

EGYETEMI DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

A zsákmányszerző magatartás neuronális háttere békában: szenzori-motoros integráció az agytörzsben

Kecskés Szilvia

Témavezető: Dr. Birinyi András



**DEBRECENI EGYETEM
IDEGTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA**

Debrecen, 2015

TARTALOMJEGYZÉK

Az értekezésben előforduló rövidítések jegyzéke.....	5
1. Bevezetés.....	7
2. Irodalmi áttekintés.....	9
2.1. A béka zsákmányszerző viselkedése.....	9
2.1.1. A békák táplálkozása.....	9
2.1.2. A zsákmányszerzés folyamata.....	11
2.2. A zsákmányszerzés efferens komponensei.....	13
2.2.1. A nyelvizmok funkcionális csoportjai békában.....	14
2.2.2. A hypoglossus mag morfológiája békában.....	15
2.2.3. A nucleus ambiguus morfológiája békában.....	17
2.3. A zsákmányszerzés afferens komponensei.....	19
2.3.1. A trigeminalis afferensek szerepe.....	20
2.3.2. A facialis afferensek szerepe.....	21
2.3.3. A vestibularis afferensek szerepe.....	22
2.3.4. A glossopharyngeus-vagus afferensek szerepe.....	23
2.3.5. A hypoglossus afferensek szerepe.....	23
2.3.6. A spinalis afferensek szerepe.....	25
2.4. Célkitűzések.....	26
3. Anyagok és módszerek.....	27
3.1. Kísérleti állatok.....	27
3.2. Az agyidegek jelölése.....	27
3.3. A második cervicalis gerincvelői ideg jelölése.....	30
3.4. Az agytörzs szövettani feldolgozása.....	31
3.5. A jelölt axonok és motoneuronok mikroszkópos vizsgálata.....	31
3.6. Az ambiguus és hypoglossus magok Neurolucida rekonstrukciója.....	32
3.7. Az adatok statisztikai elemzése.....	32
4. Eredmények.....	34
4.1. A nervus glossopharyngeus-vagus motoneuronjain végződő trigeminalis terminálisok vizsgálata.....	34
4.1.1. A nucleus ambiguus motoneuronok és a nervus trigeminus afferensek fluorescens jelölőanyaggal történő töltése.....	34

4.1.2. A nucleus ambiguus funkcionálisan különböző motoneuronjainak vizsgálata..	35
4.1.3. Szenzori-motoros kapcsolatok vizsgálata konfokális sorozatfelvételeken.....	37
4.1.3.1. Trigeminus terminálisok kapcsolatai a nucleus ambiguus motoneuronaival.....	37
4.1.3.2. A terminálisok eloszlása a funkcionálisan különböző motoneuronokon....	39
4.2. A nyelvizmok motoneuronjain végződő primer afferens terminálisok vizsgálata....	40
4.2.1. A hypoglossus mag funkcionálisan különböző motoneuronjainak vizsgálata.....	40
4.2.2. A hypoglossus motoneuronokon végződő primer afferens terminálisok vizsgálata.....	44
4.2.2.1. Trigeminus afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai.....	44
4.2.2.2. Facialis afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai.....	45
4.2.2.3. Vestibularis afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai.....	45
4.2.2.4. Glossopharyngeus-vagus afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai.....	47
4.2.2.5. Hypoglossus afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai.....	48
4.2.2.6. Második cervicalis gerincvelői afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai.....	50
4.2.2.7. A hypoglossus motoneuronokon végződő primer afferens terminálisok kvantitatív elemzése.....	51
4.2.3. A kontaktusok eloszlása a hypoglossus mag almagjaiban.....	53
4.2.3.1. A DM almag kapcsolatainak eloszlása.....	53
4.2.3.2. A VL almag kapcsolatainak eloszlása.....	57
5. Megbeszélés.....	58
5.1. Az ambiguus mag motoneuronjainak kapcsolatai.....	58
5.2. A hypoglossus mag motoneuronjainak kapcsolatai.....	60
5.2.1. Afferens terminálisok kapcsolatainak eloszlása a hypoglossus mag almagjaiban.....	60
5.2.2. A hypoglossus motoneuronokon végződő afferens terminálisok szerepe a béka zsákmányszerző viselkedésében.....	61
5.2.3. Az afferens terminálisok és a hypoglossus motoneuronok kapcsolatainak funkcionális értékelése.....	64

5.3. A béka közvetlen szenzori-motoros kapcsolatainak szerepe a zsákmányszerző magatartásban.....	65
6. Összefoglalás.....	68
Summary.....	69
7. Irodalomjegyzék.....	70
Saját közlemények jegyzéke.....	77
8. Tárgyszavak.....	79
9. Köszönetnyilvánítás.....	80
10. Függelék.....	81

AZ ÉRTEKEZÉSBEN ELŐFORDULÓ RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

C2	második cervicalis gerincvelői ideg
dlat	dorsolateralis dendrit kvadráns
D	dorsalis
DAB	diaminobenzidin
DM	nucleus motorius nervi hypoglossi, dorsomedialis almag
dmed	dorsomedialis dendrit kvadráns
FDA	fluorescein dextran amine
GEN	musculus geniohyoideus
GGL	musculus genioglossus
HYO	musculus hyoglossus
IM	nucleus motorius nervi hypoglossi, intermediar almag
INT	belső nyelvizmok
L	lateralis
LOPI	utolsó rendű premotor interneuronok (last order premotor interneuron)
M	medialis
mesV	tractus mesencephalicus nervi trigemini
MPG	központi motoros ritmus generátor (motor pattern generator)
nmesV	nucleus tractus mesencephalicus nervi trigemini
npV	nucleus sensorius principalis nervi trigemini
ntspV	nucleus tractus spinalis nervi trigemini
OMO	musculus omohyoideus
PFA	paraformaldehid
R	rostralis
RDA	tetramethyl-rhodamine dextran amine
TS	tractus solitarius
STE	musculus sternohyoideus
tspV	tractus spinalis nervi trigemini
V	nervus trigeminus
VII	nervus facialis
VIII	nervus vestibularis
VL	nucleus motorius nervi hypoglossi, ventrolateralis almag

vlat	ventrolateralis dendrit kvadráns
vmed	ventromedialis dendrit kvadráns
XII	nervus hypoglossus
IX-X	nervus glossopharyngeus-vagus

Az itt nem szereplő rövidítéseket a megfelelő ábrák alatt értelmezzük.

1. BEVEZETÉS

A kételtűek, azon belül is a békák központi idegrendszerének tanulmányozása az utóbbi időben egyre inkább előtérbe került. Változatos életformájukhoz alkalmazkodva központi idegrendszerük szenzori-motoros integrációja magas fejlettségi szintet ért el, ugyanakkor alacsonyabb rendű állat lévén idegrendszerük felépítése viszonylag egyszerű, így annak tanulmányozása morfológiai eszközökkel megvalósítható céllá vált.

A táplálék elejtésének első lépéseként a mozgó zsákmány látványára kiváltott vizuális inger a retinán és a látóidegen keresztül a béka látóközpontjába továbbítódik, ezután az agytörzsbe érve aktiválja a sztereotip mozgásmintázat végrehajtásáért felelős központi motoros neuronhálózatokat (Motor Pattern Generator, MPG) (Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005; Ewert 1984; Liaw J-S 1994; Ewert és mtsai. 1999; Dicke és mtsai. 1998; Matsushima és mtsai. 1989; Grobstein 1983). A következő lépésben az MPG neuronjainak mintázata az utolsó rendű premotor interneuronokon (last order premotor interneuron, LOPI) keresztül éri el az agytörzs motoros agyidegi magvait, amelyek közvetlenül felelősek az adott mozgás végrehajtásában résztvevő izmok összehúzóódásáért (Matsushima és mtsai. 1989; Ewert és mtsai. 1990; Schwippert és mtsai. 1990). A fentiekben vázolt folyamat több agyi területen és közbeiktatott interneuronokon át poliszinaptikus útvonalakon keresztül érvényesül, ami fontos szempont lehet a különböző idegi szabályozások összehangolásánál, de a táplálék elejtése során ez a több lépcsős reakcióút sok esetben nem elég gyors. Ezért feltételezik, hogy ebben a neuronális hálózatban léteznek olyan útvonalak, amelyek szenzori-motoros monoszinaptikus kapcsolatok révén lerövidíthetik ezt a reakció utat, és így a szenzoros információk közvetlenül is befolyásolhatják a motoneuronok működését (Anderson 2001; Anderson és Nishikawa 1993; Harwood és Anderson 2000; Nishikawa és Gans 1992; Weerasuriya 1989). Az integrált szenzori-motoros rendszer jelenléte a békák túlélése szempontjából óriási jelentőséggel bír a zsákmányszerző és táplálkozási magatartás során a rendkívül gyors, célirányos mozgások megfelelő koordinálása révén. Ezen bonyolult folyamatok megértéséhez alapvetően szükséges a kapcsolatok morfológiai hátterének felderítése.

A zsákmányszerző magatartás hátterében álló neuronhálózat motoros elemei közül kiemeltük a garat és a gége izmok szabályozásában, így a nyelésben szerepet játszó nucleus ambiguus motoneuronjait. Mivel a zsákmányállat a szájüregbe érve rágás nélkül reflexszerű

nyelést indukál, feltételeztük, hogy a szájüregben lévő zsákmány a nervus trigeminus receptorainak ingerlésével közvetlenül is befolyásolhatja a motoneuronokat.

A nyelv protrakciójában és retrakciójában szerepet játszó izmok aktiválásáért felelős nucleus nervi hypoglossi a zsákmányszerzés során elengedhetetlen motoros funkciót végez (Matesz és mtsai. 1999). Mivel a nyelv precízen kontrollált gyors mozgása, amelyet különböző agyidegek által szállított szenzoros afferensek szabályozhatnak szükséges az eredményes zsákmányszerzéshez, ezért a mag teljes szenzori-motoros kapcsolatrendszerének feltérképezését tűztük ki célul. A mozgások befolyásolásában résztvevő afferensek származhatnak a nyelvet, szájüreget, garatot, géget és a mellső végtagot beidegző idegek és a vestibularis rendszer receptoraiból. Korábbi vizsgálataink kimutatták, hogy az agytörzsi motoneuronok dendritelágazódási mintázata jelentős különbségeket mutat a neuronok által ellátott izmok működésének függvényében (Birinyi és mtsai. 2004). Ezek az adatok arra utalnak, hogy a motoneuronok aktiválásához szükséges bemeneteket szállító primer afferensek rostjai különböző kombinációban végződhetnek a motoneuronokon.

Jóllehet a zsákmányszerző magatartás hátterét biztosító neuronhálózat alapvető építőelemei ismertek, szerveződése és működési mechanizmusa még ma sem tisztázott, számos kérdés vár még megválaszolásra annak érdekében, hogy ezeket a komplex rendszereket teljes egészében átláthassuk és megérthessük.

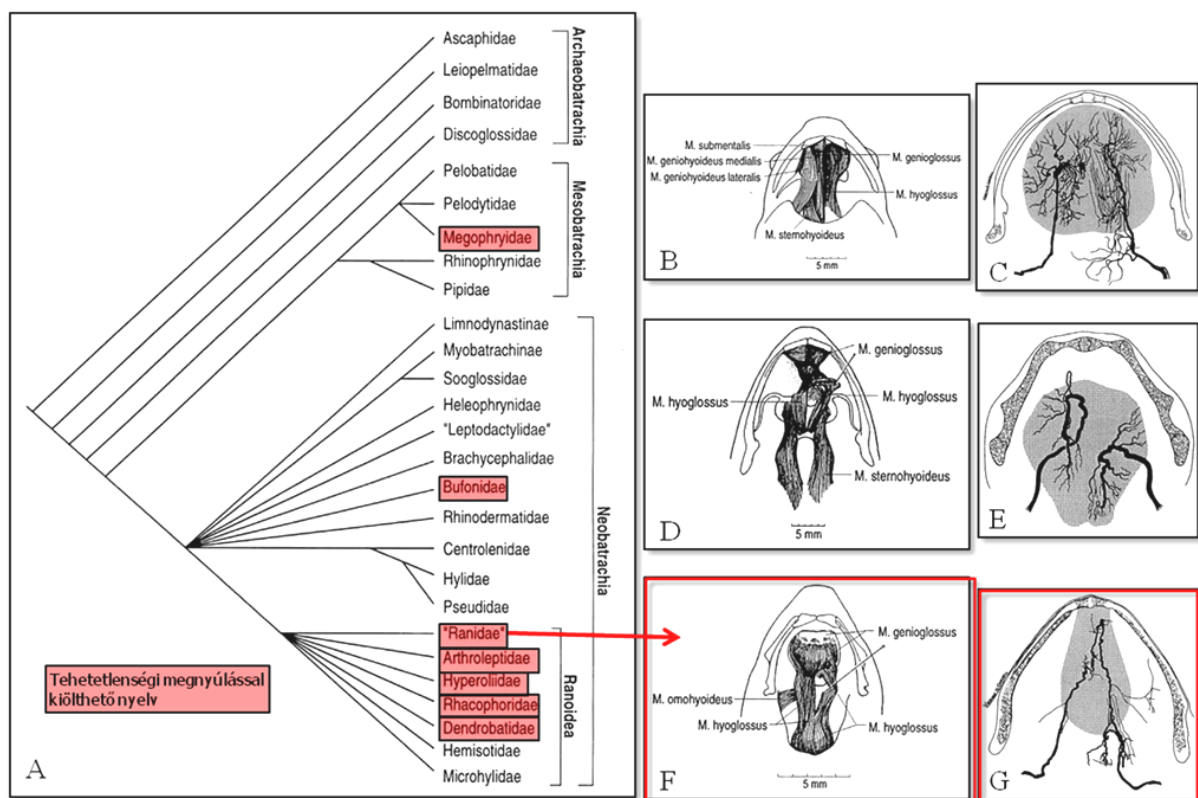
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A béka zsákmányszerző viselkedése

