölődött dye-coupled szemcsesejtek dorsoventralis irányú eloszlását mutatja a béka kisagyból készült horizontalis metszetsorozatban. Az egyes gerincvelői idegekkel kapcsolatban álló kisagyi szemcsesejteket különböző színekkel jelöltük. Zöld: C2; piros: L8; kék: L9. A számok a metszetek pozícióját jelzik a kisagy dorsoventralis irányú tengelye mentén egy 9 darabból álló metszetsorozatban. A metszetek vastagsága 60 μm . Mol: stratum moleculare; Gr: stratum granulosum; LA: lobus auricularis. Lépték: 500 μm .

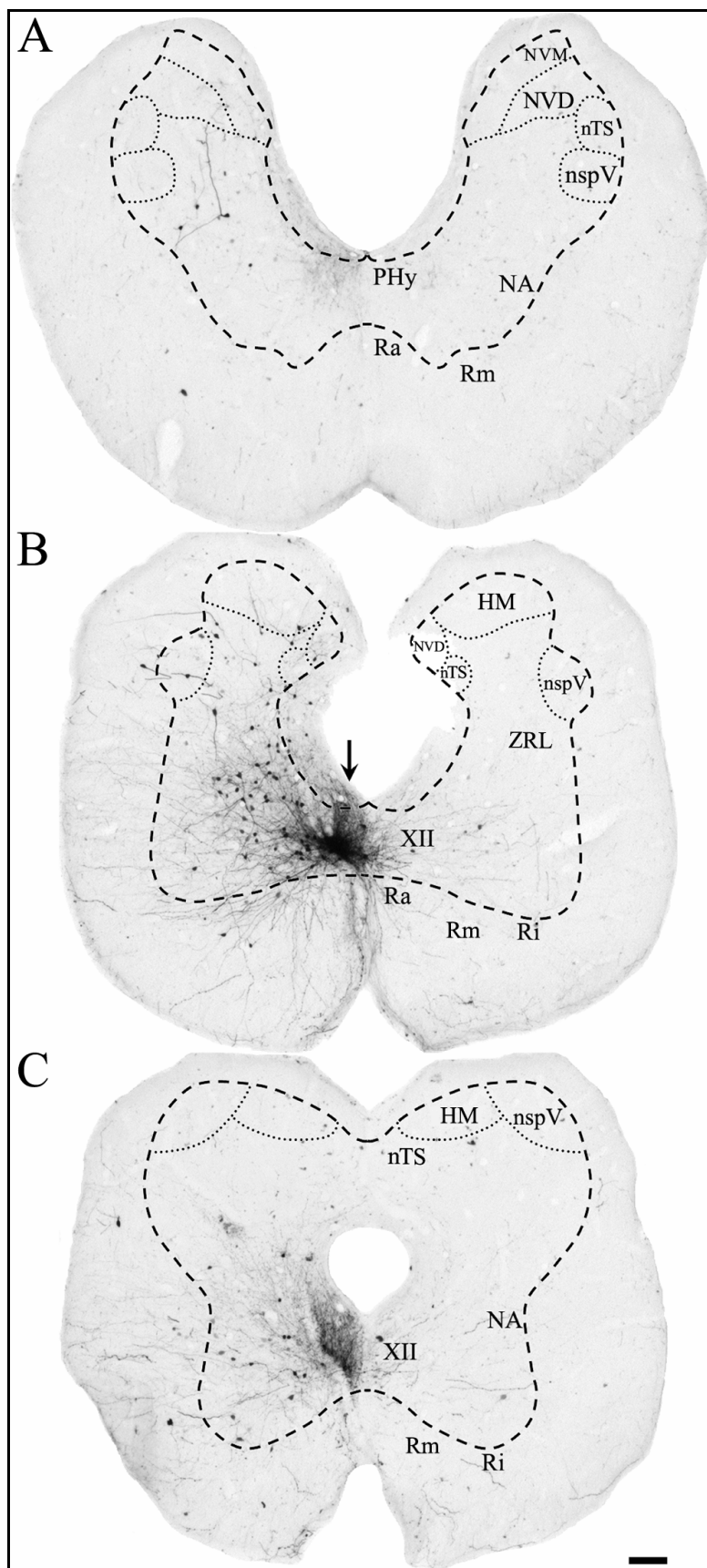
5. 2. A nucleus nervi hypoglossi utolsó rendű premotor interneuronjainak szerveződése

5. 2. 1. A nyelv protraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok vizsgálata

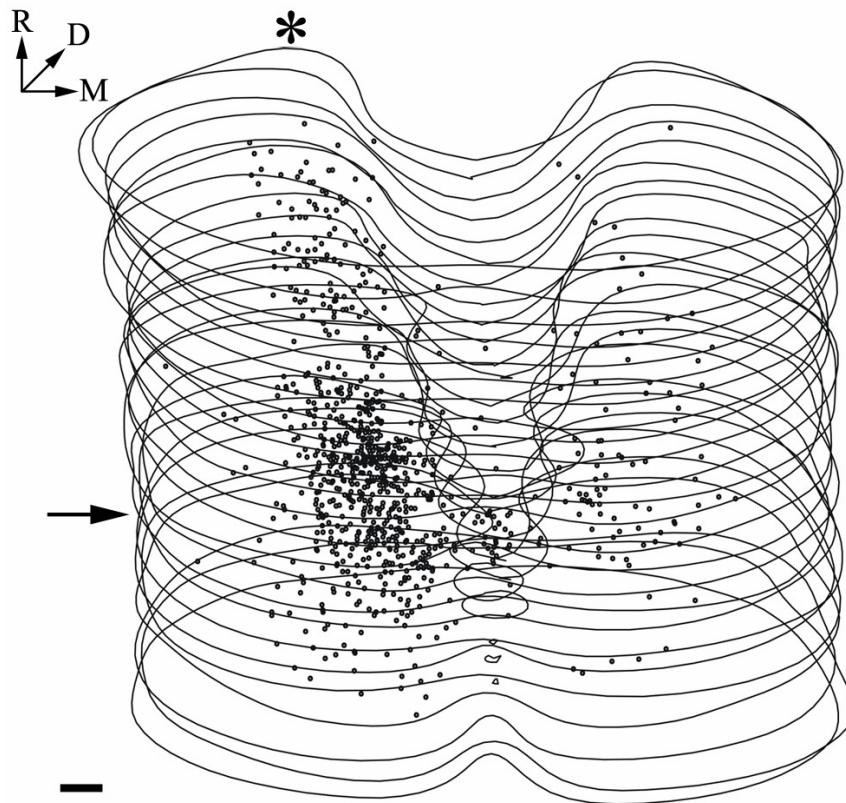
5. 2. 1. 1. Az utolsó rendű premotor interneuronok eloszlása az agytörzs területén

A Kemali és Braitenberg (1969) koordinátái alapján történő BDA injekciót követően a szűrással azonos oldalon egy jól körülhatárolható, kb. 200 µm átmérőjű jelölt terület jelent meg az agytörzs dorsomedialis részében, az obexhez közel (**28. B. ábra**). Ez a terület a hypoglossus mag dorsomedialis subnucleusának caudalis része, mely elsősorban a nyelv protraktor izmait (m. geniohyoideus, a m. genioglossus) beidegző motoneuronokat tartalmazza, valamint néhányat a belső nyelvizmokat ellátó motoneuronok közül (Matesz és mtsai., 1999; Birinyi és mtsai., 2004). Az injektálás eredményeként jól láthatók a retrográd jelölődött interneuronok, melyek a szűrás szintjétől rostralisán 1200 µm, míg caudalisán 500 µm távolságig voltak megtalálhatók, túlnyomó többségben az ipsilateralis oldalon, de kontralateralisan is nagy számban fordultak elő (**28. A, C; 29. ábra**).

A békák agyából készült keresztmetszeteken jól követhető a BDA által retrográd jelölődött interneuronok eloszlása az agytörzs különböző szintjeiben. Az agytörzs caudalis részében a jelölt sejtek többsége a nyúltvelő zárt részében, elsősorban az azonos oldali szürkeállományban helyezkedett el. Rostralis irányban haladva az interneuronokat a IX. agyideg szintjéig tudtuk nyomon követni, ahol elsősorban a rhombencephalon formatio reticularisának (FR) kis sejtes részére lokalizálódtak. Ezen belül többségük a zona reticularis medialis területén található nucleus reticularis mediusban helyezkedett el. Kisebb számban megtalálhatók voltak a zona reticularis mediában a nucleus raphe területén, a zona reticularis medialisban található nucleus reticularis inferiorban, valamint a zona reticularis laterálisban mindkét oldalon. A hypoglossus magtól rostralisán elhelyezkedő jelölt sejtcsoport homológ az emlősökben leírt nucleus prepositus hypoglossival (González és mtsai., 1984). A nucleus tractus solitarii, a vestibularis magok, a nucleus tractus spinalis nervi trigemini, valamint a hátsó kötegi magok kis számban szintén tartalmaztak retrográd jelölődött sejteket (**28. A, B, C. ábra**).



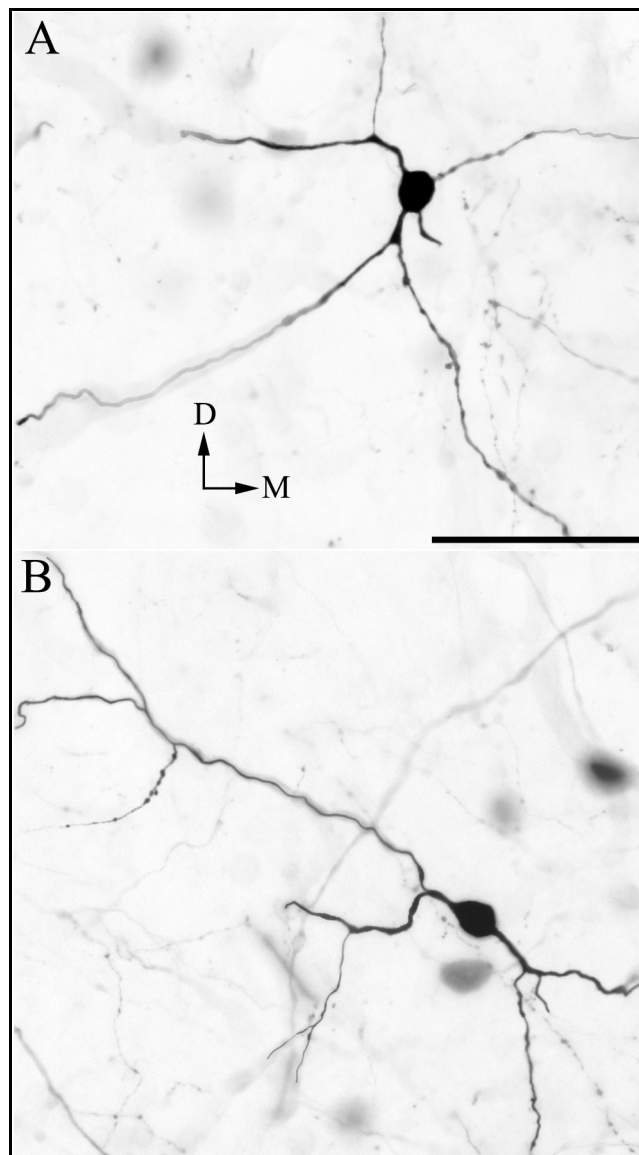
28. ábra: A nyelv protraktor izmaival kapcsolatban álló retrográd jelölődött utolsó rendű premotor interneuronok eloszlási mintázata az agytörzs különböző szintjeiben a hypoglossus mag dorsomedialis subnucleusának caudalis részébe történő BDA injekciót követően. A coronalis metszeteken látható az injektálás szintje (B), valamint a tőle legrostralisabban (A) és legcaudalisabban (C) jelölődött utolsó rendű premotor interneuronok eloszlása. HM: hátsó kötegi magok; NVD: nucleus vestibularis descendens; NVM: nucleus vestibularis medialis; NA: nucleus ambiguus; nspV: nucleus tractus spinalis nervi trigemini; nTS: nucleus tractus solitarii; PHy: nucleus prepositus hypoglossi; Ra: nucleus raphe; Ri: nucleus reticularis inferior; Rm: nucleus reticularis medius; XII: nucleus nervi hypoglossi. Lépték: 100 μ m.

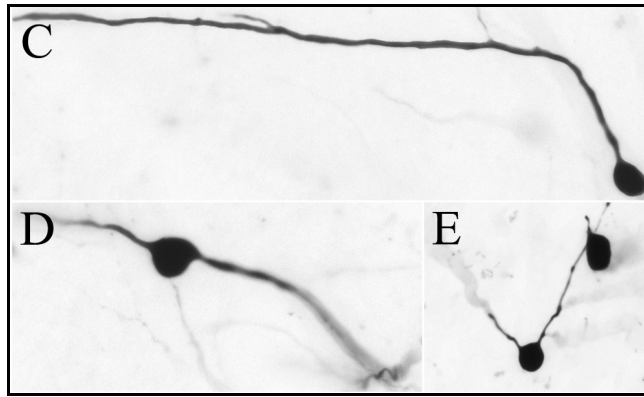


29. ábra: Az agytörzsből készült keresztmetszetek neurolucida rekonstrukciója a hypoglossus mag dorsomedialis subnucleusának caudalis részébe történő BDA injekciót követően. A pontok a nyelv protraktor izmaival kapcsolatban álló retrográd jelölődött utolsó rendű premotor interneuronokat jelölik. A csillag a BDA injekció oldalát, a nyíl az injektálás szintjét mutatja. D: dorsalis; M: medialis; R: rostralis. Lépték: 100 μ m.

5. 2. 1. 2. Az utolsó rendű premotor interneuronok morfológiai tulajdonságai

Az agytörzs különböző területein található, BDA-val retrográd jelölődött interneuronok morfológiai jegyei meglehetősen változatosak voltak, de általánosságban elmondhatjuk, hogy keresztmetszetben ovális vagy kerek sejttesttel rendelkeztek, és csak néhányuk mutatott piramis alakot. Az interneuronok sejttestének átmérője 10-12 μm között változott. A jelölt sejtek, melyek a motoneuronok sejttestével és proximalis dendritjeivel állnak kapcsolatban 2 - 4 törzsdendritet adtak. A teljes dendritfa kiterjedése a sejttesttől számítva elérte a 120 μm hosszúságot (**30. ábra**).





30. ábra: A nyelv protraktor izmait beidegző motoneuronokkal kapcsolatban álló retrográd jelölődött utolsó rendű premotor interneuronok. A neuronok a formatio reticularis (A, B), a nucleus tractus spinalis nervi trigemini (C), a hátsó kötegi magok (D), valamint a nucleus vestibularis medialis területéről (E) származnak. D: dorsalis; M: medialis. Lépték: 50 μ m.

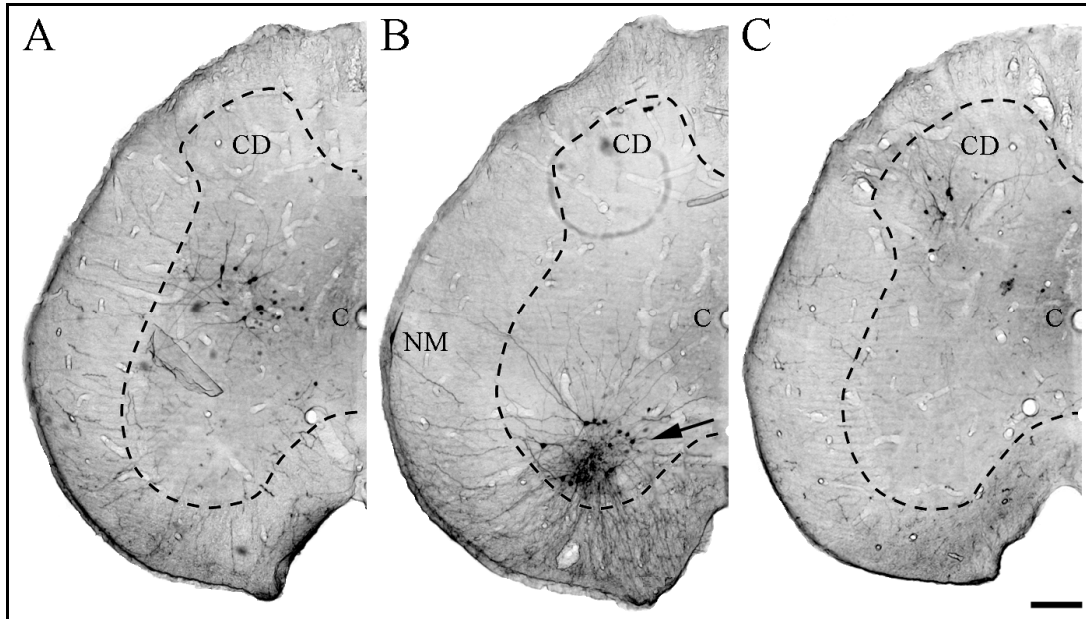
A dendritfa elágazódási mintázata alapján a jelölt neuronokat két nagy csoportra osztottuk. Az első csoportba tartozó sejtek gazdagon elágazó dendritfával rendelkeztek, mely egy kör vagy ovális alakú területet fedett le az agytörzsben. Ezek a neuronok kizárólag a formatio reticularis területén voltak jelen (30. A, B. ábra). A sejtek másik csoportjára jellemző volt, hogy a törzsdendritek mindössze egyszer vagy kétszer ágaztak el, és hosszú terminalis szegmentummal rendelkeztek. Ebben az esetben a dendritfa kiterjedése csak viszonylag kis területet fedett le. Ide tartozott a neuronok többsége, melyek elhelyezkedésük tekintetében nem mutattak preferenciát (30. C, D, E. ábra).

5. 2. 2. A nyelv retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok vizsgálata

5. 2. 2. 1. Az utolsó rendű premotor interneuronok eloszlása az agytörzs és a gerincvelő területén

A Kemali és Braitenberg (1969) által meghatározott koordináták alapján BDA-t injektáltunk a hypoglossus mag ventrolateralis subnucleusának caudalis részébe, mely elsősorban a nyelv visszahúzásáért felelős retraktor izmok közül a m. sternohyoideust beidegző motoneuronokat tartalmazza (Matesz és mtsai., 1999). Hasonlóan a protraktor izmokkal kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok vizsgálata során

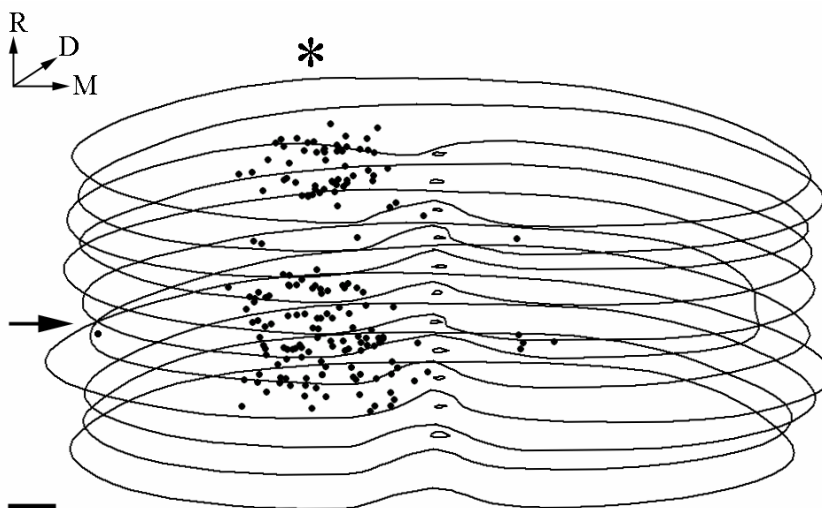
tapasztaltakhoz, az injekció helyén ebben az esetben is egy jól körülhatárolható, kb. 200 μm átmérőjű jelölt területet figyeltünk meg (**31. B. ábra**). Az injektlás eredményeként szintén jól láthatók voltak a retrográd jelölődött interneuronok, melyeket az injekció szintjétől rostralisan 420 μm , míg caudalisan 180 μm távolságig tudtuk követni. A jelölt sejtek túlnyomó többségben az ipsilateralis oldalon, minimális számban kontralateralisan fordultak elő (**31. A, C; 32. ábra**).



31. ábra: A nyelv retraktor izmaival kapcsolatban álló retrográd jelölődött utolsó rendű premotor interneuronok eloszlási mintázata az agytörzs és a gerincvelő különböző szintjeiben a hypoglossus mag ventrolateralis subnucleusának caudalis részébe történő BDA injekciót követően. A keresztmetszeteken látható az injektlás szintje (B), valamint a tőle legrostralisan (A) és legcaudalisan (C) jelölődött utolsó rendű premotor interneuronok eloszlása. C: canalis centralis; NM: nucleus marginalis (Hoffmann mag); CD: cornu dorsale. Lépték: 100 μm .

Az agytörzsből és a gerincvelő cervicalis szakaszából készült keresztmetszeteken jól követhető a BDA által retrográd jelölődött interneuronok eloszlási mintázata. Az injekciótól rostralisan a neuronok legnagyobb része az intermedier szürkeállományban, az injektlás szintjében a nucleus tractus spinalis nervi trigemini területén, míg caudalisan a cervicalis gerincvelő hátsó szarvában jelentek meg, elsősorban ipsilateralisan. A kisszámú, kontralateralisan található, retrográd jelölődött interneuron az intermedier

szürkeállományban volt megtalálható. Néhány nagyobb méretű sejt jelölődött ipsilateralisan, az oldalsó köteg ventralis részében, melyek elhelyezkedésük alapján megfelelnek a több állatfajban leírt nucleus marginalisnak, vagy Hoffmann magnak (Anderson és mtsai., 1964; Jansen és Loewy, 1997) (**31. A, B, C. ábra**).

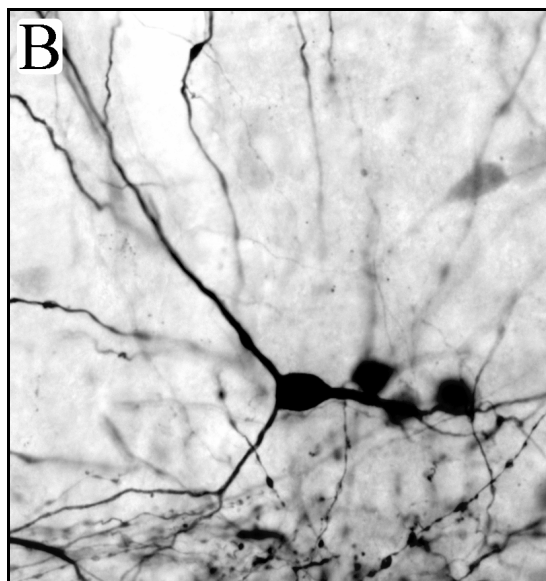
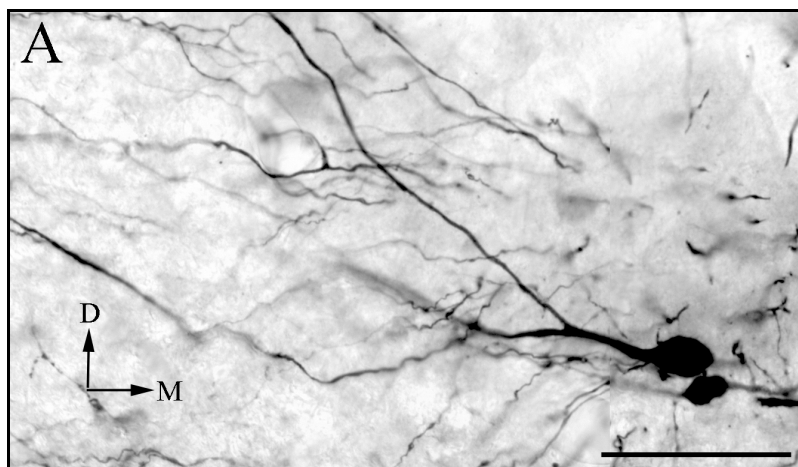


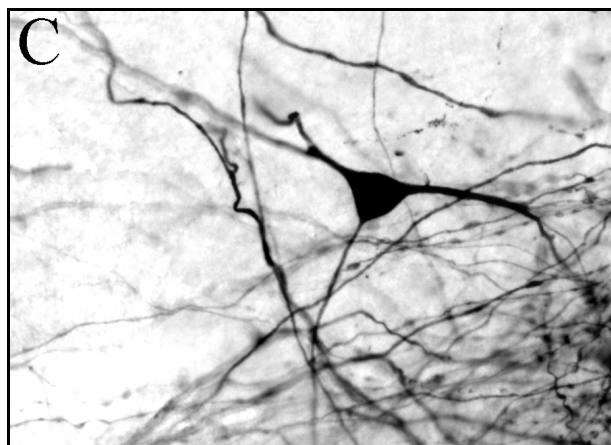
32. ábra: Az agytörzsből és a gerincvelő cervicalis szakaszából készült keresztmetszetek neurolucida rekonstrukciója a hypoglossus mag ventrolateralis subnucleusának caudalis részébe történő BDA injekciót követően. A pontok a nyelv retraktor izmaival kapcsolatban álló retrográd jelölődött utolsó rendű premotor interneuronokat jelölik. A csillag a BDA injekció oldalát, a nyíl az injektálás szintjét mutatja. D: dorsalis; M: medialis; R: rostralis. Lépték: 100 μ m.

5. 2. 2. 2. Az utolsó rendű premotor interneuronok morfológiai tulajdonságai

A hypoglossus mag ventrolateralis subnucleusa felől BDA-val retrográd jelölődött interneuronok morfológiai vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a sejtek túlnyomó többsége keresztmetszetben ovális sejttesttel rendelkezett, melyek nagy része egy vagy maximum két törzsdendritet adott. Ezek a sejtek elhelyezkedésük tekintetében nem mutattak preferenciát (**33. A. ábra**). Az ovális sejttesttel rendelkező interneuronok kisebb hányada, melyek a nucleus tractus spinalis nervi trigemini területén, valamint az intermediér szürkeállományban jelentek meg, három vagy négy törzsdendritet adtak (**33. B. ábra**). Az interneuronok sejttestének morfológiája alapján egy másik csoportot is elkülönítettünk, melybe az igen kis számban megjelenő piramis alakú testtel rendelkező

neuronok tartoztak. Ezek a sejtek általában három törzsdendritet adtak, és kizárólag a nucleus tractus spinalis nervi trigemini területén voltak megtalálhatók (**33. C. ábra**). Általánosságban elmondhatjuk, hogy a jelölt sejtek sejttestének átmérője 10-12 μm között változott. Külön figyelmet érdemel, hogy a hypoglossus mag ventrolateralis subnucleusa felől a nagyméretű, elongált sejttesttel rendelkező nucleus marginalis sejtjei is megjelölődtek (**33. D. ábra**).