A neurobiológiai vizsgálatokban jelentős szerepet töltenek be a különböző állatfajokon (pl. békákon, egereken és patkányokon) végzett kísérletek. Mivel az agytörzs filogenetikailag konzervatív felépítést mutat, a békák viszonylag egyszerű idegrendszere jó kiindulópontot jelenthet az emlősökön vagy akár az emberen végzett vizsgálatokhoz is (Opdam és mtsai. 1976; ten Donkelaar 1997). A béka figyelemreméltó példája a táplálkozási folyamatok sokszínűségének, ami lehetőséget biztosít a szenzori-motoros kapcsolatok tanulmányozására. A zsákmányszerző viselkedés összetett és időben összerendezett mozgássorozat, amely a zsákmány látványának hatására láncreakciószerűen játszódik le az állatokban (Nishikawa 2000; Nishikawa és mtsai. 1992). A folyamat a zsákmány megfigyelésével kezdődik, amit gyors motoros válasz követ, amelynek során a zsákmány megragadása és lenyelése történik. Ez az összetett mozgássorozat az állat idegrendszerébe programozott reflexszerű idegi kapcsolatok eredménye, amelynek végrehajtásáért egy bonyolult neuronhálózat felelős (Anderson 2001; Matesz és Székely 1978; Matesz és mtsai. 2008; Székely és Matesz 1993; Nishikawa és mtsai. 1992; Matesz és Székely 1977; Matesz és mtsai. 1999; Matesz és mtsai. 2002; Székely és mtsai. 1983). Ennek a folyamatnak a neuroanatómiai hátterét tanulmányoztuk a béka szenzori-motoros kapcsolatainak vizsgálatával.

2.1.1. A békák táplálkozása

Viselkedési reakciók tekintetében a békák nagymértékben alkalmazkodtak életformájukhoz, a törzsfejlődésben elfoglalt helyük és fejlettségi szintjük alapján *Archeobatrachia*, *Mesobatrachia* és *Neobatrachia* családokra oszthatóak (**1.A ábra**). A különböző családokba tartozó egyedek táplálkozásukban nagy variációkat mutatnak, vannak olyan fajok, amelyek gyümölcsöket, leveleket fogyasztanak, más fajok bármilyen táplálékot megesznek, ami befér a szájüregükbe. Egyes *Bufo* fajok a pici zsákmányra specializálódtak, mint például a hangya, természet, más fajok egészen nagyobb állatokat fogyasztanak, mint a csiga, a rák, a hal, vagy akár más békákat is.



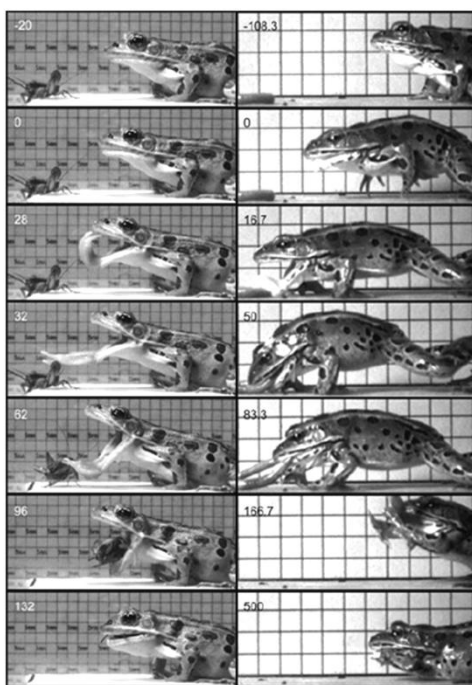
1. ábra: A békák törzsfája (A), a nyelvizmok (B, D, F) és az őket ellátó idegek (C, E, G) morfológiájának változása. A B és C képek az *Archeobatrachia* és *Mesobatrachia* fajok nyelvizmait és ellátó idegeinek anatómiáját mutatják be, a D és E ábrák az evolúciósan fejlettebb *Neobatrachia* fajokat, míg a F és G ábrák az általunk vizsgált *Ranoidea* fajok (pirossal kiemelt) nyelvének felépítését szemléltetik (Nishikawa után módosítva, 2000).

Az elejthető állat méretét a koponya illetve a rágóizmok morfológiája szabja meg, de az egyik legfontosabb tényező a nyelv anatómiája. Az *Archeobatrachia* fajoknál a nyelv kerek és rövid, teljesen a szájhoz tapad, ezért nem történik meg a nyelv kiöltése (**1.B,C ábra**). A következő típus a másodlagosan nyelv nélküli békák, ők begyömöszölik, vagy beszippantják az áldozatot. A harmadik típusú nyelv a szájüreg elülső felén tapad, és a nyelv kiöltésénél a szájból előre felé csap ki (**1.D,E ábra**). A valódi békáknál (*Ranidae*) látjuk a nyelv kiöltéséhez szükséges anatómiai felépítést, ahol a nyelv hossza és erő kifejtése már megfelel a nyelvvel való zsákmányszerzés kritériumainak (**1.F,G ábra**) (Nishikawa 2000). Három különböző mechanizmus létezik a békák között a nyelv kiöltésére. A mechanikailag visszahúzzható nyelvénél az izmok kontrakciója okozza a nyelv pozíciójának változását. A hidrosztatikusan nyújtható nyelvénél megjelennek a vertikális izomrostok is, ezek kontrakciója plusz megnyúlást biztosít. A tehetetlenségi megnyúlást használó békáknál (ilyen a legtöbb *Rana* faj, **1. ábrán** pirossal kiemelt fajok) a nyelv izomrostjai hosszabbak ezért képesek nyelvüket előre

csapni, ami jelentősen növeli a nyelv kiölthetőségét. Ez a folyamat nem állítható meg, ha a béka kiöltötte a nyelvét és elejtett egy zsákmányt, akkor a nyelvét minden esetben vissza is húzza. Evolúciósan ez a típus számít újabb mechanizmusnak (Nishikawa 2000).

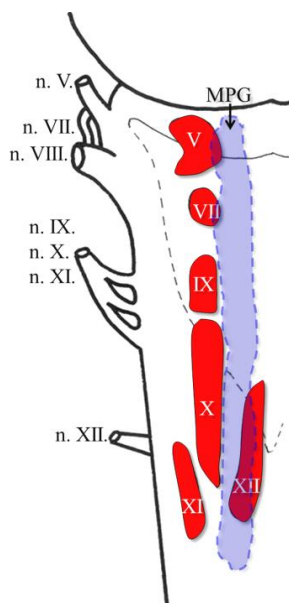
2.1.2. A zsákmányszerzés folyamata

A zsákmány elejtésére több mechanizmus is kialakult a békák evolúciója során. A nyelv nélküli vagy rövid nyelvű állatoknál csak a zsákmány állkapoccsal való megragadása lehetséges. A valódi békák (*Ranidae*) táplálkozására két lehetőség van (**2. ábra**). Ha a zsákmányállat viszonylag kicsi, akkor a béka a nyelv kiöltésével megragadja a táplálékát, ami rögtön a szájüregbe kerül (tongue prehension). A nagyobb méretű elejtendő állat az állkapocs záródásával kerül be a szájüregbe, ilyenkor a mellső lábak is segítik a zsákmány elejtését (jaw prehension). Körülbelül 1,5 cm-es zsákmány jelenti a mérethatárt a két különböző típusú mechanizmus között, ugyanis a nyelvvel való elejtés során ezeknek az állatoknak a súlya még elég kicsi ahhoz, hogy a nyelvhez tapadva a béka a szájába tudja húzni azt (Anderson és Nishikawa 1993, 1996; Valdez és Nishikawa 1997; Gray és mtsai. 1997).



2. ábra: A békák zsákmányszerzésének lehetséges mechanizmusai. Bal oldalon a nyelvvel, jobb oldalon az állkapoccsal történő zsákmányszerzés lépései láthatóak (Monroy és Nishikawa után módosítva, 2011).

A zsákmány elejtésének két módszere közötti választás milliszekundumok alatt végbemegy az állat agyában, majd ezután történik meg a reflexszerű mozgássorozat. Első lépésként a zsákmány látványa által keltett inger a retinán és a látóidegen keresztül a béka látóközpontjába, a tectum opticumba továbbítódik, ezután aktiválja az ismétlődő mozgásmintázat végrehajtásáért felelős agytörzsi neuronhálózatokat (Motor Pattern Generator, MPG). Korábbi főleg fiziológiai vizsgálatok alapján azt feltételezik, hogy az ismétlődő mozgásmintázat végrehajtásáért ez a központi motoros ritmus generátornak nevezett neuronhálózat felelős. Olyan neuronális hálózatokat tartalmaz, melyek a magasabb motoros központoktól és a perifériáról érkező információk hiányában is képesek a ritmikus mozgások létrehozására és koordinálására. Direkt vagy indirekt módon viszont érkehetnek szenzoros, illetve motoros impulzusok az MPG-be mind a központi, mind a perifériás idegrendszer különböző területeiről (**3. ábra**) (Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005; Ewert 1984; Liaw J-S 1994; Ewert és mtsai. 1999; Dicke és mtsai. 1998; Matsushima és mtsai. 1989; Grobstein 1983).



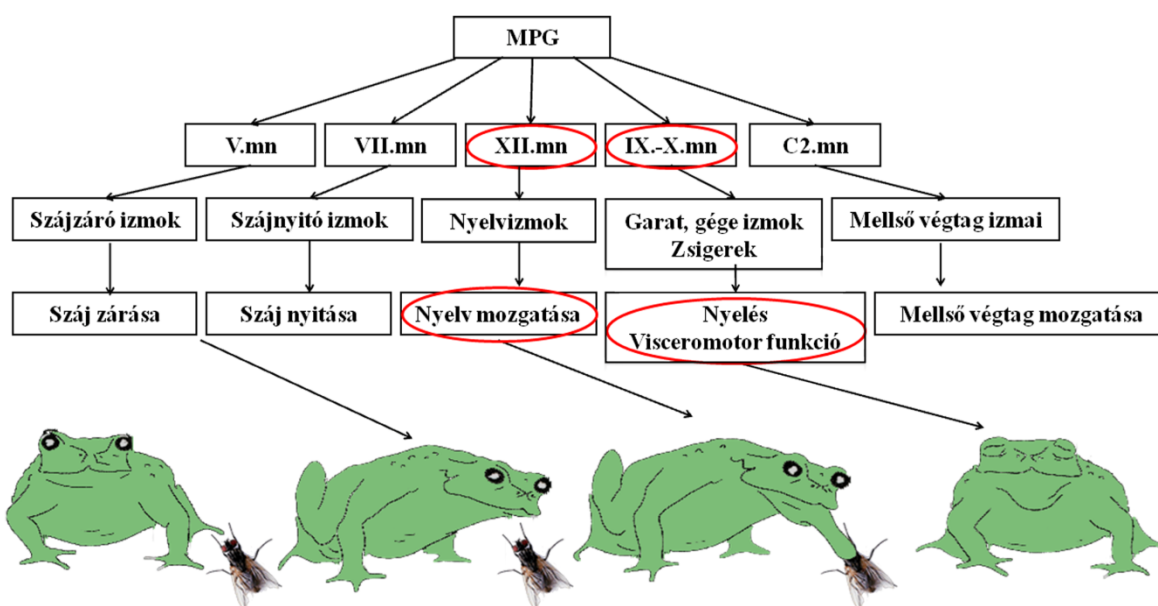
3. ábra: A központi motoros ritmus generátor (MPG) elhelyezkedése a béka agytörzsében. A piros területek a római számoknak megfelelően szemléltetik az agyidegek motoros magjait, míg a szaggatott vonallal körülvett lila terület az agytörzsi formatio reticularisában elhelyezkedő Motor Pattern Generátort jelöli (MPG) (Matesz és Székely, 1978 és Corbacho, 2005 után módosítva).