33. ábra: A nyelv retraktor izmait beidegző motoneuronokkal kapcsolatban álló retrográd jelölődött utolsó rendű premotor interneuronok. A neuronok a nucleus tractus spinalis nervi trigemini (A, C), az intermediér szürkeállomány (B), valamint nucleus marginalis (D) területéről származnak. D: dorsalis; M: medialis. Lépték: 50 μ m.

6. Megbeszélés

Munkánk során a békák zsákmányszerző és táplálkozási magatartásának szabályozását végző szenzomotoros rendszer két, kulcsfontosságú szerepet betöltő elemének vizsgálatával foglalkoztunk, neuronális jelölési technikák alkalmazásával. Tanulmányoztuk az egyes vestibularis receptor szervekből, valamint a végtagokban található proprioceptorok felől érkező primer afferens rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatait, valamint megvizsgáltuk a nyelv protraktor és retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok eloszlását és morfológiai tulajdonságait.

6. 1. A vestibularis afferens rostok és a gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi dye-coupled kapcsolatai

6. 1. 1. A dye-coupled neuronális jelölési módszer

Alacsony molekulahúlyú neuronális jelölőanyag, a neurobiotin (Vector, 286 Da) alkalmazásával jelöltük meg a különböző vestibularis receptor szervekből, valamint a végtagok proprioceptoraiból származó primer afferens rostokat. Az alkalmazott jelölőanyag axonális transzport révén a primer afferensek rostterminálisába szállítódik, majd alacsony molekulahúlyának köszönhetően a gap junctionokon keresztül bejut a szemcses sejtekbe. Ez a neuronális jelölési módszer tehát alkalmas a primer afferens rostok, azok terminálisainak, valamint a velük gap junctionokon keresztül kapcsolatban álló szekunder neuronok megjelölésére, ezáltal a gap junctionokat dye-coupled kapcsolatoknak („festék-kapcsolt összeköttetések”), a szekunder neuronokat pedig dye-coupled sejteknek nevezzük (Lin és Faber, 1988; Pereda és mtsai., 1995; Velázquez és Carlen, 2000; Birinyi és mtsai., 2001; Bacskai és Matesz, 2002; Coleman és Sengelaub, 2002). A módszer specificitását előző munkánk során glycyrrhetin sav (GRA) alkalmazásával teszteltük, melyet az elektromos kapcsolatok gátlószerének tekintenek (Goldberg és mtsai., 1996). A blokkoló anyagnak a kisagyba történő injektálását, illetve a primer afferensek gátlószerrel történő közvetlen kezelését követően a rostok által felvett neurobiotin nem jutott át a

blokkolt elektromos kapcsolatokon, így a primer afferensek jelölése nem eredményezte a kisagyi szemcses sejtek jelölődését (Bacsikai és Matesz, 2002).

6. 1. 2. A primer afferens rostokkal kapcsolatban álló kisagyi dye-coupled szemcses sejtek eloszlási mintázata

Munkánk során jelentős mértékű átfedést találtunk az egyes félkörös ívjáratok és otolith szervek kisagyi célterülete között (**34. A, B. ábra**). Előzetesen hasonló jelenséget tapasztaltunk a vestibularis magkomplex területén a különböző vestibularis receptor szervekkel kapcsolatban álló dye-coupled szekunder vestibularis neuronok által elfoglalt területek esetében is (Birinyi és mtsai., 2001), melyet elektrofiziológiai vizsgálatok is bizonyítottak (Straka és mtsai., 2000). Számos fiziológiai és morfológiai tanulmány leírta, hogy a különböző vestibularis receptor szervek végződési területei a központi idegrendszer jelentős részében nagymértékű átfedést mutatnak békákban (Matesz, 1979; Suarez és mtsai., 1985; Birinyi és mtsai., 2001), galambokban (Dickman és Fang, 1996), valamint emlős fajokban (Carleton és Carpenter, 1984; Burian és mtsai., 1990; Siegborn és mtsai., 1991). Elektrofiziológiai vizsgálatok során a jól elkülönült szomatotópiás organizáció hiányát figyelték meg a kisagy területén az egyes otolith szervek, valamint félkörös ívjáratok szeparált ingerlését követően (Llinás, 1976). Jelen munkánk tehát az előzetes elektrofiziológiai tanulmányokat alátámasztva megerősíti azt az elképzelést, mely szerint az egyéb szenzoros rendszerek központi idegrendszeri kapcsolataival ellentétben a különböző vestibularis receptor szervekből származó primer afferens rostok végződési területei között nem húzható éles határ, azok között jelentős átfedés figyelhető meg. Fontos megemlítenünk, hogy a szomatotópiás elrendeződésnek a szenzoros folyamatok során betöltött funkcionális jelentősége erősen vitatott és nem tisztázott teljes mértékben. Egyes kutatók véleménye szerint a neuronoknak az embrionális fejlődés során létrejött speciális szerveződése nagymértékben fokozza a szenzoros folyamatok hatékonyságát, hiszen a megfelelő idegsejtek közötti állandó kommunikáció lehetősége az adott neuroncsoport gyors aktivációját biztosítja. Mások azt feltételezik, hogy a szomatotópiás organizáció alapján történő vizsgálatok esetleg félrevezetőek lehetnek a különböző neuronális folyamatok alapjainak megértésében (Kaas, 1997; Weinberg, 1997).

Kísérleteink során a különböző vestibularis receptor szervek kisagyi célterülete között az átfedés mértéke eltérőnek bizonyult mediolateralis, rostrocaudalis, valamint

dorsoventralis irányban. A félkörös ívjáratok vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy az elülső és hátsó félkörös ívjárat felől jelölődött szemcses sejtek legnagyobb számban az ipsilateralis lobus auricularisban jelentek meg, és kisebb számban terjedtek be a corpus cerebelli területére. Ezzel ellentétben a horizontalis félkörös ívjáratokkal kapcsolatban álló dye-coupled sejtek kizárólag az auricularis lebeny lateralis részében voltak jelen. A horizontalis félkörös ívjárat kisagyi célterülete mutatott legkisebb kiterjedést mindhárom vizsgált irányban, míg a verticalis (elülső és hátsó) félkörös ívjáratokkal kapcsolatban álló területek jóval nagyobbak bizonyultak. A tapasztalt különbség magyarázható azzal, hogy a horizontalis és verticalis félkörös ívjáratok szerepe eltér a különböző szenzomotoros folyamatok során, melyek közül kiemelhetjük a vestibuloocularis és vestibulospinalis reflexeket (Rohregger és Dieringer, 2002; Straka és Dieringer, 2004). Bizonyított, hogy a vestibuloocularis reflex során a különböző külső szemmozgató izmok aktivációjában eltérő arányban vesznek részt az egyes félkörös ívjáratokból származó bementek (Rohregger és Dieringer, 2002).

A verticalis félkörös ívjáratok esetében tapasztaltakhoz hasonlóan az otolith szervek felől jelölődött szemcses sejtek mind az ipsilateralis lobus auricularis, mind pedig a corpus cerebelli területén megjelentek. A sacculus és a lagena dye-coupled neuronjai a kisagy rostralis részében helyezkedtek el, csak kismértékű átfedést mutatva az utriculus jóval caudalisabban elhelyezkedő kisagyi célterületével. A dye-coupled szemcses sejtek itt tapasztalt eloszlási mintázata valószínűleg az egyes otolith szervek funkcionális különbségén alapul. Bizonyított, hogy az utriculus a törzsfejlődés során megőrizte egyensúlyérző funkcióját, így primer afferens rostjai mind békákban, mind emlősökben elsősorban a vestibularis magok területén végződnek, és nem projiciálnak a halló központokba (Blanks és Precht, 1976; Matesz, 1979; Lewis és Narins, 1999; Birinyi és mtsai., 2001; Straka és mtsai., 2002), továbbá ez az egyetlen otolith szerv, mely képes a vestibuloocularis reflex kiváltására (Rohregger és Dieringer, 2002). Az utriculussal szemben a sacculus és a lagena számos taxonban, így békákban is kettős szereppel rendelkezik, vagyis mind halló, mind pedig vestibularis receptor szervként funkcionál (Aschroft és Hallpike, 1934; Caston és mtsai., 1977; Cortopassi és Lewis, 1996, 1998; Lewis és Narins, 1999; Straka és mtsai., 2002). A kettős funkció ellenére békákban a sacculus elsősorban a hallásérzékelésben játszik szerepet, így a vestibularis magkomplexen kívül nagyszámú afferens rostot küld a nucleus saccularishoz, mely emlősökben valószínűleg megfelel a nucleus cochlearis ventralisnak. Az egyensúlyérzékelésben betöltött mérsékelt szerepét az is alátámasztja, hogy a vele kapcsolatban álló primer

afferens rostok a szekunder vestibularis neuronokon nem mutatnak konvergenciát a félkörös ívjáratokból származókkal, valamint nem vesz részt a vestibuloocularis, a maculoocularis és a testtartási reflexek kialakításában sem (Straka és mtsai., 2002). Ezzel szemben a lagena esetében az egyensúlyérzékelés dominanciáját figyelték meg, mely ennek megfelelően elsősorban a vestibularis magokkal létesít kapcsolatot, és részt vesz a testtartási reflexek kialakításában is (Matesz, 1979, 1988; Birinyi és mtsai., 2001; Straka és mtsai., 2002). A két receptor szerv kettős szerepét az is alátámasztja, hogy az utriculussal ellentétben primer afferens rostokat küldenek az oliva superiorba, mely békákban az utóagy hallóközpontjának tekinthető (Matesz, 1979). A hártás labirintusban található receptor szervek az evolúció során jelentős változásokon mentek keresztül, így az azonos névvel illetett receptorok a különböző taxonokban nem feltétlenül rendelkeznek azonos funkcióval. Így például a sacculus, amely a törzsfejlődés alacsonyabb szintjein a hallásérzékelésben játszott kiemelkedő szerepet, emlősökben már csaknem tisztán egyensúlyérzékelő szervként van jelen (Cortopassi és Lewis, 1998; Straka és mtsai., 2002). A békákban található sacculus és lagena, melyek kettős szereppel bírnak evolúciós átmenetnek tekinthetők a belső fül két alapvető funkciójú receptor típusa között (Cortopassi és Lewis, 1998).

Fontos kihangsúlyoznunk, hogy az általunk végzett kísérletek nem adnak teljes körű leírást a vestibularis receptorok szomatotópiás lokalizációját illetően. Elektrofiziológiai adatok szerint az egyes receptor szervek perifériáján és centrális részén a szőrsejtek különböző fiziológiai tulajdonságokkal rendelkeznek, valamint a velük kapcsolatban álló rostok átmérőjében is eltéréseket tapasztaltak (Straka és mtsai., 2000). Ezek az eredmények utalhatnak arra, hogy az egyes receptor szervek különböző területeiről származó afferens rostok esetleg eltérő preferenciát mutatnak kisagyi célterületüket, illetve szekunder neuronokon történő konvergenciájukat illetően (Highstein és mtsai., 1987; Baird és mtsai., 1988; Straka és mtsai., 2000; Straka és Dieringer, 2004). Sajnos az általunk alkalmazott kísérleti módszer ilyen részletekbe menő vizsgálatokhoz nem megfelelő, így a fent említett elektrofiziológiai adatok alátámasztására sem alkalmas.

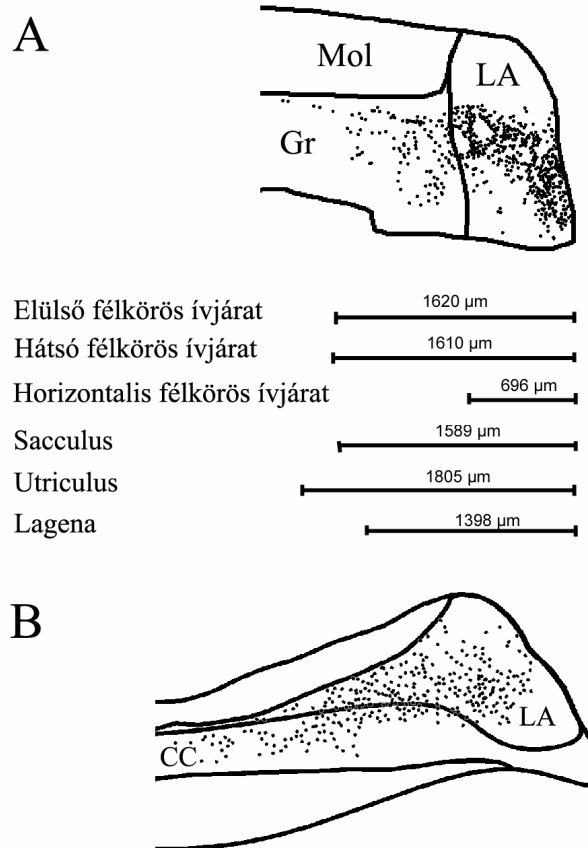
Eredményeink alapján kérdésként merülhet fel bennünk, hogy a félkörös ívjáratokból, otolith szervekből, valamint szomatoszenzoros receptorokból származó afferensek konvergenciájának következtében a szemcsesejtek sokrétű információt tartalmazó bemenetet kapnak-e, vagy esetükben az „egy receptor – egy neuron elv” érvényesül. A vestibularis bementek nagyfokú konvergenciáját mutatták ki béka Purkinje-sejteken, amely azt sugallja, hogy a kisagy központi szerepet tölt be a különböző vestibularis receptor

szervekből származó információk integrációjában (Llinás és mtsai., 1971; Blanks és mtsai., 1975 a, b). Emlősökben hasonló eredményeket kaptak a vestibularis magok területén történő vizsgálatok során (Baker és mtsai., 1984; Bush és mtsai., 1993). Az itt található szekunder vestibularis neuronokon történő konvergencia kiemelkedő jelentőséggel bír, hiszen ezen sejtek egy része premotor neuronként működik, melyek beidegzik az extraocularis és gerincvelői motoneuronokat, így az általuk integrált bemenetek iniciálják a vestibuloocularis és vestibulospinalis reflexeket (Straka és mtsai., 2000). Azonban mind emlősökön, mind alacsonyabb rendű fajokon végzett elektrofiziológiai tanulmányok leírták, hogy a vestibularis magokban a szekunder vestibularis neuronok kb. 90 %-a kizárólag egyetlen félkörös ívjáráttól kap monoszínaptikus serkentő bemenetet, és csak a maradék 10 % áll kapcsolatban két vagy több félkörös ívjáráttal (Wilson és Felpel, 1972; Kasahara és Uchino, 1974; Straka és mtsai., 1997). Az utóbbi adatok sokkal inkább az „egy receptor – egy neuron” elv meglétét sugallják.

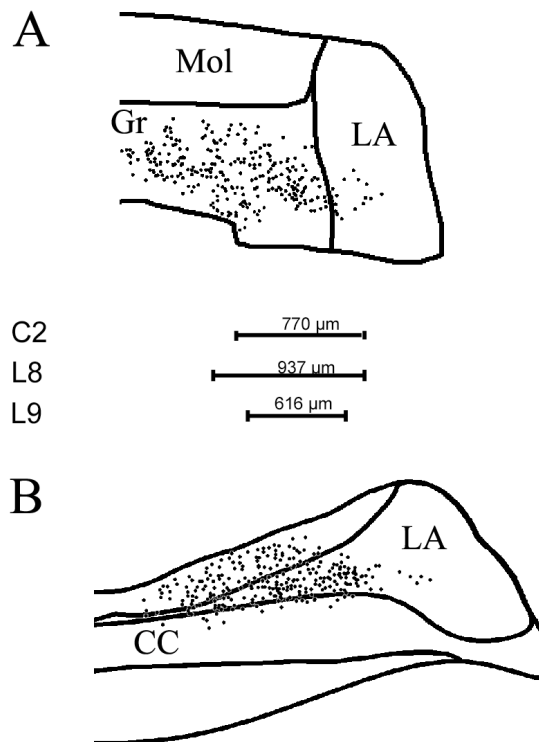
A gerincvelői hátsó kötegi rostok felől jelölődött szemcsesejtek a vestibularis receptor szervek vizsgálata során tapasztaltakkal szemben elsősorban a corpus cerebelli területén jelentek meg és lateral felé csak kismértékben terjedtek be a lobus auricularis területére (**35. A, B. ábra**). A cervicalis és lumbalis gerincvelői idegekkel kapcsolatban álló dye-coupled neuronok szinte teljes rostrocaudalis irányú elkülönülését tapasztaltuk, míg mediolateralis és dorsoventralis irányban a kisagyi célterületek nagyfokú átfedése volt megfigyelhető. Az elülső és hátsó végtagokkal kapcsolatban álló gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi célterületének jelentős mértékű átfedését támasztja alá számos előzetes morfológiai és fiziológiai adat is. Munkacsoportunk korábbi kísérletei során az elülső és hátsó végtagokat beidegző gerincvelői hátsó kötegi rostok kobalttal történő szelektív jelölését követően a brachialis és lumbalis gerincvelői szegmentumokkal kapcsolatban álló kisagyi területek teljes átfedését tapasztalták mind mediolateralis, mind dorsoventralis irányban (Szekely és mtsai., 1980). Elektrofiziológiai tanulmányok során sem tapasztaltak szomatotópiás lokalizációt a kisagyba érkező elülső, illetve hátsó végtagból származó szomatoszenzoros impulzusok vizsgálata során (Nacimiento, 1969; Rushmer és Woodward, 1971; Dieringer, 1974; Amat és mtsai., 1984).

A vestibularis receptor szervek, valamint a gerincvelői hátsó kötegi rostok kisagyi célterületének összehasonlítása során mindhárom vizsgált irányban tapasztaltunk bizonyos fokú átfedést (**34. A, B; 35. A, B. ábra**). Ez a részleges átfedés alátámasztja munkacsoportunk azon előzetes elméleteit, melyek szerint békákban a vestibularis rendszer jelentős számú projekciót ad a központi idegrendszer azon területeire, melyek

proprioceptív információt is fogadnak, vagyis feltételezhetjük az eltérő eredetű szenzoros információk konvergenciáját, mely elengedhetetlenül szükséges a különböző magatartási reakciók megfelelő koordinációja során (Matesz és mtsai., 2002).



34. ábra: A vestibularis receptor szervek felől jelölődött kisagyi dye-coupled szemcsesejtek mediolateralis irányú kiterjedése a kisagy coronalis (A) és horizontalis (B) metszetében. Mol: stratum moleculare; Gr: stratum granulosum; LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli.

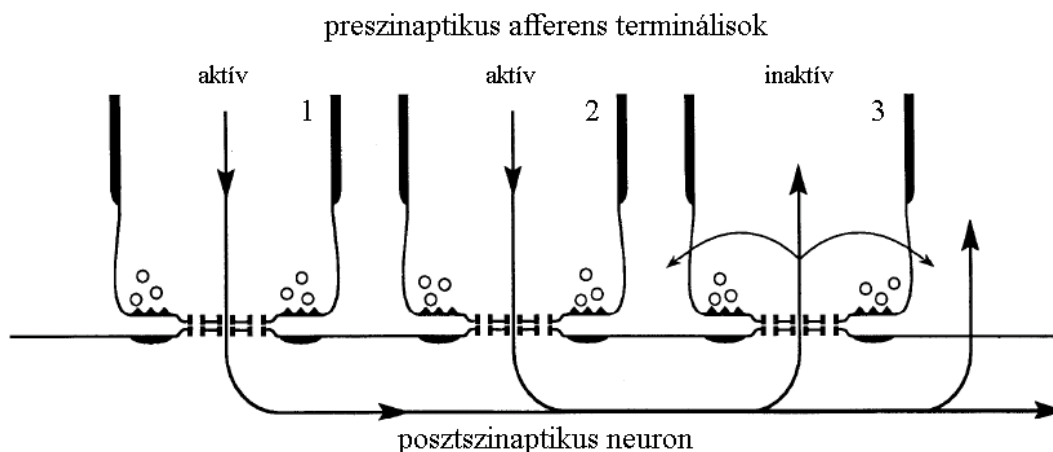


35. ábra: A C2, L8 és L9 gerincvelői idegek felől jelölődött kisagyi dye-coupled szemcses sejtek mediolaterális irányú kiterjedése a kisagy coronalis (A) és horizontalis (B) metszetében. Mol: stratum moleculare; Gr: stratum granulosum; LA: lobus auricularis; CC: corpus cerebelli.

6. 1. 3. Az elektromos transzmisszió szerepe a mozgáskoordinációt szabályozó szenzomotoros rendszer működésében

Elektrofiziológiai vizsgálatok alapján feltételezik, hogy a primer afferensek és szekunder neuronjaik közötti elektromos összeköttetések funkcionális jelentőségét az adja, hogy elősegítik az adott neuronnal kapcsolatban álló inaktív afferensek aktivációját. A folyamat lehetséges mechanizmusát mutatja be a **36. ábra**. Látható, amint három primer afferens rost szinaptikus kapcsolatot létesít a szekunder neuron dendritjével. Az első két aktív afferens rost impulzusa a sejt dendritjén keresztül ráterjed a harmadik preszinaptikus afferensre, melynek eredményeként az addig inaktív rost aktiválódik. Ez a folyamat tehát szinkronizációként szolgálhat az afferens impulzusaktivitásban, illetve felerősítheti a sejt szinaptikus aktivációját az aktív rostok számának növelésén keresztül. Ez azt sugallja, hogy az elektromos kapcsolatok jelentős szerepet játszhatnak az állatok azon viselkedési

mechanizmusában, melyekben a gyors és koordinált válaszok esszenciálisak az állat túlélése szempontjából (Pereda és mtsai., 1995).



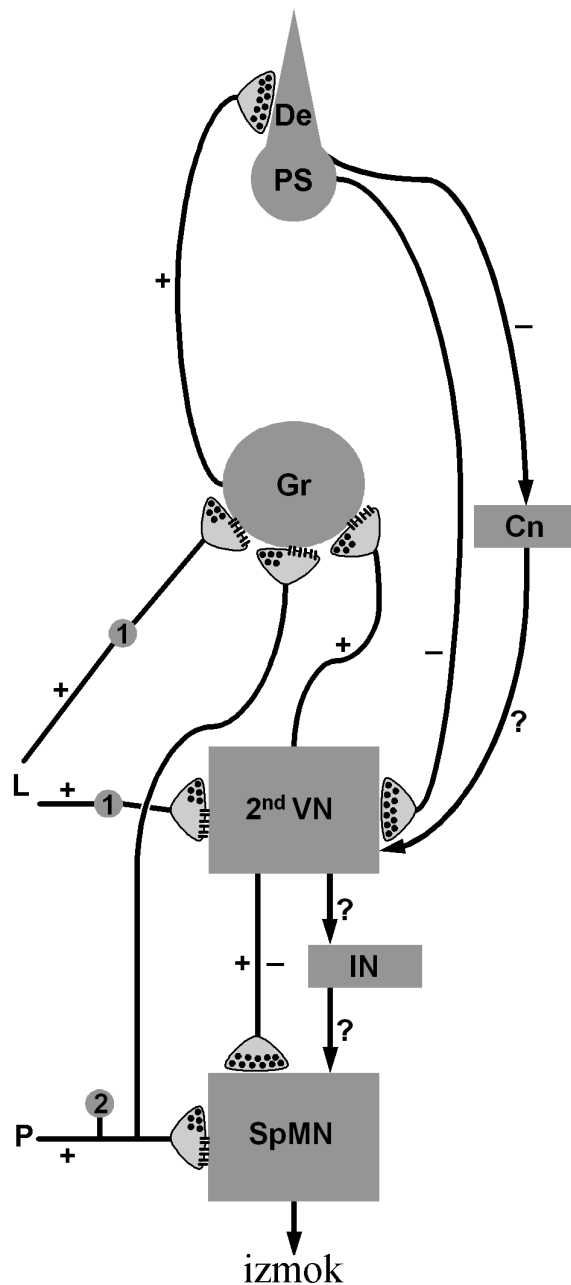
36. ábra: Az elektromos transzmisszió szerepe a mozgáskoordinációban (Pereda és mtsai. (1995) után módosítva).

A fiziológiai kísérleteket morfológiai vizsgálatokkal is alátámasztották, melyek során alacsony molekulásúlyú jelölőanyagok (Neurobiotin, illetve Lucifer yellow) posztzinaptikus sejtbe történő injektálását követően jelölődést figyeltek meg a preszinaptikus afferensek terminálisaiban, bizonyítva ezzel, hogy a gap junctionok nemcsak gyors anterográd szinaptikus transzmissziót biztosítanak, hanem retrográd intercellularis kommunikációt is lehetővé tesznek (Pereda és mtsai., 1995).

Ahogy az már előzetesen is említettük, a dye-coupled kapcsolatoknak, mint a gyors és koordinált mozgások elengedhetetlen feltételeinek, jelentős szerepet tulajdonítanak alacsonyabb rendűek központi idegrendszerének számos területén, hiszen annak következtében, hogy elősegítik a gyors intercellularis kommunikációt, egy adott neuroncsoport szinkronizált aktivitását biztosíthatják (El Manira és mtsai., 1993; Pereda és mtsai., 1995; Coleman és Sengelaub, 2002). Ezen területek közül kiemelhetjük a retina horizontalis sejtjeit, vagy csontos halakban az oculomotorius mag motoneuronjait. Korábbi, békákon végzett vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy a vestibularis ideg ingerlése meglehetősen rövid látenciaidejű választ eredményezett a gerincvelő lumbalis szegmentumában (Magherini és mtsai., 1974). Mivel a primer vestibularis afferens rostok nem létesítenek közvetlen összeköttetést a gerincvelői motoneuronokkal, feltételezték az

elektromos transzmisszió jelenlétét a vestibularis magok szintjében, mely biztosítja a sejtek között a szenzoros információ gyors továbbítását. Ezt a feltevést későbbi tanulmányok is igazolták, bebizonyítva a dye-coupled kapcsolatok meglétét a primer vestibularis afferens rostok és a szekunder vestibularis neuronok között (Dieringer, 1995; Straka és mtsai., 1997; Birinyi és mtsai., 2001). Jelen munkánkban a kisagyi szemcsesejtek és a primer afferens rostok között leírt dye-coupled kapcsolat további bizonyítékot nyújt az elektromos transzmissziónak a békák szenzomotoros rendszerében betöltött kiemelkedő jelentőségére (Precht és Llinás, 1969; Freeman és Nicholson, 1975; Llinás, 1976; Matesz, 1979; Straka és Dieringer, 1992).