A következő lépésben az MPG neuronjainak mintázata az utolsó rendű premotor interneuronokon (LOPI) keresztül éri el az agytörzs motoros agyidegi magvakat, amelyek közvetlenül felelősek az adott mozgás végrehajtásában résztvevő izmok összehúzóódásáért

(Matsushima és mtsai. 1989; Ewert és mtsai. 1990; Schwippert és mtsai. 1990). Ez egy relatíve hosszú, sok lépcsős folyamat, amely túl sok időt vesz igénybe, így a zsákmányszerzés során sok esetben nem lenne célravezető, ezért azt feltételezik, hogy ebben a neuronális hálózatban léteznek olyan elemek, amelyek lerövidítik ezt a reakció utat. Így például a különböző szenzoros információk monoszynaptikus kapcsolatok révén közvetlenül is befolyásolhatják a motoneuronok működését (Anderson 2001; Anderson és Nishikawa 1993; Harwood és Anderson 2000; Nishikawa és Gans 1992; Weerasuriya 1989).

2.2. A zsákmányszerzés efferens komponensei

A zsákmányszerzés kapcsán létrejövő mozgássorozatban résztvevő izmok aktiválását több agytörzsi motoros mag végzi (4. ábra).



4. ábra: A zsákmányszerzésben fontos mozgások neuronális szabályozása. A piros körök szemléltetik az általunk vizsgált idegeket és funkcióikat. MPG: központi motoros ritmus generátor; V.mn: nervus trigeminus motoneuronjai; VII.mn: nervus facialis motoneuronjai; XII.mn: nervus hypoglossus motoneuronjai; IX.-X.mn: nervus glossopharyngeus-vagus motoneuronjai; C2.mn: második cervicalis gerincvelői ideg motoneuronjai.

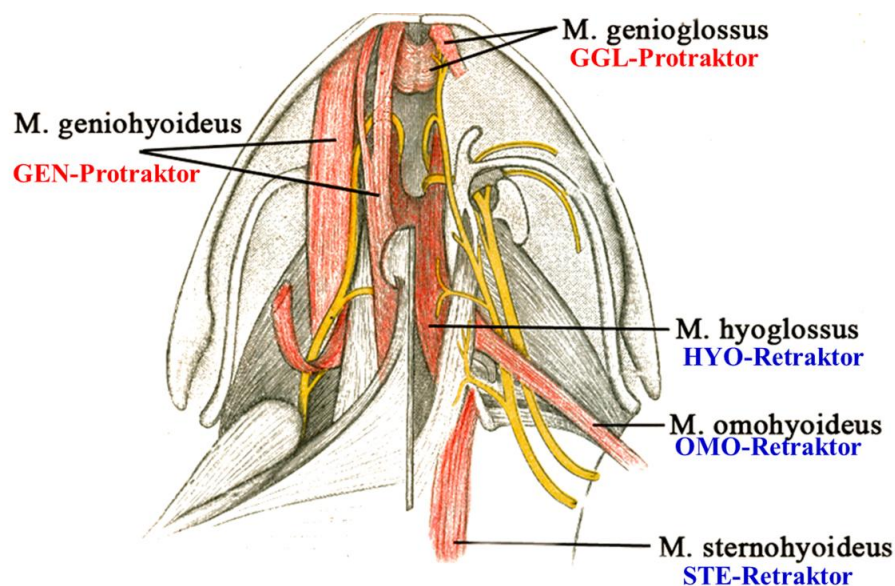
A nucleus motorius nervi trigemini az állkapocs nyitó és záró izmokat (musculus masseter, pterygoideus, temporalis és maxillaris) ellátó motoneuronokat tartalmazza, míg a nucleus motorius nervi facialis a száj nyitásáért felelős izmok (musculus depressor mandibulae és subhyoideus) motoneuronjait (Gaupp 1904; Ewert 1984; Matesz és Szekely

1978; Opdam és mtsai. 1976). Működésükre főként az MPG gyakorol hatást, de leírtak trigeminalis és hypoglossus primer afferens végződéseket is a magokban lévő motoneuronokon (Mandal és Anderson 2010; Anderson 2001). A második gerincvelői szegmensből származó ideg motoros ágai a mellő végtag izmait idegzik be, ez a motoros funkció szintén nem elhanyagolható a zsákmányszerzés ideje alatt. A mellő végtag fixálása szükséges a fej mozgásának stabilizálásához, illetve az egyensúly fenntartásához (Gaupp 1904; Llinás és mtsai. 1976; Nieuwenhuys 1998).

Az előbb felsorolt mozgások mind fontosak a zsákmány elejtése érdekében, mi mégis két másik elengedhetetlen momentumát szeretnénk volna kiemelni ennek a folyamatnak. Vizsgálataink a nyelv kiöltéséhez és visszahúzásához szükséges izmokat beidegző nucleus motorius nervi hypoglossi, és a zsákmányállat lenyelésében szerepet játszó nucleus ambiguus motoneuronjaira vonatkoztak.

2.2.1. A nyelvizmok funkcionális csoportjai békában

Elhelyezkedésük alapján három különböző típusú nyelvizmot tudunk megkülönböztetni: (1) A nyelvcsont izmai a musculus geniohyoideus (GEN), musculus sternohyoideus (STE) és musculus omohyoideus (OMO) (**5. ábra**). (2) A külső nyelvizmok a musculus genioglossus (GGL) és a musculus hyoglossus (HYO). (3) A belső nyelvizmok (INT) longitudinális, transzverzális és vertikális rostok formájában alakítják ki a nyelv izmos vázát.



5. ábra: A nyelvizmok anatómiája békában, a funkcionális csoportok szemléltetésével (Gaupp után módosítva, 1904).

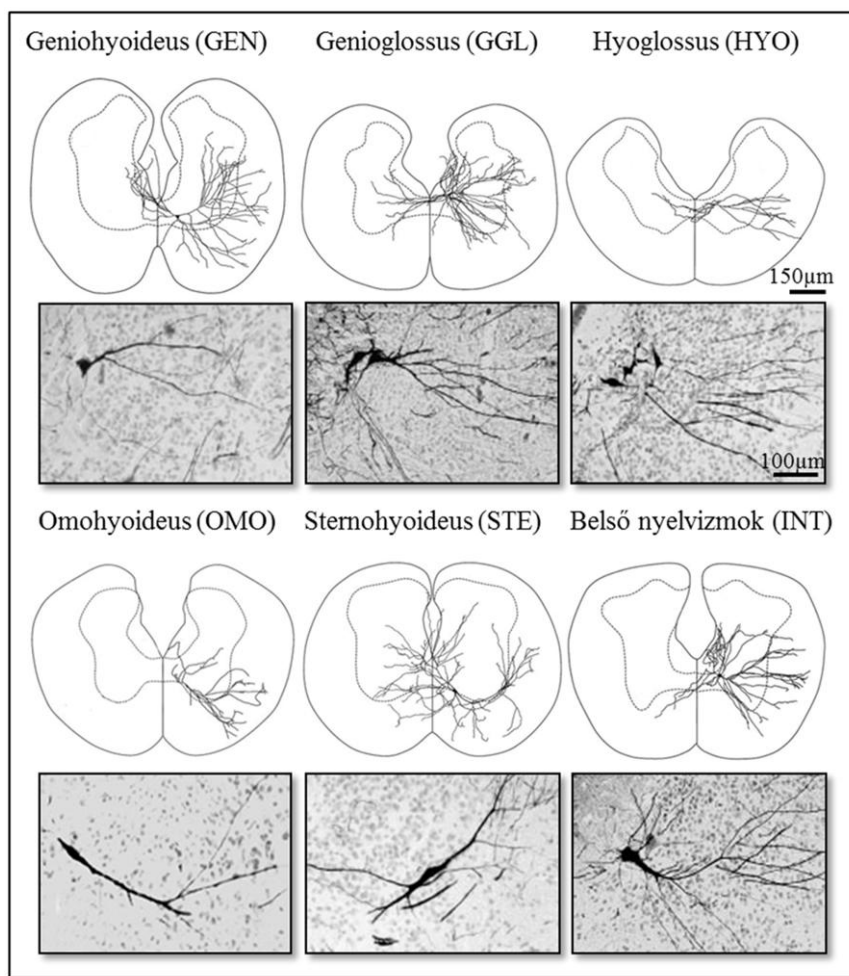
A nyelv mozgásai alapján ezeket az izmokat három különböző csoportba lehet osztani **(5. ábra)**: (1) A protraktor izmok a musculus geniohyoideus és genioglossus, a nyelvcsont előrehúzásával a nyelv kiöltésében vesznek részt. (2) A nyelv visszahúzásáért felelős retraktor izmok a musculus hyoglossus, omohyoideus és sternohyoideus. (3) A belső nyelvizmok különböző irányultságú rostkötegei alakítják ki nyelv alakját, ezek a rostok működnek mind a nyelv kiöltésekor mind a visszahúzás fázisában (Gaupp 1904; Stuesse és mtsai. 1983; Gans és Gorniak 1982b, a).

2.2.2. A hypoglossus mag morfológiája békában

Munkacsoportunk korábban kimutatta, hogy a protraktor, retraktor és belső nyelvizmok motoneuronjainak **(6. ábra)** morfológiája eltér egymástól (Matesz és mtsai. 1999; Birinyi és mtsai. 2004), a különböző sejtek elkülöníthetők a szóma, az eredő dendritek átmérője és a dendrit szegmentek hossza alapján. A protraktor csoportba tartozó GGL és GEN izmok motoneuronjainak morfológiája meglehetősen hasonló, a háromszög alakú sejttestből 3-7 dendritfa ered, amelyek közül a lateralis dendritfák jelentősen hosszabbak és elágazóbbak, mint a medialisak. A STE, HYO és OMO izmokat beidegző retraktor sejtekre megnyúlt ellipszoid alakú sejttest jellemző. A STE sejtek dendritfái „U” alakban meghajolva dorsomedialis és dorsolateralis orientációt mutatnak, a HYO sejtek viszonylag egyszerű dendritfái medialis és lateralis irányultságúak, míg az OMO neuronoknál a lateralis dendritek gazdagon elágazódnak, a medialis irányú dendritek viszont sokkal egyszerűbb szerkezetűek. A belső nyelvizom neuronok sejttestjei megnyúltak, amelyekről 3-5 dendrit ered, ezek sugarasan minden irányba haladó sűrűn elágazódó dendritfákra oszlanak. A kvantitatív analízis eredményei azt mutatták, hogy a perikaryonok méretei a protraktor és a belső nyelvizmok motoneuronjainál hasonlóak és a dendritek radialis elrendeződést mutatnak. A retraktor izmok neuronjainál a sejttestek orsó alakúak és vékony, bipoláris dendritfa jellemzi őket.

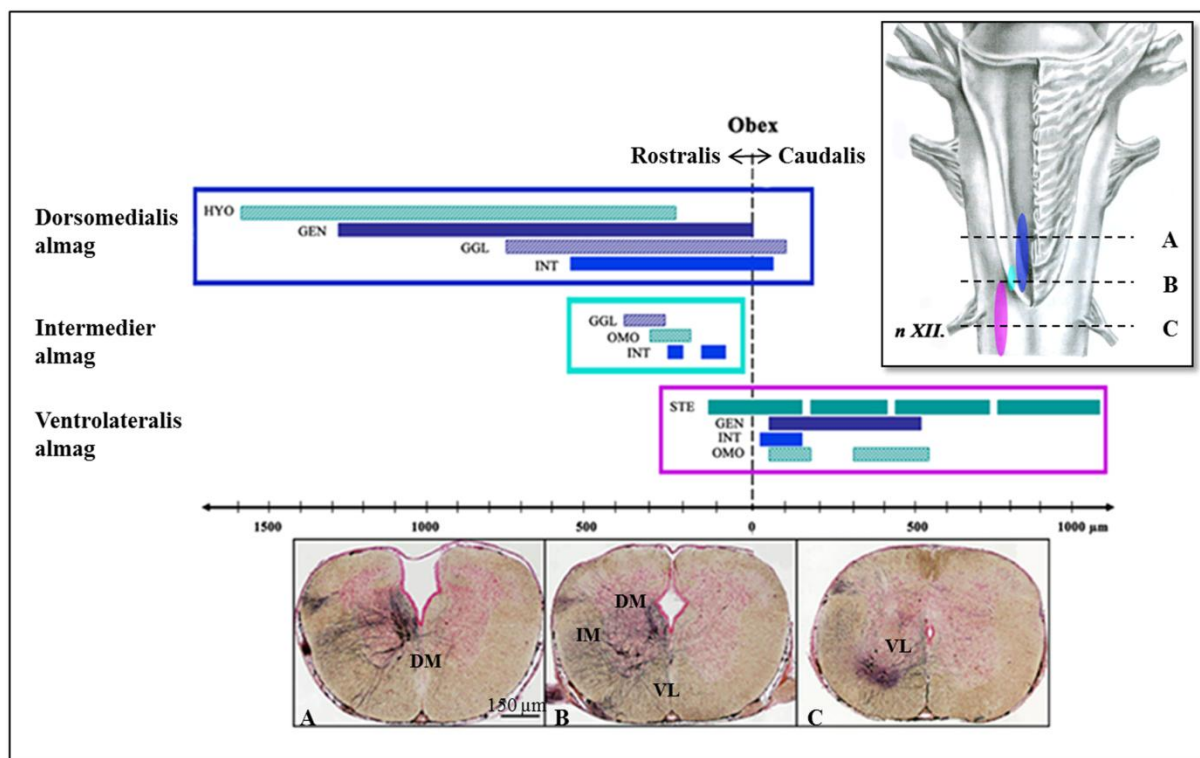
Az, hogy a funkcionálisan azonos csoportba tartozó sejtek morfológiája hasonló, és más típusoktól különböző azt is jelentheti, hogy a különböző neuronok az aktiválásukhoz szükséges bemeneteket más-más forrásból kaphatják, vagyis a lehetséges afferensek különböző kombinációkban végződhetnek a motoneuronokon. A neuron működése szempontjából a dendritfán végződő szinapszisok erőssége, és megoszlása alapvető,

ugyanakkor ezekről a kapcsolatokról jelenleg nem rendelkezünk sem fiziológiai, sem morfológiai adatokkal a zsákmányszerző magatartás kapcsán.