A **37. ábra** a vestibulocerebellospinalis neuronhálózat lehetséges működési elvét mutatja be a gap junction típusú kapcsolatokra fókuszálva. A test elmozdulása során mind a hártvás labirintusban található vestibularis receptorok, mind a végtagok izmaiban található proprioceptorok aktiválódnak. A labirintusból származó primer afferens rostok kémiai és elektromos szinapszisokon keresztül teremtenek kapcsolatot szekunder vestibularis neuronjaikkal. A gap junctionokon keresztül a szomszédos, addig inaktív rostterminálisok depolarizálódhatnak, növelve ezzel a vestibularis bemenetek hatékonyságát, aminek következtében egyre több szekunder vestibularis neuronok aktiválódik. A szekunder vestibularis neuronok a tractus vestibulospinalison keresztül közvetlenül, vagy interneuronok közbeiktatásával kémiai szinapszisokon keresztül gátló, illetve serkentő parancsot küldenek a gerincvelői motoneuronoknak. A kémiai és elektromos ingerületátvitel kombinálódása egy olyan mechanizmust eredményezhet, amely a motoneuronok szekvenciális aktivációját eredményezheti. Abban az esetben azonban, ha a test elmozdulása nagyon gyors, az ingerület terjedése a vestibularis receptorokból a gerincvelői motoneuronokhoz és onnan az izmokhoz relatíve lassú ahhoz, hogy a test egyensúlyi helyzetének megtartása érdekében a kompenzatórikus izomösszehúzódnás időben megtörténjen. A megfelelő izomkontrakció eléréséhez a mi modellünk szerint egy kiegészítő vagy rásegítő mechanizmus áll rendelkezésre a vestibularis receptor szervekből, valamint a proprioceptorokból származó primer afferens rostok és a kisagyi szemcsesejtek között lévő dye-coupled kapcsolatok révén. Ezek az elektromos kapcsolatok felerősíthetik és szinkronizálhatják az afferens szignált, és a szemcsesejtek axonjain keresztül nagyszámú kisagyi Purkinje-sejt gyors aktivációját teszik lehetővé. A Purkinje-sejtek gátló működése közvetlenül, vagy a kisagyi magokon keresztül befolyásolja a szekunder vestibularis neuronok tüzelési mintázatát, ezáltal növelve vagy csökkentve a gerincvelői motoneuronok aktivitását.



37. ábra: A vestibulocerebellospinalis neuronhálózat modellje. L: a hártýás labirintus vestibularis receptorai; P: az izmok proprioceptorai; 1: ganglion vestibulare; 2: ganglion spinale; +: serkentés; -: gátlás; : kevert típusú szinapszis; : tisztán kémiai szinapszis; 2nd VN: szekunder vestibularis neuronok; SpMN: spinalis motoneuronok; IN: interneuronok; Gr: kisagyi szemcsesejtek; PS: Purkinje-sejt; De: a Purkinje-sejt dendritje; Cn: kisagyi magok; Izmok: a végtagok izmai.

6. 2. A nyelv protraktor és retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok szerveződésének vizsgálata

6. 2. 1. BDA alkalmazásával történő retrográd neuronális jelölési módszer

Bizonyított, hogy a BDA, mely mind retrográd, mind anterográd módon transzportálódik, képes bejutni a neuronok axonterminálisaiba, dendritjeibe, valamint a sejttestekbe (Veenman és mtsai., 1992; Rajakumar és mtsai., 1993). Egy adott neuronális jelölőanyag alkalmazása esetén bizonytalanságok merülhetnek fel a módszer specificitását illetően. Az egyik lehetséges oka a nem specifikus jelölődéseknek, hogy különböző eredetű rostok haladhatnak át az injektálás helyén, melyek szintén felvehetik az alkalmazott jelölőanyagot (Veenman és mtsai., 1992; Rajakumar és mtsai., 1993; Dolleman-Van der Weel és mtsai., 1994; Sidibé és Smith, 1996). Azonban ezt a feltételezést számos tanulmány megcáfolta, melyek szerint BDA felvételére és továbbítására kizárólag a sérült rostok képesek, míg az intakt rostok által felvett jelölőanyag mennyisége elhanyagolható, amennyiben azt iontoforézissel vittük be a vizsgálni kívánt területre (Veenman és mtsai., 1992; Rajakumar és mtsai., 1993; Sidibé és Smith, 1996). Továbbá jelen esetben a hypoglossus mag motoneuronjai között nincsenek áthaladó rostok, így azok nem specifikus jelölődése is kizárható. Mivel a BDA injekció a motoneuronok sejttestének, valamint proximalis dendritjeinek területére korlátozódott, nagyon valószínűtlen, hogy a hypoglossus maghoz közel haladó fasciculus longitudinalis medialis (FLM) rostjai megjelölődtek volna. Ezt a feltételezést igazolja, hogy a FLM magjában nem tapasztalnunk jelölődést. Ehhez hasonlóan a lemniscus medialis feltöltődése is valószínűtlennek tűnik, hiszen nem találtunk a thalamus irányába felszálló rostokat sem (Muñoz és mtsai., 1995). Felmerülhet bennünk, hogy a formatio reticularis területén található sejtek a reticulospinalis pálya eredésére szolgálnak, és a hypoglossus magba benyúló dendritjeiken keresztül jelölődtek meg. Azonban ezt a lehetőséget is elvethetjük, hiszen nem találtunk sem jelölt axonokat, sem rostterminálisokat a gerincvelő szintjében. Összességében véve tehát kijelenthetjük, hogy a retrográd jelölődött neuronok nagy többsége, melyeket utolsó

rendű premotor interneuronoknak tekintünk, közvetlen szinaptikus kontaktusban van a nyelvizmokat ellátó hypoglossus mag motoneuronjaival.

6. 2. 2. Az utolsó rendű premotor interneuronok szerveződése

Kísérleteink során azt tapasztaltuk, hogy a hypoglossus mag különböző subnucleusaival, ezáltal az ellentétes működést végző nyelvizom csoportokkal kapcsolatban álló premotor interneuronok lokalizációja különbözik egymástól.

A dorsomedialis subnucleus caudalis részébe adott BDA injekciót követően nagyszámú, retrográd jelölődött sejtet tudunk azonosítani az agytörzs különböző szintjeiben, melyek a protraktor nyelvizmokat beidegző motoneuronokkal kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronoknak tekinthetők. A sejtek az injektálás szintjétől mind rostralisán, mind caudalisán megtalálhatók voltak, főként ipsilateralisan, kisebb részben kontralateralisan. Elsősorban a rhombencephalon formatio reticularisának kis sejtjes részére lokalizálódtak, ezen belül főként a zona reticularis medialis területén található nucleus reticularis mediusban helyezkedtek el. Bizonyított, hogy a tectobulbaris és tectobulbospinalis leszálló pályákkal kapcsolatban álló formatio reticularis jelentős mértékben részt vesz a nyúltvelőben és a gerincvelőben található motoros rendszerek működésének koordinációjában (Grobstein és mtsai., 1983; Matsushima, 1989). Előzetes kísérleteink során a nucleus vestibularis laterálisba adott Phaseolus vulgaris leucoagglutinin (PHA-L) injekció után nagyszámú rostterminálist találtunk a jelen munkánkban leírt protraktor nyelvizmokkal kapcsolatban álló premotor interneuronok által elfoglalt területeken (Matesz és mtsai., 2002). Ez azt sugallja, hogy a vestibularis rendszer koordináló szerepe fontos lehet a zsákmányszerző magatartás során lezajló összerendezett izomműködésben.

A retraktor nyelvizmokat beidegző motoneuronokkal kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok feltérképezése érdekében a hypoglossus mag ventrolateralis subnucleusának caudalis részébe injektáltunk BDA-t. A retrográd jelölődött neuronok, melyek az agytörzs caudalis és a gerincvelő cervicalis részében helyezkedtek el, az injekció szintjétől ebben az esetben is mind rostralisán, mind caudalisán megtalálhatók voltak, viszont a protraktor nyelvizmokkal kapcsolatban álló neuronok vizsgálata során tapasztaltakhoz képest jóval kisebb távolságban. A sejtek néhány kivétellel ipsilateralisan helyezkedtek el, és elsősorban az intermedier szürkeállomány területére lokalizálódtak,

mely nagyszámú primer afferens rostot fogad a nervus trigeminustól, valamint erőteljes projekciót kap az előzőekben leírt nucleus vestibularis lateralistól. Leleteink tehát összhangban vannak azokkal az irodalmi adatokkal, melyek szerint a primer afferensek és a leszálló pályák csak kis százalékban végződnek közvetlenül a motoneuronokon (Burke, 1990), legnagyobb részük az utolsó rendű premotor interneuronokkal áll direkt kapcsolatban.

A protraktor és retraktor nyelvizmokkal kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok hasonló morfológiai sajátosságokat mutattak. Általánosságban elmondhatjuk, hogy a sejtestek mérete 10-12 μm között változott, míg alakjuk nagyrészt ovális, kisebb százalékban piramis alakúnak bizonyult. A ventrolateralis subnucleusba történő injektálást követően a nucleus marginalis területén BDA pozitivitást mutató sejtek az átlagosnál jóval nagyobbak voltak. A jelölt sejteket a dendritfa elágazódási mintázata alapján két nagy csoportba soroltuk. Az egyik csoport tagjai három, vagy több törzsdendrittel rendelkeztek, amelyek gazdagon elágazódtak, ezzel szemben a másik csoportba tartozó neuronok csak egy, maximum két, csekély mértékben elágazó törzsdendritet adtak. Mindkét izomcsoport vizsgálata során ez utóbbiak voltak jelen túlnyomó többségben. Korábban, a lumbosacralis motoneuronok premotor interneuronjainak vizsgálata során hasonló morfológiai adottságokat figyeltek meg patkányban (Puskár és Antal, 1997). Továbbá feltételezik, hogy a gerincvelőben és az agytörzsben található motoneuronok esetében a dendritfa elágazódási mintázatában megfigyelhető különbségek esetleg eltérő target preferenciára utalhatnak (Szekely, 1976; Matesz és mtsai., 1995; Birinyi és mtsai., 2004). Ebből arra következtethetünk, hogy jelen tanulmányban az eltérő morfológiájú premotor interneuronok a központi idegrendszer eltérő területeiről kaphatnak bemenetet.

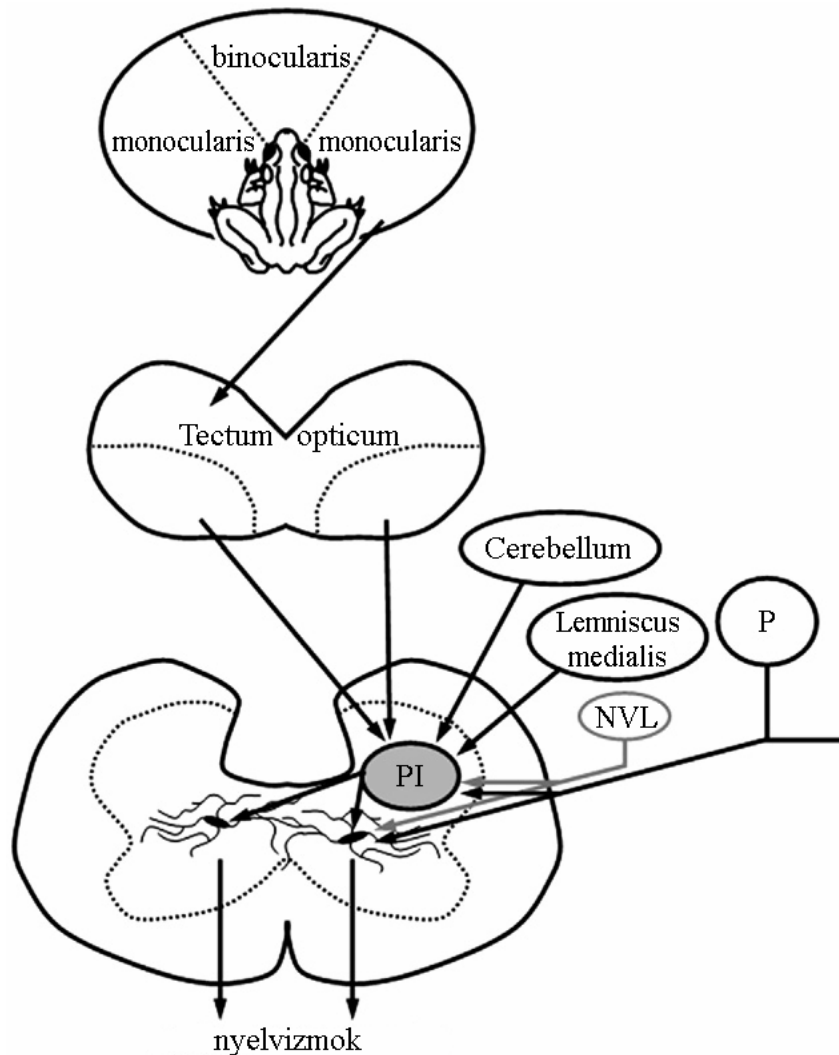
Nem találtunk irodalmi adatokat békák motoros agyidegi magvaival kapcsolatban álló premotor interneuronok neurokémiai karakterére vonatkozóan. Csirke gerincvelő lumbosacralis szegmentumán végzett vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy a premotor interneuronok jelentős része pozitívnak bizonyult glicinre vagy GABA-ra nézve, viszont egy másik jelentős részük nem tartalmazta ezen gátló neurotranszmittereket (Puskár és Antal, 1997). Patkányban a hypoglossus mag premotor interneuronjai szintén meglehetősen heterogénnek bizonyultak neurotranszmitter fenotípusukat illetően, viszont itt a glutamát és a GABA dominanciáját figyelték meg (Li és mtsai., 1997; Travers és mtsai., 2005). Mindezekből adódóan a premotor interneuronok neurokémiai karakterizálásához további vizsgálatok elvégzésére van szükség.