6. ábra: A nucleus nervi hypoglossi különböző izmokat ellátó motoneuronjainak morfológiáját bemutató mikroszkópos felvételek, és Neurolucida rekonstrukcióik békában (Birinyi után módosítva, 2004).

A nyelvet mozgató motoneuronok a nyúltvelőben a nucleus motorius nervi hypoglossi dorsomedialis, intermediar és ventrolateralis almagjait képezik a békában. A dorsomedialis almag az obextől rostralisan húzódik, főleg a musculus hyoglossus, geniohyoideus, genioglossus és a belső nyelvizmok motoneuronjait tartalmazza (7. ábra). Az intermediar almagban, amely a dorsomedialis és a ventrolateralis almag között az obextől rostralisan helyezkedik el, a musculus genioglossus, omohyoideus és a belső nyelvizmok motoneuronjait találjuk. A ventrolateralis almagban, amely az obextől főleg caudalisan húzódik, a musculus omohyoideus, sternohyoideus, geniohyoideus és a belső nyelvizmok motoneuronjai foglalnak helyet (7. ábra) (Matesz és mtsai. 1999; Matesz és Szekely 1978; Szekely és Matesz 1993).



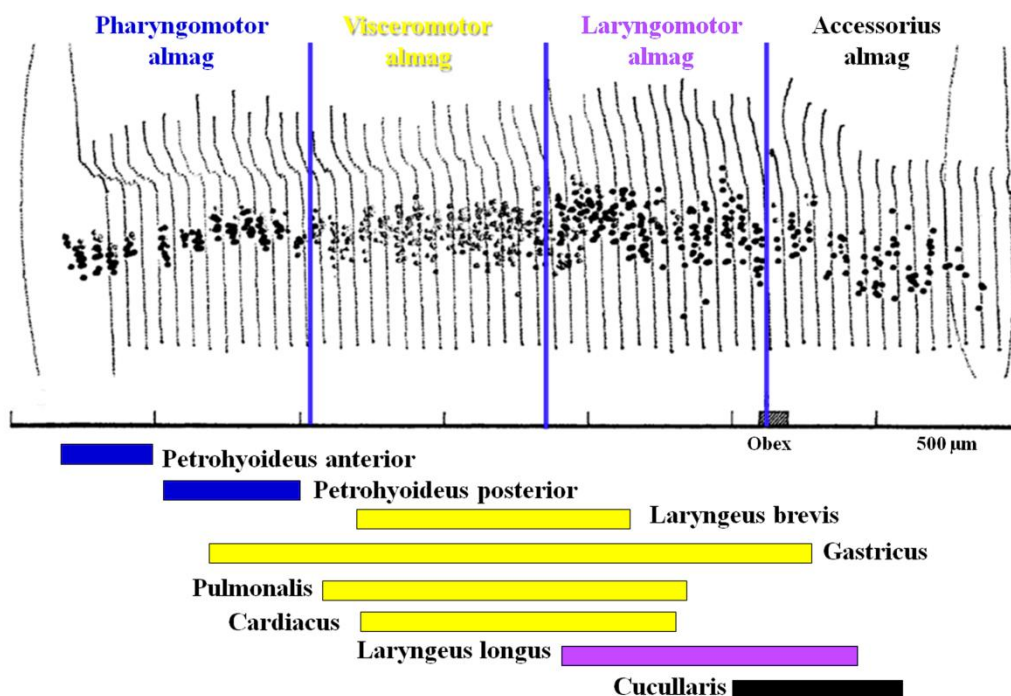
7. ábra: A nucleus motorius nervi hypoglossi három almagja békában. DM: dorsomedialis almag; IM: intermediolateral almag; VL: ventrolateralis almag; HYO: musculus hyoglossus; GEN: musculus geniohyoideus; GGL: musculus genioglossus; INT: belső nyelvizmok; OMO: musculus omohyoideus; STE: musculus sternohyoideus (Matesz után módosítva, 1999).

2.2.3. A nucleus ambiguus morfológiája békában

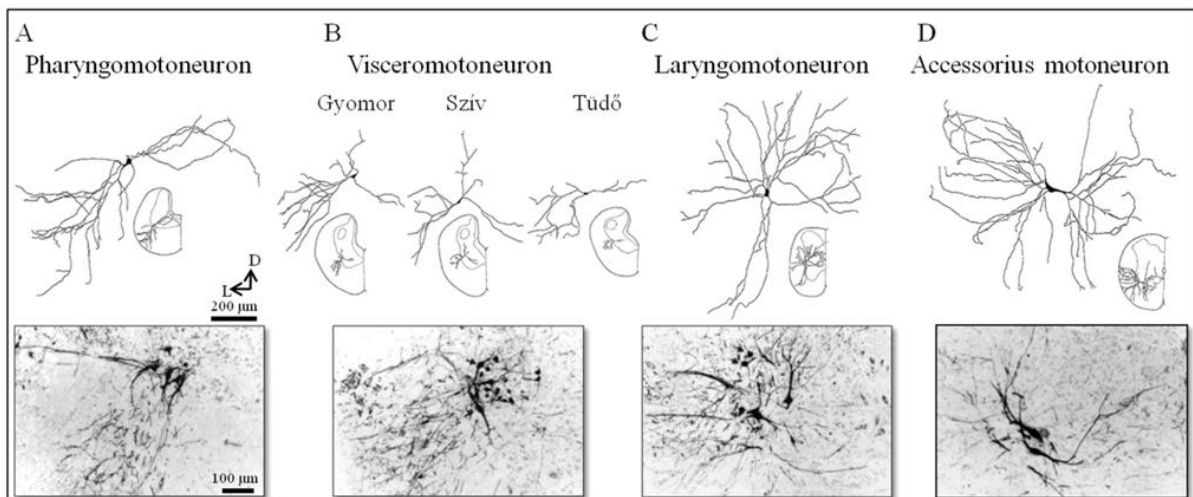
A nucleus ambiguus az egyik legalaposabban kutatott és leírt agyidegi mag, különböző fajokban vizsgálták már morfológiáját (Barbas-Henry és Lohman 1984; Bieger és Hopkins 1987; Matesz és Szekely 1978, 1983, 1996; Oka és mtsai. 1987; Simpson és mtsai. 1986; Stuesse és mtsai. 1984; Szekely és Matesz 1988, 1993). A béka ambiguus magjának neuroanatómiai részleteire munkacsoportunk korábbi kutatásai alapján derült fény (Matesz és Szekely 1996). A nucleus ambiguus békában is a nervus glossopharyngeus, vagus és accessorius motoneuronjait tartalmazza, amelyek által ellátott izmok részt vesznek a nyelésben, a hangadásban és különböző visceromotoros funkciókat is betöltenek (**8. ábra**).

A béka ambiguus mag neuronjai 3500 μm hosszúságú sejtoszlopot alkotnak a nyúltvelő ventrolateralis területén; ahol a sejteket négy funkcionálisan különböző almagra lehet elkülöníteni (**8. ábra**). (1) A pharyngealis típusú motoneuronok a nyelésben résztvevő

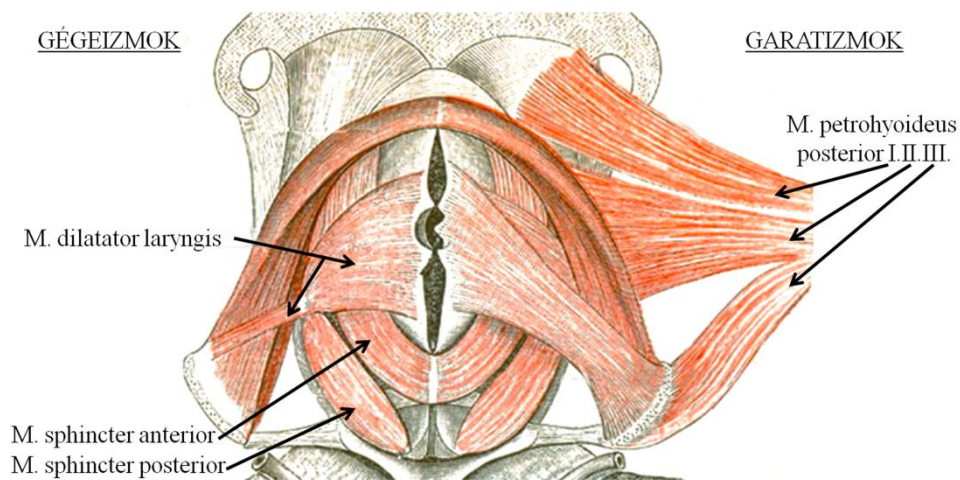
garatizmokat (musculus petrohyoideus anterior és három musculus petrohyoideus posterior) látják el. A mag rostralis 800 μm -ét foglalják el, nagy sejttest, dorsomedialis és ventrolateralis irányultságú dendritfa jellemző rájuk (9.A; 10. ábra). Ezek az izmok konstriktor működést végeznek, ami a nyelés mellett a gége emelésével a belégzésben is segít. (2) A visceromotoronok a mag középső részén találhatók, morfológiájuk és az általuk ellátott zsigerek alapján három típusra oszthatók, amelyek a nervus vagus ramus gastrica, cardiaca és pulmonalis felől jelölődtek, így a gyomorhoz, a szívhez és a tüdőhöz futnak. A sejtek morfológiája különböző, de általánosságban kisebb sejttest jellemző rájuk, mint a szomatomotoros neuronokra (9.B ábra). (3) A laryngomotoros típusú sejtek az obex környékén helyezkednek el, polygonalis szóma és dorsoventralis orientációjú legyezőszerű dendritfa jellemző rájuk (8; 9.C ábra). Ezek a sejtek idegzik be a géget mozgató musculus dilatator laryngist és három sphincter izmot (8. ábra) (Matesz és Székely 1996). (4) A negyedik típusba egyetlen izmot, a musculus cucullarist beidegző accessorius neuronokat találjuk (8; 9.D ábra), ami az ember musculus trapeziushoz hasonló funkciót lát el. Erre a típusra nagy sejttest átmérő jellemző, és dendritfái kiterjedtek minden irányban. Ez a csoport húzódik legcaudalisabban, az agytörzs-gerincvelő határtól kb. 500 μm -re.



8. ábra: A nucleus ambiguus almagjai és az általuk beidegzett izmok békában. Az ábrán a pontok szemléltetik a sejttestek rostro-caudalis pozícióját (Matesz után módosítva, 1996).



9. ábra: A nucleus ambiguus motoneuronjainak morfológiáját bemutató mikroszkópos felvételek, és Neurolucida rekonstrukcióik békában (Matesz után módosítva, 1996).



10. ábra: Garat és gégeizmok anatómiája békában (Gaupp után módosítva, 1904).

2.3. A zsákmányszerzés afferens komponensei

A zsákmányszerzés során a motoneuronok megfelelő ritmusban történő összehangolt működtetését a motoros viselkedés háttérében álló neuronhálózat (MPG) aktivitása szabályozza, amelyet a különböző agyidegek által szállított szenzoros információk egyfajta visszacsatolásként folyamatosan módosíthatnak (Nishikawa és mtsai. 1992). A különböző szenzoros csatornákból beérkező jelek erőssége, térbeli és időbeli megoszlása jelentősen módosítja a motoneuronok működését, ugyanakkor ezekről a kapcsolatokról jelenleg nem rendelkezünk sem morfológiai, sem fiziológiai adatokkal a zsákmányszerző magatartás esetében. Ezért célul tűztük ki annak vizsgálatát, hogy a különböző primer afferens rostok

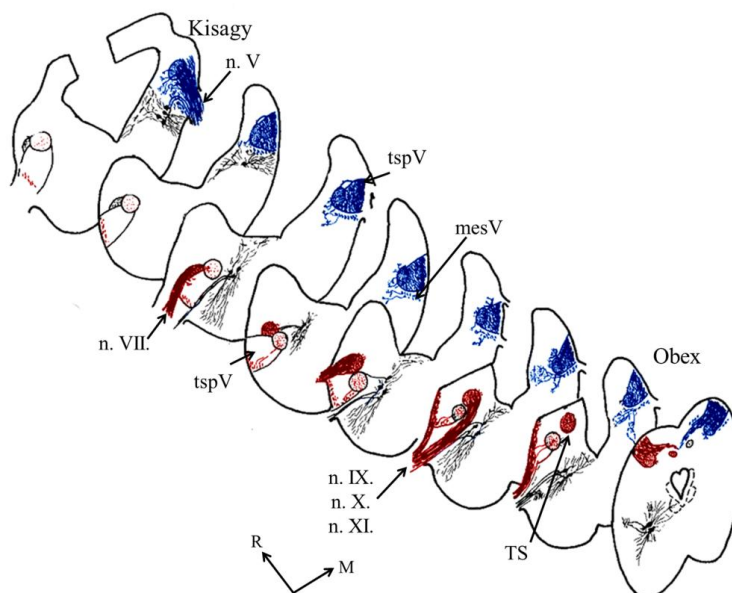
létesítenek-e kapcsolatokat a motoneuronokkal, és milyen ezeknek a kapcsolatoknak az eloszlása a magon belül. Vizsgálataink célpontjai a trigeminus, a facialis, a vestibularis, a glossopharyngeus-vagus, a hypoglossus és a második cervicalis gerincvelői ideg afferensei voltak, amelyek szenzoros rostjai fel- és leszálló pályákban haladnak az agytörzs területén és kollaterálisokat adnak le a mozgató agyidegek magjaiba.

2.3.1. A trigeminalis afferensek szerepe

A nervus trigeminus a szájüregből illetve a szájzáró izmok izomorsóiból származó szenzoros információt szállítja az agytörzsbe. Három szomatoszenzoros és egy szomatomotoros magja van. A nucleus sensorius principalis nervi trigemini (npV) a nervus trigeminus fő érzőmagja, míg a nucleus tractus spinalis nervi trigemini (ntspV) a szájüreg mechano-, termo- és kemoreceptoraiból fogad ingerületet. A nucleus tractus mesencephalicus nervi trigemini (nmesV) nagy pseudounipolaris idegsejtjei a tectum opticum második és negyedik rétegében találhatóak, ezek az elsődleges érző neuronok a szájzáró izmok izomorsóiból szállítják az ingerületet. A tractus spinalis nervi trigemini (tspV) hosszú leszálló szára a második cervicalis gerincvelői szelvényig követhető (**11. ábra** kék területek), ahol az axonok egy része átkereszteződik. A pálya vékony axonjai elsősorban a trigeminalis érző magokban végződnek, vastag rostjai pedig a tractustól medialisán egy nem folytonos oszlopot alkotnak, amely caudalisán haladva sűrű hálót alkot a nucleus motorius nervi trigemini, facialis, nucleus ambiguus és a nucleus motorius nervi hypoglossi területén. A tractus mesencephalicus nervi trigemini (mesV) felszálló axonjai a középgagy területéig jutnak el, míg leszálló szára (Probst köteg) a tspV-től ventromedialisán követhető a második cervicalis gerincvelői szelvényig. Kollaterálisainak végződési területei megegyeznek a tspV terminálisaival (**11. ábra** kék területek) (Fuller és Ebbesson 1973; Matesz és mtsai. 2008; Matesz és Szekely 1978).

Korábbi vizsgálatok alapján az elejtett zsákmány az állat szájüregében a nervus trigeminus receptorainak ingerlésével okozhatja a motoneuronok aktiválását, és így a nervus hypoglossus és a nervus glossopharyngeus-vagus által beidegzett nyelvizmok és nyakizmok kontrakcióját (Fuller és Ebbesson 1973; Joseph és mtsai. 1968; Lowe és Russell 1982; Matesz és Szekely 1978; Munoz és mtsai. 1994c; Nishikawa és mtsai. 1992; Robinson 1970; ten Donkelaar és mtsai. 1981; Munoz és mtsai. 1994a; Munoz és mtsai. 1994b). Elektrofiziológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a trigeminalis érző afferensek hozzájárulnak a nyelvmozgások

koordinálásához különböző állatfajokban (Morimoto és mtsai. 1978; Morimoto és mtsai. 1989; Tolu és mtsai. 1994; Ishiwata és mtsai. 2000; Luo és mtsai. 2001; Luo és mtsai. 2006; Racz és mtsai. 2008). Habár a korábbi vizsgálatok felvetették a lehetőségét közvetlen trigemino-hypoglossus kapcsolatok létezésének, ezeket eddig még nem azonosították.



11. ábra: A nervus trigeminus, a nervus facialis, és a nervus glossopharyngeus-vagus-accessorius idegek szenzoros axonjainak rostro-caudalis lefutása a béka agytörzsében. A V. ideg az ábra jobb oldalán kékkel látható, míg a VII., IX.-X.-XI. idegek az ábra bal oldalán pirossal vannak feltüntetve. tspV: tractus spinalis nervi trigemini; mesV: tractus mesencephalicus nervi trigemini; TS: tractus solitarius; R: rostralis; M: medialis (Matesz és Székely után módosítva, 1978).

2.3.2. A facialis afferensek szerepe

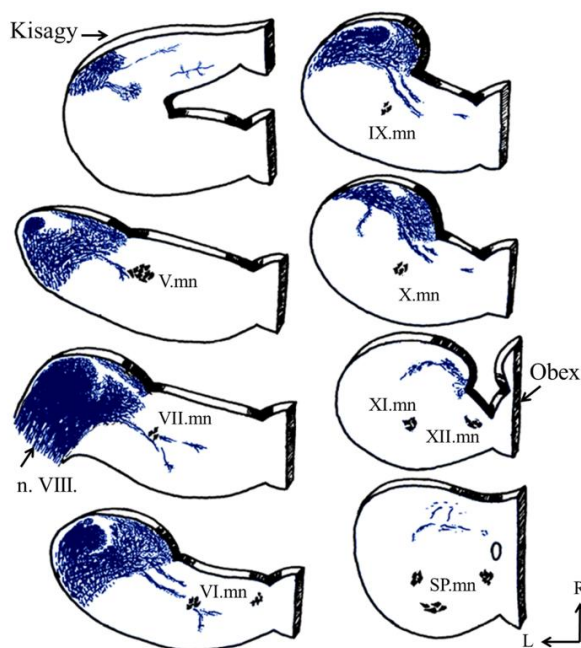
Kecskebékában a nervus facialis motoros ága beidegzi a musculus depressor mandibulae és a musculus subhyoideus, az ideg érző ágai pedig általános érző információt szolgáltatnak a torok, a szájüreg, szájpad és az orrüreg nyálkahártyájának receptoraiból. Az ideg hyomandibularis érző ága homológ az emlősök chorda tympani idegével, kémiai stimulusokra válaszol, főleg a sós és savas anyagokra a szájpad régiójában (Gaupp 1904; Opdam és mtsai. 1976).

Az agytörzsbe való belépése után a facialis afferensek egyik csoportja a tractus solitariusban halad, egy rövid felszálló kötegük eléri a nervus trigeminus motoros magjának szintjét, egy hosszabb leszálló köteg pedig az obex szintjében a solitarius komplex kereszteződő magjaiban végződik (**11. ábra** piros területek). A rostok másik része a tspV-hez

kapcsolódva halad caudalis irányba, ahol a spino-medullaris határon átkereszteződnek az ellenoldalra. Kollaterálisainak végződési területei megegyeznek a nervus trigeminus, illetve a nervus glossopharyngeus-vagus primer afferens terminálisaival, habár rendkívül csekély számú kollaterálist találunk ezeken a területeken.

2.3.3. A vestibularis afferensek szerepe

A vestibularis rendszer információt közvetít a test és a fej térbeli helyzetéről illetve ennek változásáról a mozgások során, fenntartja a test egyensúlyi helyzetét és a fej mozgásaival párhuzamosan koordinálja a szemmozgásokat (Olabi és mtsai. 2009; Dutia 2010). Békában az egyensúlyérző receptorok közül a lineáris gyorsulásra érzékeny receptorok a sacculusban, az utriculusban és a lagenaban helyezkednek el, míg a szöggyorsulást a félkörös ívjáratokban elhelyezkedő ampullaris receptorok érzékelik. A béka vestibularis afferenseinek többsége az agytörzsben lévő négy vestibularis magban (nucleus vestibularis superior, medialis, lateralis és descendens) végződik, de eljutnak többek között a kisagyba és az agytörzsi formatio reticularisba is (**12. ábra**). A primer afferensek kollaterálisai caudalis irányba haladva megközelítik az agytörzsi motoros magvak motoneuronjait (Matesz 1979), az obex szintjét elérve már nem találunk összefüggő leszálló vestibularis pályát.



12. ábra: A nervus vestibularis szenzoros rostkötegeinek rostro-caudalis lefutása a béka agytörzsében. A római számok az adott agyideg motoneuronjait jelölik. SP.mn: spinalis motoneuronok; R: rostralis; L: lateralis (Matesz után módosítva, 1979).

Korábbi vizsgálatok bizonyították, hogy a vestibularis rendszer képes befolyásolni a zsákmányszerzési folyamatokat közvetlen kapcsolatok révén a nucleus ambiguus motoneuronjain keresztül (Racz és mtsai. 2008; Matesz 1979; Stuesse és Fish 1984; Oka és mtsai. 1987; Deak és mtsai. 2009; Matesz és mtsai. 2002), más publikációk pedig morfológiai adatok alapján feltételeznek közvetlen vestibulo-hypoglossus kapcsolatokat is (Matesz 1979; Matesz és Szekely 1996), de ezeket még nem azonosították.

2.3.4. A glossopharyngeus-vagus afferensek szerepe

A nervus glossopharyngeus, vagus és accessorius idegek békában közös törzzsel lépnek be az agytörzsbe, ezért ezeket csak együtt tudtuk vizsgálni. A glossopharyngeus-vagus vegetatív szenzoros rostjai származhatnak a szív mechanoreceptoraiból, az artériák baroreceptoraiból, és a légzőrendszer valamint a gyomor receptoraiból. A nervus glossopharyngeus perifériás nyúlványai beidegzik még a nyelvben lévő fungiformis papillákat is, melyek kémiai ingerekre érzékenyek (Sato és mtsai. 2012; Llinás és mtsai. 1976). A szomatoszenzoros rostok információkat szállítanak a garat és a gége izmainak feszülési állapotáról, valamint a száj illetve a nyelv mechanoreceptoraiból. A mechanoreceptorok a nyelv felszínén érzékelik a zsákmányt, és amennyiben az fogyasztásra alkalmas, a táplálék lenyelésre kerül, amennyiben nem, akkor eltávolítja azt a szájüregből (Kumai 1981; Matsushima és mtsai. 1986; Nakachi és Ishiko 1986).

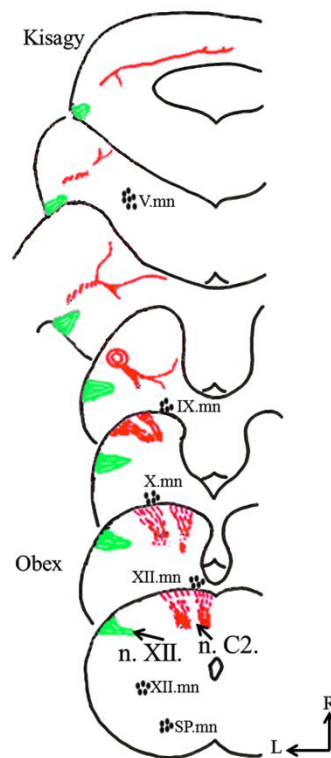
A nervus glossopharyngeus-vagus primer afferenseinek egy része a tractus spinalis nervi trigemini lateralis részében fut, a visceroszenzoros rostok pedig a tractus solitarius ventrolateralis részéhez csatlakozva a cervicalis gerincvelői szegmensekig jutnak, ahol átkereszteződve végződnek (11. ábra piros területek).