6. 2. 3. A zsákmányszerző magatartás neuronális háttere

Az eddig elvégzett morfológiai vizsgálatok során nem mutattak ki direkt kapcsolatot a vizuális stimulusok által generált ingerületeket integráló tectum opticum és a nyelvizmokat beidegző hypoglossus mag motoneuronjai között. Az bizonyos, hogy a zsákmányszerző viselkedés során a tectumból származó impulzusok a tectobulbaris pálya nagyrészt átkereszteződő, kisebb részben át nem kereszteződő rostjain keresztül továbbítódnak a hypoglossus mag motoneuronjai felé (Kostyk és Grobstein, 1987 b). Viszont fontos kiemelnünk, hogy a tectobulbaris pálya lézióját követően kizárólag a rhombencephalon szürkeállományában, a hypoglossus magot körülvevő kisméretű sejtek között találtak degenerált rostterminálisokat, melyek a motoneuronok között egyáltalán nem jelentek meg. Az irodalmi adatokat és saját eredményeinket összegezve tehát elmondhatjuk, hogy a tectum opticum és a hypoglossus mag között nagy valószínűséggel egy poliszinaptikus útvonal biztosítja az információáramlást, melynek egyik állomását az utolsó rendű premotor interneuronok képviselik. Ezen neuronok összegzik a központi ritmus generátor különböző területeiről származó impulzusokat, majd monoszinaptikus kapcsolatokon keresztül továbbítják azokat a motoros agyidegi magok motoneuronjai felé (Rubinson, 1968; Lazar, 1969; Matsushima és mtsai., 1989; Ewert és mtsai., 1990; Schwippert és mtsai., 1990). Továbbá az a tény, hogy a funkcionálisan eltérő motoneuronok az utolsó rendű premotor interneuronok eltérő populációival állnak kapcsolatban azt sugallja, hogy a zsákmányszerző magatartás különböző fázisait más - más szinaptikus bemenet szabályozza.

Eredményeink tovább erősítik azokat az elképzeléseket, melyek szerint a különböző eredetű szenzoros információk agytörzsi neuronokon történő konvergenciája jelentős szerepet játszik a békák zsákmányszerző és táplálkozási viselkedése során. A **38. ábra** ezen viselkedési mechanizmusok szabályozását végző neuronális körfolyamatok egy lehetséges modelljét mutatja be. A tectum opticumból kilépő impulzusok elsősorban a tectobulbaris pálya átkereszteződő rostjain keresztül továbbítódnak a formatio reticularis területén található utolsó rendű premotor interneuronok felé (Kostyk és Grobstein, 1987 b), melyek emellett szenzoros bemenetet kapnak a nucleus vestibularis lateralis (Matesz és mtsai., 2002), a lemniscus medialis (Muñoz és mtsai., 1995), valamint az állkapocszáró izmok proprioceptorai felől (Matesz és Székely, 1978). Továbbá a premotor interneuronok által elfoglalt terület jelentős átfedést mutat a kisagyból érkező efferensek, valamint a

nervus hypoglossus afferenseinek terminálisaival, melyek jelentős szerepet játszanak az állkapocs nyitásának időzítésén keresztül a nyelv protrakciójának koordinációjában (Anderson, 2001). Láthatjuk tehát, hogy a tectum opticumtól, a vestibularis rendszerből, a proprioceptorokból és a cerebellum területéről érkező szenzoros információk integrációja határozza meg az utolsó rendű premotor interneuronok aktivitását, és rajtuk keresztül a nyelvizmokat beidegző hypoglossus mag motoneuronjainak tüzelési mintázatát.



38. ábra: A békák zsákmányszerző viselkedése során lezajló neuronális körfolyamat modellje. PI: utolsó rendű premotor interneuron; NVL: nucleus vestibularis lateralis; P: proprioceptorok.

7. Összefoglalás, eredmények jelentősége

Munkánk során a békák zsákmányszerző viselkedését szabályozó szenzomotoros rendszer két elemének vizsgálatával foglalkoztunk, neuronális jelölési technikák alkalmazásával.

Feltérképeztük az egyes vestibularis receptorokból, valamint a végtagokban található proprioceptorokból származó primer afferensek kisagyi dye-coupled szemcsesejtjeit. A verticalis és horizontalis félkörös ívjáratok esetében tapasztalt különbségekkel alátámasztottuk, hogy a félkörös ívjáratok eltérő szerepet töltenek be a vestibuloocularis és vestibulospinalis reflexek során. Leírtuk, hogy a kettős funkcióval rendelkező lagena és sacculus kisagyi célterülete rostrocaudalis irányban minimális átfedést mutat a kizárólag vestibularis érzékszervként működő utriculus célterületével. Kimutattuk, hogy a cervicalis és lumbalis gerincvelői idegek kisagyi dye-coupled neuronjai szinte teljes rostrocaudalis irányú elkülönülést mutatnak. A leírt különbségek mellett a különböző receptorok kisagyi célterületének nagyfokú átfedését figyeltük meg, melyből a vestibularis és proprioceptív rostok által szállított bemenetek jelentős mértékű konvergenciájára következtethetünk.

Tanulmányoztuk a nyelv protractor és retraktor izmaival kapcsolatban álló utolsó rendű premotor interneuronok eloszlását és morfológiai tulajdonságait. Leírtuk, hogy az interneuronok a velük kapcsolatban álló motoneuronok szintjétől mind rostralisán, mind caudalisán megtalálhatók. A protractor nyelvizmokkal kapcsolatban állók főként az agytörzsben, a formatio reticularis területén jelentek meg, míg a retraktorokkal kapcsolatban állók az agytörzs caudalis és a gerincvelő cervicalis szegmentumában az intermediér szürkeállomány területére lokalizálódtak. Kimutattuk, hogy a premotor interneuronok eltérő morfológiai tulajdonságokkal rendelkeznek, ezáltal a központi idegrendszer különböző területeiről kaphatnak bemenetet. Megerősítettük azt a feltételezést, mely szerint a központi ritmus generátor által integrált impulzusok közvetetten, az utolsó rendű premotor interneuronokon keresztül érik el a motoros agyidegi magokat.

Eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy a tectum opticumból, a vestibularis rendszerből, a proprioceptorokból és a cerebellum területéről érkező szenzoros bemenetek konvergenciája kiemelkedő jelentőséggel bír a zsákmányszerző magatartás koordinálásában. Mivel vizsgálataink az alap kutatások körébe tartoznak, közvetlen gyakorlati hasznosításról nem beszélhetünk, viszont eredményeink hozzájárulhatnak a

különböző viselkedési mechanizmusok során lejátszódó szenzoros és motoros folyamatok megértéséhez.

Kulcsszavak: szenzorimotoros integráció, neuronális jelölés, agytörzs, vestibularis rendszer, kisagy, hypoglossus mag

Sensorimotor integration underlying prey-catching behavior of the frog

Éva Rácz, Dept. Anatomy, Histology and Embriology

University of Debrecen, Medical and Health Science Center, Hungary

Supervisor: Klára Matesz MD. Ph.D. DSc.

Klinikai orvostudományok: Fogorvostudományi program

Summary

Applying different neuronal labeling techniques we have studied the morphological background of the sensorimotor system underlying the control of prey-catching behaviour in the frog.

We have mapped the dye-coupled granule cells related to the nerves of individual labyrinthine organs and of dorsal root fibers of limb-innervating segments of spinal cord. The difference in the extension of territories of the vertical and horizontal canals may reflect their different involvement in the vestibuloocular and vestibulospinal reflexes. We could demonstrate only slight overlap between dye-coupled cells related to the lagena and saccule and the termination area of the utricular fibers in rostrocaudal direction. This separation is supportive of the dual function of the lagena and the saccule. We have described that the territories of granule cells related to the cervical and lumbar segments of the spinal cord were almost completely separated along the rostrocaudal axis of the cerebellum. In spite of the partial segregation we demonstrated a significant overlap in the related areas of termination that suggests a remarkable convergence of the afferent input of the vestibular and proprioceptive fibers on the cerebellar granule cells.

Applying BDA injection into the dorsomedial and ventrolateral subnucleus of the hypoglossal nerve we have examined the distribution and morphological features of the last-order premotor interneurons related to the protractor and retractor muscles of the tongue. We have described that the majority of them were distributed ipsilateral to the site of injection and extended in rostral and caudal directions. Labeled neurons related to the protractor muscles were found mainly in the rhombencephalic reticular formation, whereas labeled neurons related to the retractor muscles were located mainly in the intermediar gray matter of the caudal brainstem and cervical spinal cord. We could demonstrate

morphologically heterogeneous populations of the last-order premotor interneurons that suggest the different origin of their afferent inputs. These results strengthen the earlier studies that suggest indirect transmission between the tectum opticum and the hypoglossal motor neurons.

Our experiments revealed that the convergence of sensory modalities related to the tectum opticum, vestibular system, proprioceptors and cerebellum has a significant importance during the coordination of the prey-catching and feeding behaviour. These results can help to understand the underlying sensory and motor processes of different behavioural reactions.

Key words: sensorimotor integration, neuronal labeling, brainstem, vestibular system
cerebellum, hypoglossal nucleus

Köszönetnyilvánítás

A kísérleteket a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetében végeztem. Köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Matesz Klára egyetemi tanárnak, aki magas szintű tudásával és tanácsaival munkámat segítette. Köszönöm az Anatómia Intézet igazgatójának, Dr. Antal Miklós egyetemi tanárnak, hogy a kísérletek elvégzését lehetővé tette az intézetben. Köszönöm mindazoknak a munkáját, akik a kísérletek technikai kivitelezésében voltak segítségemre, elsősorban Szanitter Bélánénak és Mihály Erzsébetnek. Köszönöm szüleimnek, hogy támogatták tanulmányaimat, valamint férjemnek és családom többi tagjának a bizalmat és a türelmet.

Irodalomjegyzék

Altman JS, Dawes EA. 1983. A cobalt study of medullary sensory projections from lateral line nerves, associated cutaneous nerves, and the VIIIth nerve in adult *Xenopus*. *J Comp Neurol* 213:310-326.

Amat J, Matus-Amat P, Vanegas H. 1984. Visual (optokinetic), somesthetic and vestibular inputs to the frog cerebellum. *Neuroscience* 11:877-884.

Anderson FD, Meadows I, Chambers MM. 1964. The nucleus marginalis of the mammalian spinal cord: observations on the spinal cord of the cat and man. *J Comp Neurol* 123:97-109.

Anderson CW, Nishikawa KC. 1993. A prey-type dependent hypoglossal feedback system in the frog *Rana pipiens*. *Brain Behav Evol* 42:189-196.

Anderson CW, Nishikawa KC. 1996. The roles of visual and proprioceptive information during motor program choice in frogs. *J Comp Physiol [A]* 179:753-762.

Anderson CW, Nishikawa KC. 1997. The functional anatomy and evolution of hypoglossal afferents in the leopard frog, *Rana pipiens*. *Brain Res* 771:285-291.

Anderson CW. 2001. Anatomical evidence for brainstem circuits mediating feeding motor programs in the leopard frog, *Rana pipiens*. *Exp Brain Res* 140:12-19.

Ansorge K, Grüsser-Cornehls U. 1977. Visual and visual-vestibular responses of frog cerebellar neurons. *Exp Brain Res* 29:445-465.

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

Ashcroft DW, Hallpike CS. 1934. On the function of the saccule. *J Laryngol* 49:450-458.

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

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

Baird RA, Desmadryl G, Fernandez C, Goldberg JM. 1988. The vestibular nerve of the chinchilla. II. Relation between afferent response properties and peripheral innervation patterns in the semicircular canals. *J Neurophysiol* 60:182-203.

Baker J, Goldberg J, Hermann G, Peterson B. 1984. Optimal response planes and canal convergence in secondary neurons in vestibular nuclei of alert cats. *Brain Res* 294:133-137.

Barlow HB. 1953. Summation and inhibition in the frog's retina. *J Physiol* 119:69-88.

- Bass AH, Marchaterre MA, Baker R. 1994. Vocal-acoustic pathways in a teleost fish. *J Neurosci* 14:4025-4039.
- Birinyi A, Straka H, Matesz C, Dieringer N. 2001. Location of dye-coupled second order and of efferent vestibular neurons labeled from individual semicircular canal or otolith organs in the frog. *Brain Res* 921:44-59.
- Birinyi A, Szekely G, Csapo K, Matesz C. 2004. Quantitative morphological analysis of the motoneurons innervating muscles involved in tongue movements of the frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol* 470:409-421.
- Blanks RH, Curthoys IS, Markham CH. 1975a. Planar relationships of the semicircular canals in man. *Acta Otolaryngol* 80:185-196.
- Blanks RH, Estes MS, Markham CH. 1975b. Physiologic characteristics of vestibular first-order canal neurons in the cat. II. Response to constant angular acceleration. *J Neurophysiol* 38:1250-1268.
- Blanks RH, Precht W. 1976. Functional characterization of primary vestibular afferents in the frog. *Exp Brain Res* 25:369-390.
- Burian M, Gstoettner W, Mayr R. 1990. Brainstem projection of the vestibular nerve in the guinea pig: an HRP (horseradish peroxidase) and WGA-HRP (wheat germ agglutinin-HRP) study. *J Comp Neurol* 293:165-177.
- Burke RE. 1990. Spinal cord: ventral horn. In: Sephard GM. *The synaptic organization of the brain*. Oxford - New York Oxford Univ Press.
- Bush GA, Perachio AA, Angelaki DE. 1993. Encoding of head acceleration in vestibular neurons. I. Spatiotemporal response properties to linear acceleration. *J Neurophysiol* 69:2039-2055.
- Carleton SC, Carpenter MB. 1984. Distribution of primary vestibular fibers in the brainstem and cerebellum of the monkey. *Brain Res* 294:281-298.
- Caston J, Precht W, Blanks RHI. 1977. Response characteristics of frog's lagena afferents to natural stimulation. *J Comp Physiol* 118:273-289.
- Cochran SL, Hackett JT. 1977. The climbing fiber afferent system of the frog. *Brain Res* 121:362-367.
- Coleman AM, Sengelaub DR. 2002. Patterns of dye-coupling in lumbar motor nuclei of the rat. *J Comp Neurol* 454:34-41.
- Cortopassi KA, Lewis ER. 1996. High-frequency tuning properties of bullfrog lagenar vestibular afferent fibers. *J Vestib Res* 6:105-119.
- Cortopassi KA, Lewis ER. 1998. A comparison of the linear tuning properties of two classes of axons in the bullfrog lagena. *Brain Behav Evol* 51:331-348.
- Corvaja N, Grofová I. 1972. Vestibulospinal projection in the toad. *Prog Brain Res* 37:297-307.

- Corvaja N, Grofová I, Pompeiano O. 1973. The origin, course and termination of vestibulospinal fibers in the toad. An experimental-anatomical study, with comments on other descending supraspinal fiber systems to the spinal cord. *Brain Behav Evol* 7:401-423.
- Dickman JD, Fang Q. 1996. Differential central projections of vestibular afferents in pigeons. *J Comp Neurol* 367:110-131.
- Dieringer N. 1974. Responses of Purkinje-cells in the cerebellum of the grass frog (*Rana temporaria*) to somatic and visual stimuli. *J Comp Physiol* 90:409-436.
- Dieringer N. 1995. 'Vestibular compensation': neural plasticity and its relations to functional recovery after labyrinthine lesions in frogs and other vertebrates. *Prog Neurobiol* 46:97-129.
- Dolleman-Van der Weel MJ, Wouterlood FG, Witter MP. 1994. Multiple anterograde tracing, combining Phaseolus vulgaris leucoagglutinin with rhodamine- and biotin-conjugated dextran amine. *J Neurosci Methods* 51:9-21.
- Ebbesson SOE. 1969. Brainstem afferents from the spinal cord in a sample of reptilian and amphibian species. *Ann NY Acad Sci* 167:80-101.
- Ebbesson SOE. 1976. Morphology of the spinal cord. In: Llinás R, Precht W. *Frog Neurobiology*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag pp 679-706.
- El Manira A, Cattaert D, Wallen P, DiCaprio RA, Clarac F. 1993. Electrical coupling of mechanoreceptor afferents in the crayfish: a possible mechanism for enhancement of sensory signal transmission. *J Neurophysiol* 69:2248-2251.
- Ewert JP. 1984. Tectal mechanisms that underly prey-catching and avoidance behaviour in toads. In: Venegas H. *Comparative neurology of the tectum*. New York Plenum pp 247-416.
- Ewert JP. 1987. Neuroethology of releasing mechanisms: prey-catching in toads. *Behav Brain Sci* 10:337-405.
- Ewert JP, Framing EM, Schurg-Pfeiffer E, Weerasuriya A. 1990. Responses of medullary neurons to moving visual stimuli in the common toad. I. Characterization of medial reticular neurons by extracellular recording. *J Comp Physiol [A]* 167:495-508.
- Freeman JA, Nicholson C. 1975. Experimental optimization of current source-density technique for anuran cerebellum. *J Neurophysiol* 38:369-382.
- Fuller PM. 1974. Projections of the vestibular nuclear complex in the bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Brain Behav Evol* 10:157-169.
- Gaillard F. 1990. Visual units in the central nervous system of the frog. *Comp Biochem Physiol* 96A: 357-371.
- Geisler CD, Vanbergeijk WA, Frishkopf LS. 1964. The inner ear of the bullfrog. *J Morphol* 114:43-57.

- Goldberg GS, Moreno AP, Bechberger JF, Hearn SS, Shivers RR, MacPhee DJ, Zhang YC, Naus CC. 1996. Evidence that disruption of connexon particle arrangements in gap junction plaques is associated with inhibition of gap junctional communication by a glycyrrhetic acid derivative. *Exp Cell Res* 222:48-53.
- González A, ten Donkelaar HJ, de Boer-van HR. 1984. Cerebellar connections in *Xenopus laevis*. An HRP study. *Anat Embryol (Berl)* 169:167-176.
- Gregory KM. 1972. Central projections of the eighth nerve in frogs. *Brain Behav Evol* 5:70-88.
- Gregory KM. 1974. The stato-acoustic nuclear complex and the nucleus cerebelli of the frog. A golgi study. *Brain Behav Evol* 10:146-156.
- Grobstein P, Comer C, Kostyk SK. 1983. Frog prey-catching behaviour: between sensory maps and directed motor output. In: Ewert JP, Ingle D, Caprancia RR. *Advances in vertebrate neuroethology*. New York Plenum pp 331-347.
- Grofová I, Corvaja N. 1972. Commissural projection from the nuclei of termination of the 8th cranial nerve in the toad. *Brain Res* 42:189-195.
- Grover BG. 1983. Topographic organization of cerebellar efferents in the frog (*Rana esculenta*) as revealed by retrograde transport of wheat germ agglutinin-conjugated horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* 14:146.
- Grüsser OJ, Grüsser-Cornehls U. 1976. Neurophysiology of the anuran visual system. In: Llinás R, Precht W. *Frog Neurobiology*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag pp 297-385.
- Grüsser-Cornehls U. 1984. The neurophysiology of the amphibian optic system. In: Venegas H. *Comparative neurology of the optic tectum*. New York Plenum pp 211-245.
- Hayle TH. 1973. A comparative study of spinocerebellar systems in three classes of poikilothermic vertebrates. *J Comp Neurol* 149:477-496.
- Highstein SM, Goldberg JM, Moschovakis AK, Fernandez C. 1987. Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. II. Correlation with output pathways of secondary neurons. *J Neurophysiol* 58:719-738.
- Hillman DE. 1969a. Light and electron microscopical study of the relationships between the cerebellum and the vestibular organ of the frog. *Exp Brain Res* 9:1-15.
- Hillman DE. 1969b. Morphological organization of frog cerebellar cortex: a light and electron microscopic study. *J Neurophysiol* 32:818-846.
- Hillman DE. 1972. Vestibulocerebellar input in the frog: anatomy. *Prog Brain Res* 37:329-339.
- Hillman DE. 1976. Anatomy of the vestibular system. In: Llinás R, Precht W. *Frog Neurobiology*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag pp 452-480.

- Honrubia V, Sitko S, Lee R, Kuruvilla A, Schwartz IR. 1984. Anatomical characteristics of the anterior vestibular nerve of the bullfrog. *Laryngoscope* 94:464-474.
- Ingle D. 1976. Behavioural correlates of central visual function anurans. In: Llinás R, Precht W. *Frog Neurobiology*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag pp 435-451.
- Ingle D. 1983. Brain mechanisms of visual localization by frogs and toads. In: Ewert JP, Caprancia RR, Ingle D. *Advances in vertebrate neuroethology*. NATO ASI Series New York Plenum 56:177-226.
- Jansen AS, Loewy AD. 1997. Neurons lying in the white matter of the upper cervical spinal cord project to the intermediolateral cell column. *Neuroscience* 77:889-898.
- Joseph BS, Whitlock DG. 1968. Central projections of selected spinal dorsal roots in anuran amphibians. *Anat Rec* 160:279-288.
- Kaas JH. 1997. Topographic maps are fundamental to sensory processing. *Brain Res Bull* 44:107-112.
- Kasahara M, Uchino Y. 1974. Bilateral semicircular canal inputs to neurons in cat vestibular nuclei. *Exp Brain Res* 20:285-296.
- Keifer J, Vyas D, Houk JC. 1992. Sulforhodamine labeling of neural circuits engaged in motor pattern generation in the in vitro turtle brainstem-cerebellum. *J Neurosci* 12:3187-3199.
- Kemali M, Breitenberg V. 1969. *The atlas of frog's brain*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag.
- Kostyk SK, Grobstein P. 1982. Visual orienting deficits in frogs with various unilateral lesions. *Behav Brain Res* 6:379-388.
- Kostyk SK, Grobstein P. 1987a. Neuronal organization underlying visually elicited prey orienting in the frog--I. Effects of various unilateral lesions. *Neuroscience* 21:41-55.
- Kostyk SK, Grobstein P. 1987b. Neuronal organization underlying visually elicited prey orienting in the frog--II. Anatomical studies on the laterality of central projections. *Neuroscience* 21:57-82.
- Kostyk SK, Grobstein P. 1987c. Neuronal organization underlying visually elicited prey orienting in the frog--III. Evidence for the existence of an uncrossed descending tectofugal pathway. *Neuroscience* 21:83-96.
- Kuruvilla A, Sitko S, Schwartz IR, Honrubia V. 1985. Central projections of primary vestibular fibers in the bullfrog: I. The vestibular nuclei. *Laryngoscope* 95:692-707.
- Larsell O. 1967. *The comparative anatomy and histology of cerebellum from myxinooids through birds*. Minneapolis University of Minnesota Press.
- Lazar G. 1969. Efferent pathways of the optic tectum in the frog. *Acta Biol Acad Sci Hung* 20:171-183.

- Lettvin JY, Maturana HR, McCulloch WS, Pitts WH. 1959. What the frog's eye tells the frog's brain. *Proc Inst Radio Eng Ny* 47:1940-1951.
- Lettvin JY, Maturana HR, McCulloch WS, Pitts WH. 1961. Two remarks on the visual system of the frog. In: Rosenblith W. *Sensory communication*. Cambridge MIT Press pp 757-776.
- Lewis ER, Narins PM. 1999. The acoustic periphery of amphibians: anatomy and physiology. In: Fay RR, Popper AN. *Comparative hearing: fish and amphibians*. Springer handbook of auditory research. New York Springer pp 101-154.
- Li YQ, Takada M, Kaneko T, Mizuno N. 1997. Distribution of GABAergic and glycinergic premotor neurons projecting to the facial and hypoglossal nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 378:283-294.
- Lin JW, Faber DS. 1988. Synaptic transmission mediated by single club endings on the goldfish Mauthner cell. II. Plasticity of excitatory postsynaptic potentials. *J Neurosci* 8:1313-1325.
- Llinás R, Bloedel JR, Hillman DE. 1969. Functional characterization of neuronal circuitry of frog cerebellar cortex. *J Neurophysiol* 32:847-870.
- Llinás R, Precht W. 1969. The inhibitory vestibular efferent system and its relation to the cerebellum in the frog. *Exp Brain Res* 9:16-29.
- Llinás R, Precht W, Clarke M. 1971. Cerebellar Purkinje cell responses to physiological stimulation of the vestibular system in the frog. *Exp Brain Res* 13:408-431.
- Llinás R, Precht W. 1972. Vestibulocerebellar input: physiology. *Prog Brain Res* 37:341-359.
- Llinás R. 1976. Cerebellar physiology. In: Llinás R, Precht W. *Frog Neurobiology*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag pp 407-434, 892-923.
- Magherini PC, Precht W, Schwindt PC. 1974. Functional organization of the vestibular input to ocular motoneurons of the frog. *Pflugers Arch* 349:149-158.
- Masino T, Grobstein P. 1989a. The organization of descending tectofugal pathways underlying orienting in the frog, *Rana pipiens*. I. Lateralization, parcellation, and an intermediate spatial representation. *Exp Brain Res* 75:227-244.
- Masino T, Grobstein P. 1989b. The organization of descending tectofugal pathways underlying orienting in the frog, *Rana pipiens*. II. Evidence for the involvement of a tecto-tegmento-spinal pathway. *Exp Brain Res* 75:245-264.
- Matesz C, Szekely G. 1978. The motor column and sensory projections of the branchial cranial nerves in the frog. *J Comp Neurol* 178:157-176.
- Matesz C. 1979. Central projection of the VIIIth cranial nerve in the frog. *Neuroscience* 4:2061-2071.