2.3.5. A hypoglossus afferensek szerepe

Magasabb rendű állatokkal ellentétben a béka hypoglossus idege nem tisztán motoros ideg, hanem rendelkezik egy szenzoros gyökérrel is amelynek axonjai a nyelv elülső részében lévő dorsalis fungiformis papillák epiteliumában végződnek és valószínűsíthetően mechanoreceptor funkciót töltenek be (Harwood és Anderson 2000). A hypoglossus afferensek azoknál a békáknál jelennek meg, amelyek nyelvüket aktívan használják, közülük is inkább a tehetetlenségi megnyúlást kihasználó fajoknál (például *Ranidae*). Békában a nyak

hiánya miatt a spinomedullaris régió szegmensei összeolvadnak egymással, az első cervicalis gerincvelői szegmens eltűnik, és ezért a C2 ideg található legrostrálisabban. Azt feltételezik, hogy a hypoglossus szenzoros rostok a C2 gerincvelői ideg dorsalis gyökeréből alakulnak ki az evolúció során. Ezt bizonyítja az is, hogy a nervus hypoglossusnak nincs szenzoros ganglionja, axonjainak sejttestjei a C2 ideg ganglionjában találhatóak, és a rostok ezen az alternatív útvonalon csatlakoznak vissza a XII agyideghez (Mandal és Anderson 2009; Harwood és Anderson 2000; Anderson és Nishikawa 1993).

Az agytörzsben a C2 axonok a dorsomedialis funiculusból szállnak felfelé, a tspV rostjaitól körülzártan, kollaterálisokat adnak a különböző agytörzsi motoros magokhoz és a formatio reticularishoz, ahol nagy számban találtak terminálisokat a központi motoros ritmus generátor területén (13. ábra).



13. ábra: A nervus hypoglossus (zöld) és a második cervicalis gerincvelői ideg (piros) szenzoros rostkötegeinek rostro-caudalis lefutásának sémás ábrázolása. A római számok az adott agyideg motoneuronjait jelölik. SP.mn: spinalis motoneuronok; n. C2: második cervicalis gerincvelői ideg afferens rostjai; n. XII: nervus hypoglossus afferens rostjai; R: rostralis; L: lateralis (Antal után módosítva, 1980).

A hypoglossus afferensek felelősek a száj nyitva tartásáért és a nyelv mozgásainak ritmusáért a táplálék lenyelése folyamán. Az afferensek átvágása után az állat nem képes nyitva tartani a száját a táplálkozás során, mivel az afferensek a szájzáró izmok működésének blokkolásával tartja nyitva a száját. Ez a folyamat valószínűsíthetően többlépcsős útvonalon megy végbe (Stuesse és mtsai. 1983; Anderson és Nishikawa 1996, 1997; Nishikawa 2000). Nem tisztázott, hogy a poliszinaptikus útvonal mellett a nyelvből érkező szenzoros információ a nervus hypoglossus által beidegzett izmokat monoszinaptikus módon is kontrolálhatja-e.

2.3.6. A spinalis afferensek szerepe

Békában az első cervicalis gerincvelői szegmentum a metamorfózis során eltűnik, így a legrostrálisabb gerincvelői ideg a C2 lesz, ahonnan a béka plexus brachialisának jelentős része ered. A nyak hiánya miatt a plexus nemcsak a mellső végtagi izmokat lát el, hanem hát és hasizmokat is. Az izmokban lévő izomorsókból származó proprioceptív afferensek információt szolgáltatnak az agynak a mellső végtagok illetve has és hátizmok feszülési állapotáról. A plexus brachialis bőridegei pedig általános érző információt szállítanak a mellső végtagról és a felső mellkasi területekről (Gaupp 1904; Llinás és mtsai. 1976; Nieuwenhuys 1998).

Az agytörzsben és a gerincvelőben a C2 afferensek a dorsolateralis és dorsomedialis funiculusból haladnak (Antal és mtsai. 1980) (**13. ábra**). Az agytörzsben a rostok a dorsalis magoszlop neuronjaihoz, a formatio reticularis sejtjeihez, a tractus solitariusához, a facialis és a trigeminalis motoros magokhoz adnak kollaterálisokat, míg végül a kisagyban végződnek (Munoz és mtsai. 1997).

2.4. Célkitűzések

A nervus glossopharyngeus-vagus illetve a nervus hypoglossus szomatomotoros magjai fontos szerepet játszanak a béka zsákmányszerzési folyamataiban, mivel a zsákmány elejtésében és lenyelésében nélkülözhetetlen izmok motoneuronjait tartalmazzák. A zsákmányállat elejtése során több érzékszerv felől érkező szenzoros bemenet is befolyásolhatja a létrejövő motoros választ, amellyel a különböző idegek felől érkező afferensek szabályozhatják és időzíthetik ezt a nagyon precíz folyamatot. A motoneuronok szenzori-motoros kapcsolatrendszerének feltérképezésével közelebb juthatunk ennek a pontosan szabályozott reflexszerű működésnek a megértéséhez. A disszertáció alapjául szolgáló mindkét munkában a vizsgálataink célja, *in vivo* neuronális jelölési technikákkal és konfokális mikroszkóp használatával annak felderítése, hogy létesítenek-e közvetlen kapcsolatokat a különböző primer afferensek az agytörzsi magok motoneuronjaival, mivel ezek a monoszinaptikus kapcsolatok jelenthetik a „megragadás-nyelés” típusú zsákmányszerző viselkedés morfo-funkcionális hátterét.

Először a nervus glossopharyngeus-vagus motoneuronjainak nervus trigeminus afferenseivel alkotott kapcsolatainak eloszlását vizsgáltuk a nucleus ambiguus almagjai között. Arra voltunk kíváncsiak, hogy a zsákmány által aktivált receptorok képesek-e közvetlenül befolyásolni a zsákmányállat lenyelésében szerepet játszó motoneuronokat. Mivel az ambiguus almagokban különböző funkciójú motoneuronok találhatók, arra a kérdésre is választ kerestünk, hogy a szájüregi nyálkahártyából, illetve a szájzáró izmok izomorsóiból származó információ a garat, a gége, vagy a belső szervek motoneuronjaira van-e nagyobb befolyással.

Az ezután következő munkában a nervus hypoglossus motoros magjának kapcsolatrendszeréről szeretnénk volna egy átfogó térképet készíteni. Ezért vizsgáltuk a nervus trigeminus, facialis, vestibularis, glossopharyngeus-vagus, hypoglossus és a második cervicalis gerincvelői ideg primer afferenseinek végződéseit a hypoglossus motoneuronokon. Feltérképeztük a kapcsolatok almagok közötti eloszlását, szómától mért távolságát, az agytörzsben elfoglalt pozícióját, illetve a talált kapcsolatok különböző funkciót ellátó motoneuronokon való megoszlását. Végül a különböző forrásból származó bemenetek kvantitatív összehasonlításával elemeztük a szenzoros információk lehetséges hatásait a nyelv mozgásaira.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

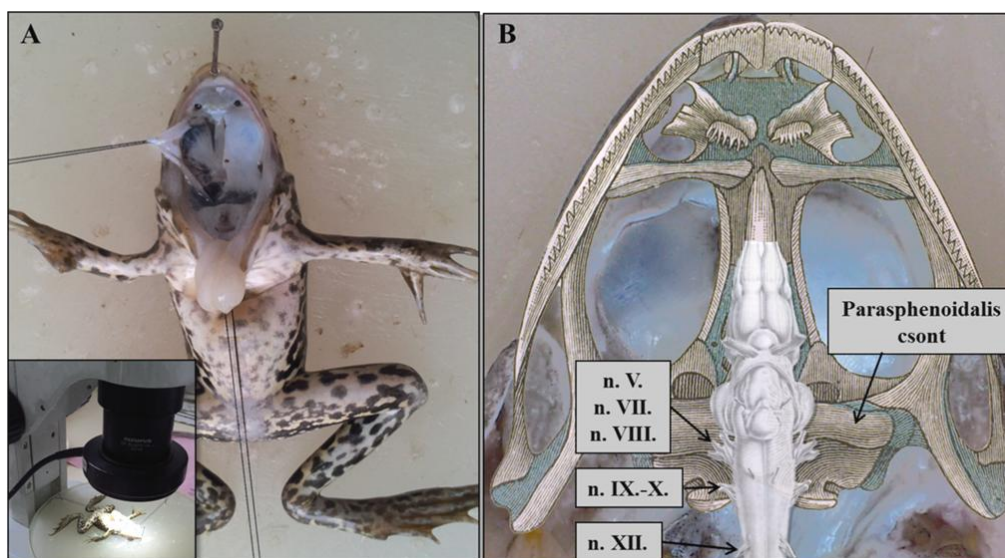
3.1. Kísérleti állatok

Vizsgálatainkat 95 db mindkét nemből származó közepes méretű felnőtt kecskebékán (*Rana esculenta*, újabb taxonómiai nevezéktan alapján *Pelophylax esculentus*) végeztük. Az állatkísérletek elvégzéséhez az adott időszakban a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatkísérleti Bizottságának 11/2011/DEMAB számú érvényes engedélyével rendelkezünk, a kísérleteket a nemzetközi és az EU szabályzata alapján végeztük (European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/ 609/EEC)). Az állatok befogása hatósági engedéllyel történt, tartásuknál pedig biztosítottuk számukra a vizes közeget, a megfelelő hőmérsékletet és a természetes napi ciklust az Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet állatházában.

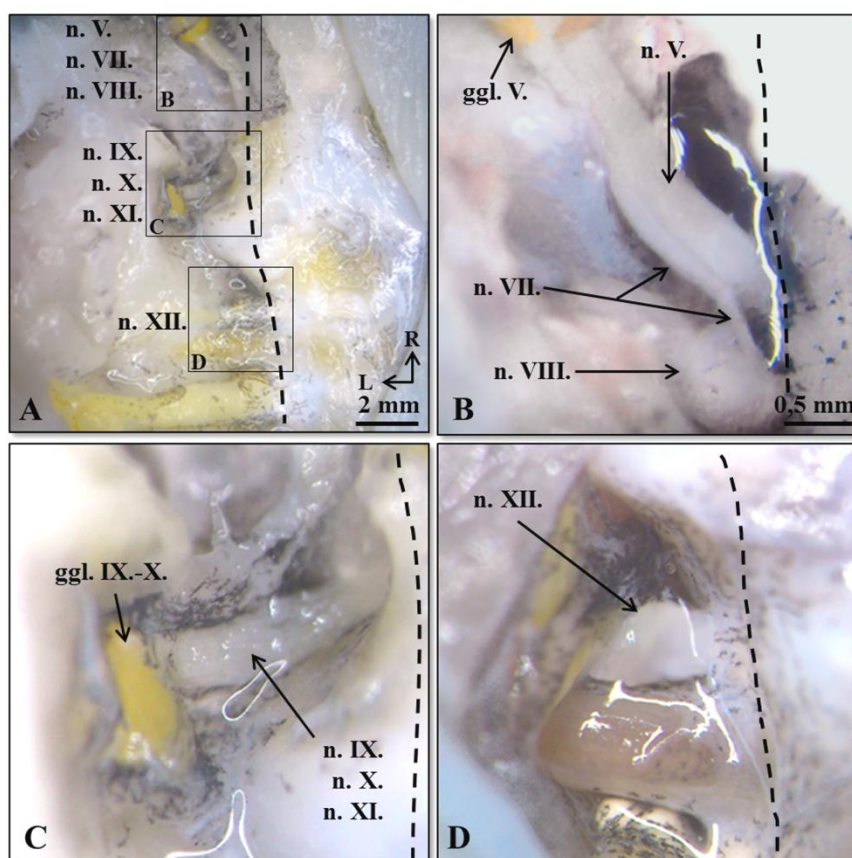
3.2. Az agyidegek jelölése

Az állatok altatása MS-222 (tricaine methane-sulfonate, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) por használatával transdermalisan történt. Az agyidegeket a szájüreg felől tettük láthatóvá, ehhez az állatot a hátára fektettük, a fejét rögzítettük, majd alsó állkapcsát és a nyelvét hátrahúztuk és rögzítettük (**14.A ábra**). Olympus SZX7 operáló mikroszkóp alatt először hosszanti bemetszést ejtettünk a szájpad nyálkahártyáján középvonalban, majd szabaddá tettük a nyálkahártya alatt lévő koponyacsontokat és izmokat (**14.B ábra**).

A műtéti terület feltárása után megkerestük a szemgolyótól caudalisan elhelyezkedő parasphenoidealis csontot (**14.B ábra**). A szemmozgató izmok és a csont egy kis részének eltávolítása után megnyitottuk a koponyát, így láthatóvá vált a rostralis irányba futó nervus trigeminus (V) és a Gasser ganglion (**15.A ábra**). Ezzel a preparálással tárható fel a nervus vestibulocochlearis (VIII) is, amely lateralis lefutással halad a parasphenoidalis csont alatt a capsula oticum felé. A nervus facialis (VII) mely a VIII. ideggel egy szintben lép ki az agytörzsből, a V. agyideggel haladva lép be annak ganglionjába, a vékony nervus facialis rostjai azonban jól elkülöníthetőek a nervus trigeminus vastag kötegétől (**15.A,B ábra**). A V. és VII. idegeket a szenzoros gangliontól proximalisan egy mikrosebészeti ollóval átvágtuk, majd a preparált csontperemre hajtottuk. A VIII. idegnél a capsula oticumba való belépése előtt történt meg az ideg átmetszése.



14. ábra: Az agyidegek jelölésének műtéti előkészítése (A), a jelölt agyidegek, koponyacsontok és az agy helyzete (B) (Gaupp, 1904 és ten Donkelaar, 1997 után módosítva).



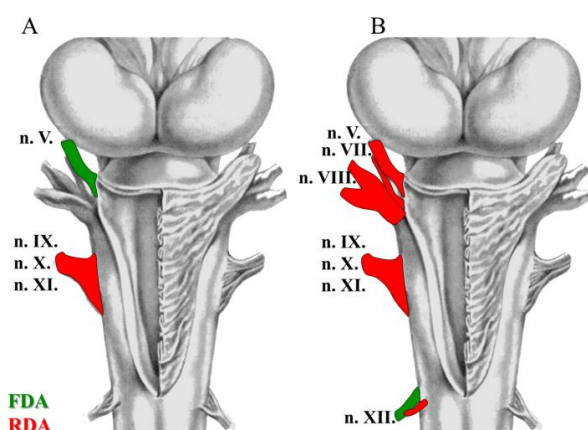
15. ábra: Az agyidegek feltárása. A: A műtéti terület és az agyidegek kis nagyítású képe. B-D: A műtét során feltárt agyidegek mikroszkópos képe. A szaggatott vonal az agytörzs laterális szélét jelzi. R: rostralis; L: lateralis; ggl. IX.-X.: nervus glossopharyngeus-vagus érző ganglionja; ggl. V.: nervus trigeminus érző ganglionja (Gasser ganglion).

A nervus glossopharyngeus, vagus és accessorius feltárásához nem szükséges a koponyacsontot eltávolítani, mivel a parasphenoidalis csonttól caudalisan az idegek proximalis részét csak egy izom fedi, így ennek eltávolításával láthatóvá váltak az idegek (**15.A,C ábra**). Mivel a három agyideg közös gyökérrel lép ki az agytörzsből, nem tudtuk az idegeket külön-külön jelölni.

A nervus hypoglossust az első nyakcsigolyától lateralisán a területet fedő fascia eltávolításával tettük láthatóvá (**14; 15.A,D ábra**). Abban az esetben, ha a nervus hypoglossus motoros és szenzoros gyökerét külön-külön kívántuk megjelölni az első nyakcsigolya laterális részét speciális csontvágóval eltávolítva kerestük meg a dorsalisán eredő szenzoros és a ventralisan futó motoros gyökereket.

A trigeminus axon-nucleus ambiguus motoneuron kapcsolatok tanulmányozásához az V. agyideg rostjaira zöld színű fluorescein dextran-amint (FDA, 3000 MW, Molecular Probes Inc., Eugene, OR, USA), míg a IX.-X.-XI. idegek proximalis végére piros színű tetramethylrhodamine dextran-amint (RDA, 3000 MW, Molecular Probes) helyeztünk (**16.A ábra**).

A hypoglossus motoneuronok kapcsolatrendszerének feltérképezéséhez a nervus hypoglossust FDA-val jelöltük, míg a motoneuronokkal feltételezett kapcsolatot képező V., VII., VIII., IX.-X. és XII. idegek átvágott végeire RDA-t helyeztünk. Vizsgálatainkban egyidejűleg jelöltünk egy motoros és egy szenzoros ideget egyazon állatban, azonos oldalon (**16.B ábra**). A festékeket kristályos formában alkalmaztuk, a vágott idegvégekre óvatosan néhány kristályt helyeztünk. A kipreparálás és jelölés után az idegeket az esetleges aspecifikus jelölődés elkerülése érdekében szilikon-olaj és zsír keverékéből álló eleggyel vettük körbe.

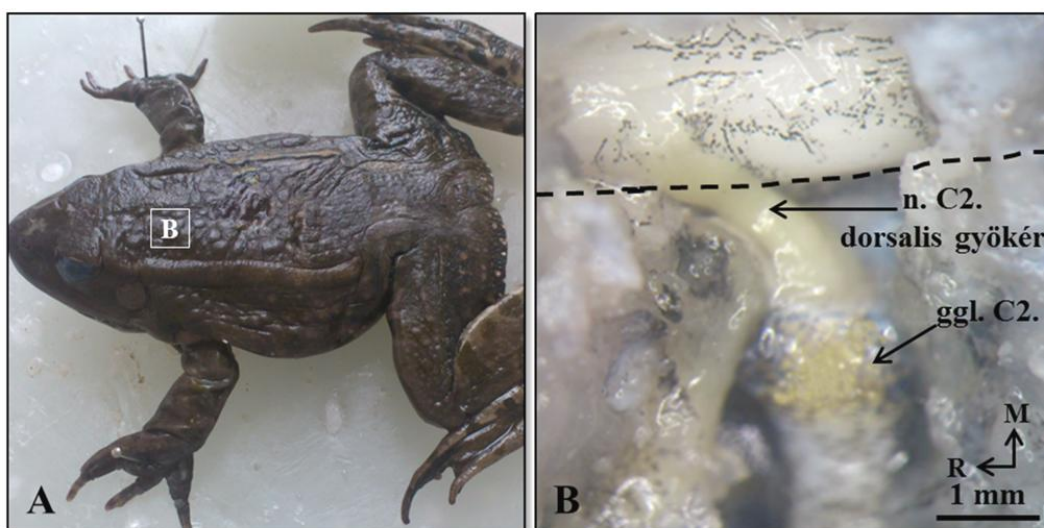


16. ábra: A béka agytörzse és agyidegei. A: A nervus trigeminus-nucleus ambiguus kapcsolatainak vizsgálatához használt jelölések. B: A hypoglossus motoneuronok kapcsolatrendszerének vizsgálatához használt jelölések. FDA: fluorescein dextran-amin, RDA: tetramethylrhodamine dextran-amin (ten Donkelaar után módosítva, 1997).

A nyálkahártyát visszafektettük a szájpadra, majd szövetragasztó segítségével a vágott széleket összeillesztettük. Ezután az állatokat 12 °C hőmérsékleten, nedves közegben tartottuk 3-5 napig. A műtétet követő túlélési idő alatt az átvágott axonok felvették a jelölőanyagokat, és azt anterográd és retrográd transzport segítségével az agytörzsbe szállították, ahol láthatóvá tették a vizsgálni kívánt motoros és szenzoros neuronális elemeket. Kísérleteinket minden agyiidegi jelölés esetében 3-3 állatban végeztük el.

3.3. A második cervicalis gerincvelői ideg jelölése

A legrostrálisabb gerincvelői ideget az állat hátán kerestük fel (17.A ábra), a scapula alsó íve alatt, a bőr illetve a hátizmok és a bordaközi izmok átvágásával. A második nyakcsigolya laterális részét eltávolítva láthatóvá váltak a dorsalis és a ventralis gyökök, illetve az ideg ganglionja (17.A ábra). A szenzoros gyökeret a gangliontól proximalisan vágtuk át, és a csontperemre kihajtottuk, majd a dorsalis gyökerre RDA-t helyeztünk. A jelölés után a hát átmetszett bőrét összeöltöttük a műtéti sérülések minimalizálása érdekében.



17. ábra: A második cervicalis gerincvelői ideg dorsalis gyökerének műtéti preparálása. A: Az ábrán a négyzet a műtendő területet jelzi. B: A műtét során feltárt C2 ideg mikroszkópos képe. A szaggatott vonal a gerincvelő laterális szélét jelzi. R: rostralis; M: medialis; ggl. C2: második cervicalis gerincvelői ideg dorsalis ganglionja.

3.4. Az agytörzs szövettani feldolgozása

A 3-5 nap túlélési időt követően az állatokat ismét elaltattuk. A transcárdialis perfúzióhoz Olympus SZX7 sztereomikroszkóp alatt a békát a hátára fektettük, majd fejét és végtagjait rögzítettük. Az állat bőrét, hasizmait, a claviculat és a sternumot átvágtuk így megnyitva a mellüreget, majd az aortába helyezett kanül segítségével perfundáltuk az állatot. Először 0.65%-os fiziológiás sóoldattal átmostuk az állat vérkörét, ezt követően 0.1 M foszfát pufferben oldott 4%-os paraformaldehid (PFA) fixáló oldatot juttattunk be transcárdialis perfúzióval.

A fixálást követően a koponyát felnyitva az agyat és a gerincvelőt eltávolítottuk, amelyet sötétített penicillines üvegben egy éjszakán át utófixáltunk 4 %-os PFA oldatban, 4 °C-on. Ezután a vizsgálni kívánt agytörzsi területeket kivágtuk és eltávolítottuk az agyburkokat. Metszés előtt 20%-os szacharóz oldatban tartottuk a mintákat leülepedésig, ezután fagyasztó mikrotóm segítségével 50 µm vastag horizontális sorozatmetszeteket készítettünk az agytörzsből, amelyeket 0.1M foszfát puffer oldatba helyeztük, a metszetek sorrendjének megtartásával. A metszeteket tárgylemezre helyeztük, Vectashield fluoreszcens fedőanyagot (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) tettünk rá és fedőlemezzel lefedtük. A tárgylemezeket -20 °C-os fagyasztóban tároltuk.

3.5. A jelölt axonok és motoneuronok mikroszkópos vizsgálata

A jelölt neuronális elemek pozíciójának bemutatására különböző rostro-caudalis szinteken 10-szeres és 20-szoros objektívvel mikroszkópos felvételeket készítettünk, Olympus DP 72 kamera segítségével. A sorozatmetszetek vizsgálatával azonosítottuk a nucleus ambiguus és a hypoglossus mag almagjait és a vizsgált primer afferensek helyzetét.

A műtött állatok közül konfokális vizsgálatra azokat használtuk, amelyekben a motoneuronok dendritfái illetve a vizsgált afferens kollaterálisok is jól láthatóak voltak. A jelölés minőségének ellenőrzésére mintáinkat korábbi jelölések eredményeivel hasonlítottuk össze (Matesz és Székely 1978, 1996). A jelölt primer afferensek és motoneuronok kapcsolatának analíziséhez minden afferens esetében három állatot használtunk, melyekben mind a motoneuronok mind az afferensek jelölése kielégítő volt. A trigeminus axonok és nucleus ambiguus motoneuronok kapcsolatainak detektálásához a magot teljes hosszában végignéztük és az almagok minden metszetéből konfokális felvételeket készítettünk. A

hypoglossus magnál a ventrolateralis és a dorsomedialis almagokból öt-öt metszetet választottunk ki a konfokális vizsgálatokhoz minden állatban. Az intermediér almagban nem volt lehetséges a kapcsolatok vizsgálata, mivel az almagban található motoneuronok dendritfái átfedtek a másik két almag neuronjaival ezért ezt a körülbelül 300 μm hosszú területet kihagytuk analízisünkéből. A kiválasztott metszetekből 1 μm vastag optikai szeletekből álló sorozatfelvételeket készítettünk Olympus FV 1000 konfokális lézer pásztázó mikroszkóppal, 40-szeres olaj-immersiós objektív segítségével és ezeken azonosítottuk és számoltuk azokat a szoros összefekvéseket, amelyeknél a neuronális elemek között nem volt látható távolság (Wouterlood és mtsai. 2002; Wouterlood és mtsai. 2003).

3.6. Az ambiguus és hypoglossus magok Neurolucida rekonstrukciója

A béka agytörzsében található mindkét mag esetében szeretnénk volna térbeli rekonstrukcióval szemléltetni a különböző almagokban található motoneuronok elhelyezkedését. A rekonstrukcióhoz a IX.-X. és a XII. idegeket a fent leírt módon jelöltük neurobiotin kristályokkal (Vector Laboratories), majd 5 nap túlélési időt követően az állatokat elaltattuk és transcardiálisan perfundáltuk 2% PFA és 1.25% glutáraldehid oldattal (pH 7.4). Ezután 50 μm vastag keresztmetszeteket készítettünk az agytörzsből fagyasztó mikrotóm segítségével. A neurobiotin vizualizálására ExtrAvidin Peroxidázzal (1:1000, Sigma-Aldrich) kezeltük a mintákat szobahőmérsékleten 2 órán keresztül, majd a motoneuronokat és a jelölt afferenseket nikkellel kötött diaminobenzidin (DAB) reakcióval (Sigma-Aldrich) tettük láthatóvá. A metszeteket zselatinos tárgylemezre helyeztük, DPX fedőanyagot (Sigma-Aldrich) helyeztünk rá, és fedőlemezzel lefedtük. Az agytörzs kontúráját és a motoneuronok sejttestjeinek helyzetét a sorozatmetszetekből háromdimenzióban rekonstruáltuk Neurolucida 8.0 szoftver segítségével (MBF Bioscience Inc., Williston, VT, USA).