- Matesz C. 1988. Fine structure of the primary afferent vestibulocochlear terminals in the frog. *Acta Biol Hung* 39:267-277.
- Matesz C, Birinyi A, Kothalawala DS, Szekely G. 1995. Investigation of the dendritic geometry of brain stem motoneurons with different functions using multivariant statistical techniques in the frog. *Neuroscience* 65:1129-1144.
- Matesz C, Schmidt I, Szabo L, Birinyi A, Szekely G. 1999. Organization of the motor centres for the innervation of different muscles of the tongue: a neuromorphological study in the frog. *Eur J Morphol* 37:190-194.
- Matesz C, Kulik A, Bacsikai T. 2002. Ascending and descending projections of the lateral vestibular nucleus in the frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol* 444:115-128.
- 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]* 166:7-22.
- Maturana HR, Lettvin JY, McCulloch WS, Pitts WH. 1960. Anatomy and physiology of vision in the frog (*Rana pipiens*). *J Gen Physiol* 43:129-175.
- Mehler WR. 1972. Comparative anatomy of the vestibular nuclear complex in submammalian vertebrates. *Prog Brain Res* 37:55-67.
- Montgomery NM. 1988. Projections of the vestibular and cerebellar nuclei in *Rana pipiens*. *Brain Behav Evol* 31:82-95.
- Muñoz M, González A, Muñoz A, Navarro B, Terres A. 1992. Efferent connections of the trigeminal sensory nuclear complex in the frog *Rana ridibunda*. *Euro J Neurosci* 5:272.
- Muñoz A, Muñoz M, González A, de Boer-van HR, ten Donkelaar HJ. 1994a. The dorsal column-medial lemniscal projection of anuran amphibians. *Eur J Morphol* 32:283-287.
- Muñoz A, Muñoz M, González A, ten Donkelaar HJ. 1994b. Spinothalamic projections in amphibians as revealed with anterograde tracing techniques. *Neurosci Lett* 171:81-84.
- Muñoz A, Muñoz M, González A, ten Donkelaar HJ. 1995. Anuran dorsal column nucleus: organization, immunohistochemical characterization, and fiber connections in *Rana perezi* and *Xenopus laevis*. *J Comp Neurol* 363:197-220.
- Muñoz A, Muñoz M, González A, ten Donkelaar HJ. 1997. Spinal ascending pathways in amphibians: cells of origin and main targets. *J Comp Neurol* 378:205-228.
- Nacimiento AC. 1969. Spontaneous and evoked discharges of cerebellar Purkinje-cells in the frog. In: Llinás R. *Neurobiology of cerebellar evolution and development*. Chicago Am Med Assoc pp 373-395.
- Nieuwenhuys R. 1967. Comparative anatomy of the cerebellum. *Prog Brain Res* 25:1-93.
- Nishikawa KC, Gans C. 1992. The role of hypoglossal sensory feedback during feeding in the marine toad, *Bufo marinus*. *J Exp Zool* 264:245-252.

- Opdam R, Kemali M, Nieuwenhuys R. 1976. Topological analysis of the brainstem of the frogs *Rana esculenta* and *Rana catesbeiana*. *J Comp Neurol* 165:307-332.
- O'Reilly SR, Nishikawa KC. 1995. Mechanism of tongue protraction during prey capture in the spadefoot toad *Spea multiplicata* (Anura: Pelobatidae). *J Exp Zool* 273:282-296.
- Pereda AE, Bell TD, Faber DS. 1995. Retrograde synaptic communication via gap junctions coupling auditory afferents to the Mauthner cell. *J Neurosci* 15:5943-5955.
- Precht W, Llinás R. 1969. Functional organization of the vestibular afferents to the cerebellar cortex of frog and cat. *Exp Brain Res* 9:30-52.
- 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* 19:377-393.
- Puskar Z, Antal M. 1997. Localization of last-order premotor interneurons in the lumbar spinal cord of rats. *J Comp Neurol* 389:377-389.
- Rajakumar N, Elisevich K, Flumerfelt BA. 1993. Biotinylated dextran: a versatile anterograde and retrograde neuronal tracer. *Brain Res* 607:47-53.
- Roberts A, Sillar KT. 1990. Characterization and Function of Spinal Excitatory Interneurons with Commissural Projections in *Xenopus laevis* embryos. *Eur J Neurosci* 2:1051-1062.
- Rohregger M, Dieringer N. 2002. Principles of linear and angular vestibuloocular reflex organization in the frog. *J Neurophysiol* 87:385-398.
- Rubinson K. 1968. Projections of the optic tectum of the frog. *Brain Behav Evol* 1:529-560.
- Rushmer DS. 1970. Electrophysiological evidence for primary somesthetic afferent connections in the frog cerebellum. *Brain Res* 18:560-564.
- Rushmer DS, Woodward DJ. 1971. Inhibition of Purkinje cells in the frog cerebellum. I. Evidence for a stellate cell inhibitory pathway. *Brain Res* 33:83-90.
- 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. *J Comp Physiol [A]* 167:509-520.
- Sidibé M, Smith Y. 1996. Differential synaptic innervation of striatofugal neurones projecting to the internal or external segments of the globus pallidus by thalamic afferents in the squirrel monkey. *J Comp Neurol* 365:445-465.
- Siegborn J, Yingcharoen K, Grant G. 1991. Brainstem projections of different branches of the vestibular nerve: an experimental study by transganglionic transport of horseradish peroxidase in the cat. II. The anterior and posterior ampullar nerves. *Anat Embryol (Berl)* 184:291-299.

- Sillar KT, Roberts A. 1992. The role of premotor interneurons in phase-dependent modulation of a cutaneous reflex during swimming in *Xenopus laevis* embryos. *J Neurosci* 12:1647-1657.
- Sokoloff AJ. 1991. Musculotopic organization of the hypoglossal nucleus in the grass frog, *Rana pipiens*. *J Comp Neurol* 308:505-512.
- Sotelo C. 1976. Morphology of the cerebellar cortex. In: Llinás R, Precht W. *Frog Neurobiology*. Berlin-Heidelberg-New York Springer-Verlag pp 864-891.
- Stern TA, Rubinson K. 1971. Efferent projections of cerebellar cortex of *Rana pipiens*. *Anat Rec* 169: 438.
- Straka H, Dieringer N. 1992. Chemical identification and morphological characterization of the inferior olive in the frog. *Neurosci Lett* 140:67-70.
- Straka H, Dieringer N. 1996. Uncrossed disynaptic inhibition of second-order vestibular neurons and its interaction with monosynaptic excitation from vestibular nerve afferent fibers in the frog. *J Neurophysiol* 76:3087-3101.
- Straka H, Biesdorf S, Dieringer N. 1997. Canal-specific excitation and inhibition of frog second-order vestibular neurons. *J Neurophysiol* 78:1363-1372.
- Straka H, Biesdorf S, Dieringer N. 2000. Spatial distribution of semicircular canal nerve evoked monosynaptic response components in frog vestibular nuclei. *Brain Res* 880:70-83.
- Straka H, Holler S, Goto F. 2002. Patterns of canal and otolith afferent input convergence in frog second-order vestibular neurons. *J Neurophysiol* 88:2287-2301.
- Straka H, Dieringer N. 2004. Basic organization principles of the VOR: lessons from frogs. *Prog Neurobiol* 73:259-309.
- Stuesse SL, Cruce WL, Powell KS. 1983. Afferent and efferent components of the hypoglossal nerve in the grass frog, *Rana pipiens*. *J Comp Neurol* 217:432-439.
- Suarez C, Kuruvilla A, Sitko S, Schwartz IR, Honrubia V. 1985. Central projections of primary vestibular fibers in the bullfrog. II. Nerve branches from individual receptors. *Laryngoscope* 95:1238-1250.
- Szekely G. 1976. The morphology of motoneurons and dorsal root fibers in the frog's spinal cord. *Brain Res* 103:275-290.
- Szekely G, Antal N, Gorcs T. 1980. Direct dorsal root projection onto the cerebellum in the frog. *Neurosci Lett* 19:161-165.
- Takei K, Oka Y, Satou M, Ueda K. 1987. Distribution of motoneurons involved in the prey-catching behaviour in the Japanese toad, *Bufo japonicus*. *Brain Res* 410:395-400.
- Travers JB, Yoo JE, Chandran R, Herman K, Travers SP. 2005. Neurotransmitter phenotypes of intermediate zone reticular formation projections to the motor trigeminal and hypoglossal nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 488:28-47.

Veenman CL, Reiner A, Honig MG. 1992. Biotinylated dextran amine as an anterograde tracer for single- and double-labeling studies. *J Neurosci Methods* 41:239-254.

Velázquez JLP, Carlen PL. 2000. Gap junctions, synchrony and seizures. *Trends Neurosci* 23: 68-74.

Weinberg RJ. 1997. Are topographic maps fundamental to sensory processing? *Brain Res Bull* 44:113-116.

Wilson VJ, Felpel LP. 1972. Specificity of semicircular canal input to neurons in the pigeon vestibular nuclei. *J Neurophysiol* 35:253-264.

Saját közlemények jegyzéke

Az értekezést megalapozó in extenso közlemények:

Éva Rácz, Tímea Bácskai, Gábor Halasi, Endre Kovács, Clara Matesz. 2006. Organization of dye-coupled cerebellar granule cells labeled from afferent vestibular and dorsal root fibers in the frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol* 496:382-94. **IF: 3,855.**

Éva Rácz, Tímea Bácskai, Gábor Szabó, György Szekely, Clara Matesz. 2008. Organization of last order premotor interneurons related to the protraction of tongue in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res* 1187:111-115. **IF: 2.341.**

Az értekezéshez szorosan nem kapcsolódó egyéb in extenso közlemények:

Tímea Bácskai, Gábor Veress, Gábor Halasi, Ádám Deák, **Éva Rácz**, György Szekely, Clara Matesz. 2008. Dendrodendritic and dendrosomatic contacts between the oculomotor and trochlear motoneurons of the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res Bull* 75:419-423. **IF: 1.684.**

Clara Matesz, Gabriella Kovalecz, Gábor Veress, Ádám Deák, **Éva Rácz**, Tímea Bácskai. 2008. Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res Bull* 75:371-374. **IF: 1.684.**

A megjelent közlemények összesített impakt faktora: 9,564.

Idézhető kongresszusi absztrakt:

Éva Rácz, Tímea Bácskai, Gábor Halasi, Clara Matesz. 2004. Dye-coupled connections of the primary afferent vestibular fibers in the cerebellum of the frog. 1st International Conference on Basic and Clinical Immunogenomics, Budapest. *Tissue Antigens* 64:436. **IF: 1,737.**

Egyéb kongresszusi absztraktok:

Rácz Éva, Kovács Endre, Bácskai Tímea, Halasi Gábor, Matesz Klára. 2005. Primer afferens rostok dye-coupled kapcsolatai béka kisagyban. Magyar Anatómus Társaság Kongresszusa, Pécs.

Éva Rácz, Endre Kovács, Tímea Bácskai, Gábor Halasi, Clara Matesz. 2005. Dye-coupled connections of the primary afferent fibers in the cerebellum of the frog. Magyar Idegtudományi Társaság Kongresszusa, Pécs. *Clinical Neuroscience* 58(1):78.

Éva Rácz, Gábor Halasi, Tímea Bácskai, György Szekely, Clara Matesz. 2006. Vestibular-lesion induced changes in the expression of tenascin, fibronectin and phosphacan in the frog. IBRO International Workshop, Budapest. *Clinical Neuroscience* 59(1):55.

Ádám Deák, Tímea Bácskai, Gábor Veress, **Éva Rácz**, Klára Matesz. 2006. Vestibular afferents to the brainstem: morphological substrate for vestibulo-autonomic interaction. IBRO International Workshop, Budapest. Clinical Neuroscience 59(1):19.

Éva Rácz, Zoltán Mészár, Gábor Veress, László Módis, György Szekely, Klára Matesz. 2007. Composition of the perineuronal net of the motoneurons in the brainstem. Magyar Idegtudományi Társaság Kongresszusa, Szeged. Clinical Neuroscience 60(1):54.

Ádám Deák, Tímea Bácskai, **Éva Rácz**, Klára Matesz. 2007. Vestibular lesion-induced changes in the expression of hyaluronan in the rat brainstem. Magyar Idegtudományi Társaság Kongresszusa, Szeged. Clinical Neuroscience 60(1):16.

Éva Rácz, Tímea Bácskai, Gábor Szabó, György Szekely, Clara Matesz. 2007. Organization of last order premotor interneurons related to the protraction of tongue in the frog, *Rana esculenta*. 5th ECCN, Párizs.

Klára Matesz, Gabriella Kovalecz, Gábor Veress, Ádám Deák, **Éva Rácz**, György Szekely, Tímea Bácskai. 2007. Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*. 5th ECCN, Párizs.

Tímea Bácskai, Gábor Veress, Gábor Halasi, Ádám Deák, **Éva Rácz**, Klára Matesz. 2007. Dendrodendritic and dendrosomatic contacts between the oculomotor and trochlear motoneurons of the frog, *Rana esculenta*. 5th ECCN, Párizs.

Éva Rácz, Botond Gaál, Andrea Hunyadi, György Szekely, Klára Matesz. 2008. Distribution of extracellular matrix in the vestibular nuclear complex of the frog. IBRO International Workshop, Debrecen. Clinical Neuroscience 61(1):53.

Botond Gaál, **Éva Rácz**, Zoltán Mészár, László Módis, Klára Matesz. 2008. Composition of the perineuronal net of the motoneurons in the frog. IBRO International Workshop, Debrecen. Clinical Neuroscience 61(1):28.

Andrea Hunyadi, **Éva Rácz**, Gábor Veress, György Szekely, Klára Matesz. 2008. Direct connection between the vestibular afferents and abducens motoneurons in the frog. IBRO International Workshop, Debrecen. Clinical Neuroscience 61(1):35.

Éva Rácz, Botond Gaál, Gábor Veress, Andrea Hunyadi, György Szekely, Klára Matesz. 2008. Organization of extracellular matrix in the vestibular nuclear complex and cerebellum of the frog, *Rana esculenta*. 6th FENS, Genf.

Klára Matesz, Andrea Hunyadi, **Éva Rácz**, Gábor Veress, György Szekely. 2008. Vestibular afferent fibers establish direct connection with the abducens motoneurons of the frog, *Rana esculenta*. 6th FENS, Genf.