3.7. Az adatok statisztikai elemzése

A nucleus ambiguus motoneuronok kapcsolatainak értékelésénél több szempontot vettünk figyelembe. Ami fontos volt számunkra ebben a munkában, az a kapcsolatok száma, axo-dendritikus vagy axo-somatikus viszonya, valamint azok eloszlása az almagok között. A

három vizsgált állatból kapott eredményeinket átlagoltuk, valamint a szórást standard deviáció (SD) használatával adtuk meg.

A nucleus hypoglossus mag vizsgálatánál a kapcsolatokat alaposabb statisztikai elemzés alá vetettük. A különböző típusú motoneuronok (protraktor, retraktor, belső) almagokon belüli eloszlása nem egységes, a motoneuronok számának meghatározásához egy korábbi munkában jelölt mintákat használtunk fel (Birinyi és mtsai. 2004). Ebben a munkában a motoneuronokat közvetlenül az izmok felől töltöttük cobalt-lysin jelölő anyaggal, vagyis csak az adott izom mozgásáért felelős motoneuronok jelölődtek. Az agytörzsekből készült sorozatmetszetek átvizsgálásával azonosítottuk és megszámláltuk az egyes izmokat befolyásoló motoneuronokat az egyes almagokban.

A hypoglossus mag esetében az előzőleg leírt, izmok felől történő korábbi jelölés lehetővé tette az egyes motoneuron típusok dendritfáinak tanulmányozását is, jelenlegi munkánkban ezen sejtek dendritfáit rekonstruáltuk Neurolucida szoftver segítségével. A sejttest körüli teret négy kvadránsra osztottuk, amelynek a sejttest a középpontja, és a kvadránsokban található dendritfák hosszát meghatároztuk Neuroexplorer program segítségével, amelyet a program Polar Histogram moduljának használatával ábrázoltunk.

Ezeket a rekonstruált sejteket használtuk fel későbbiekben a talált kapcsolatok számának és pozíciójának szemléltetésére a 25.-29. ábrák E-F ábra részeiben.

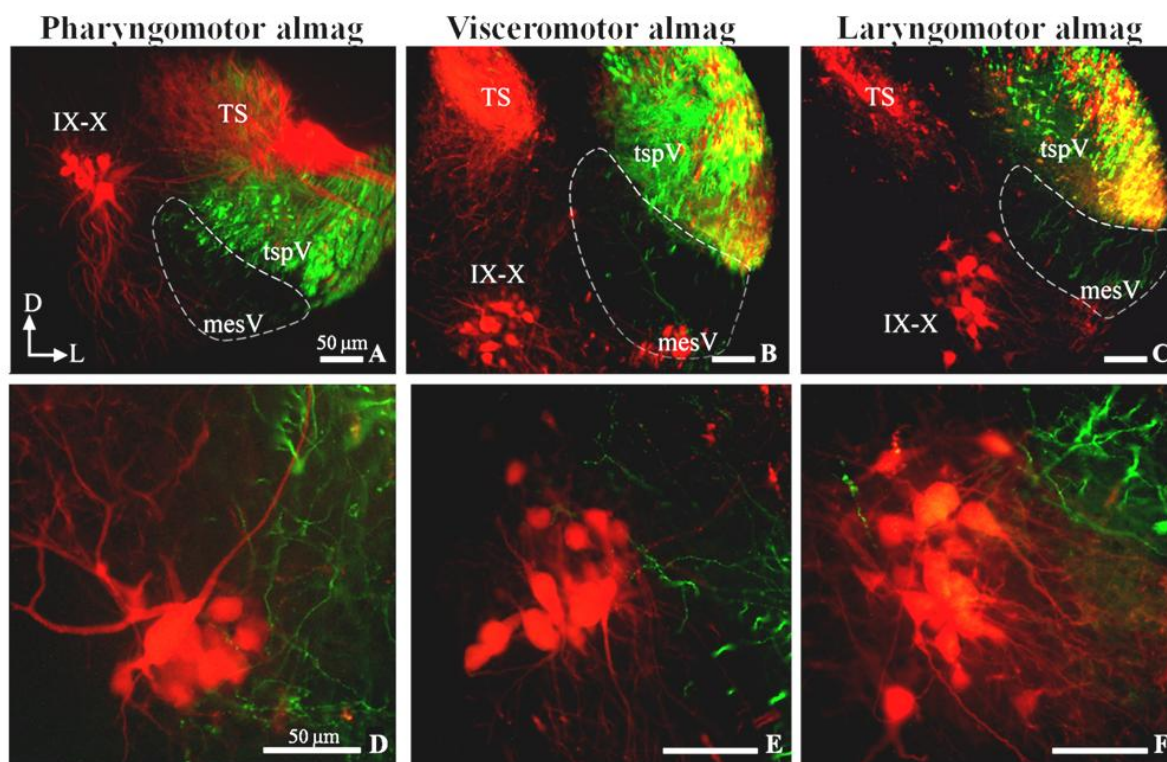
A ventrolateralis és a dorsomedialis magcsoportokban elemeztük a kapcsolatok számát, azok szómától mért távolságát és az agytörzsön belüli helyzetét. A kísérleteinket jelölt afferensenként három-három mintával ismételtük meg, a kapott eredmények átlagát és középérték szórását (SEM) kiszámítottuk. A szoros összefekvések szómától mért távolságának megállapításához a FluoViewer programot használtuk, amelynek segítségével manuálisan le tudtuk mérni a kapcsolat és a szóma közötti radiális távolságot. Az IBM SPSS statisztikai szoftverét használva, a szignifikancia szintet Mann-Whitney próbával és Kruskal-Wallis nem-parametrikus varianciaanalízis segítségével számoltuk ki, míg a talált terminálisok dendritfákon való eloszlásának meghatározására a Wilcoxon signed-rank tesztet használtuk.

4. EREDMÉNYEK

4.1. A nervus glossopharyngeus-vagus motoneuronjain végződő trigeminalis terminálisok vizsgálata

4.1.1. A nucleus ambiguus motoneuronok és a nervus trigeminus afferensek fluorescens jelölőanyaggal történő töltése

Az alkalmazott piros színű fluorescens RDA jelölőanyag retrográd módon láthatóvá tette a nucleus ambiguus motoneuronok sejttesteit és dendritfáit. A motoneuron oszlop a szürkeállomány ventrolateralis részében, a második cervicalis gerincvelői szegmentumtól körülbelül 3500 μm hosszan húzódik rostralis irányban, így az agytörzs ezen részéből készült sorozatmetszetek fluoreszcens mikroszkópos felvételein a motoneuronok jól láthatóak (18. ábra).



18. ábra: A nucleus ambiguus három almagjának szintjében készült fluoreszcens mikroszkópos felvételek. Az ábrák szemléltetik a pirosan jelölt motoneuronokat, és a zölden jelölődött trigeminalis axonokat. IX-X: glossopharyngeus-vagus motoneuronok; TS: tractus solitarius; tspV: tractus spinalis nervi trigemini; mesV: tractus mesencephalicus nervi trigemini; L: lateralis; D: dorsalis.

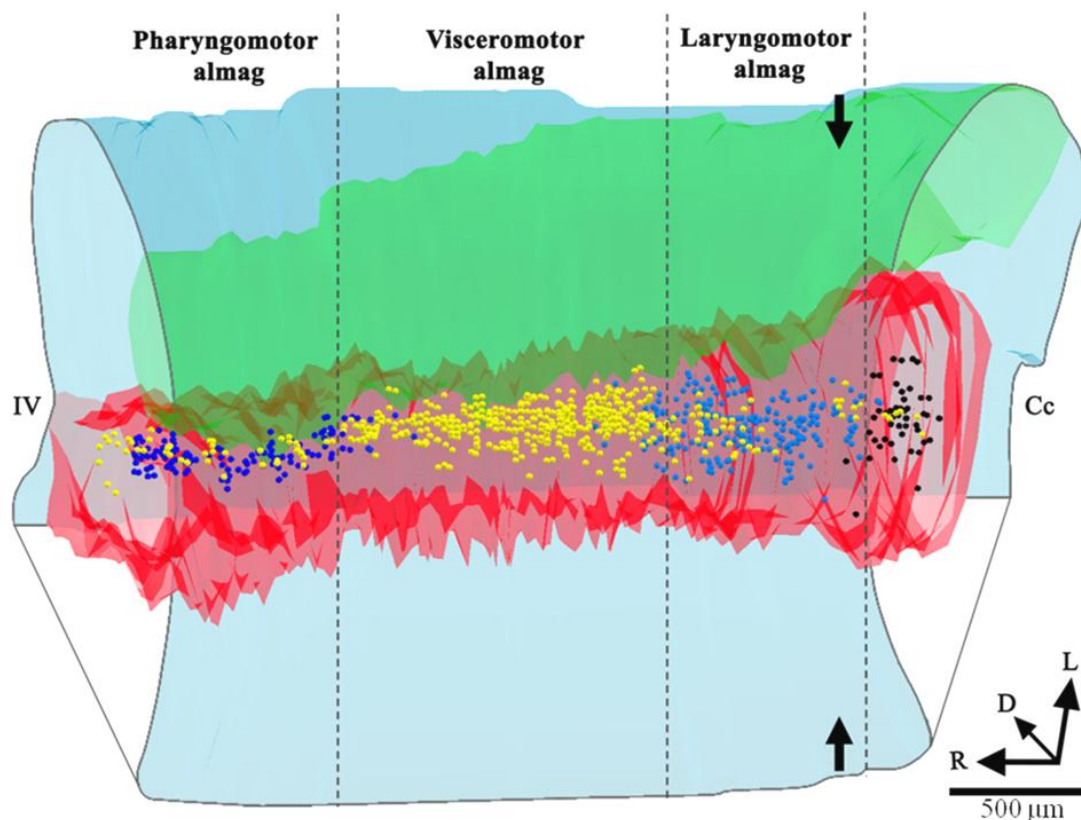
A funkcionálisan eltérő motoneuronok jól elválaszthatóak egymástól: a visceromotoroneuronokat a sejtest mérete és helyzete, a szomato-motoneuron típusokat pedig az agytörzsön belüli rostro-caudalis pozíciójuk különíti el; a pharyngo-motoneuronok a mag rostralis, míg a laryngo-motoneuronok a caudalis részében csoportosulnak. A jelölés a motoneuronok mellett láthatóvá tette a glossopharyngeus-vagus idegek szenzoros tractus solitarius kötegét is.

A nervus trigeminus anterográd zöld színű FDA jelölésével felismerhetővé váltak az ideg szenzoros kötegei: a híd és a medulla oblongata lateralis részében húzódik az V. agyideg egyik legkiterjedtebb axonkötege, a tractus spinalis nervi trigemini (tspV), tőle ventromedialisán találhatóak a mesencephalicus leszálló rostok (mesV) (**18. ábra**). Mindkét rostkötegből axon kollaterálisok húzódnak medialis irányba, amelyek behatolnak az ambiguus magba és eloszlanak a motoneuronok sejtestjei és dorsolateralis dendritfái között (**18.D-F ábra**).

4.1.2. A nucleus ambiguus funkcionálisan különböző motoneuronjainak vizsgálata

A nucleus ambiguus motoneuronjainak helyzetét és eloszlását behatóbban szeretnénk volna tanulmányozni munkánk során. Kíváncsiak voltunk arra is, hogy a fent leírt motoneuronokkal átfedő trigeminalis afferens területek a mag egész hosszára jellemzőek-e.

Neurobiotinnal jelölt sorozatmetszeteken háromdimenziós rekonstrukciót végeztünk, melynek során a Neurolucida program segítségével körberajzoltuk az egyes keresztmetszetekben az agytörzs félkontúráját, jelöltük a különböző típusú motoneuronok pozícióját és dendritfáinak kiterjedését, valamint a trigeminalis afferens rostkötegek agytörzsben elfoglalt helyzetét. A program az egymás után készült sorozatrajzokból elkészítette az adott terület háromdimenziós ábrázolását a benne helyet foglaló motoneuronokkal (**19. ábra**). Jól látható, hogy a mag caudalis részén egyáltalán nem fedezhető fel átfedés a trigeminalis rostok és a motoneuronok között, ezért ezt a részt kizártuk a további vizsgálatainkból, ezen a területen a nervus accessorius motoneuronjai találhatóak. Az ambiguus mag további részein azonosíthatóak az átfedő területek; a pharyngomotor almagban a trigeminalis rostok közelebb helyezkednek el a szómákhoz, nagyobb eséllyel alkotnak velük közvetlen kapcsolatokat, de a visceromotor almagokban is jelentős az összefekvő területek mérete.



19. ábra: A nucleus ambiguus motoros mag háromdimenziós NeuroLucida rekonstrukciója az agytörzsben. A különböző színű pontok jelölik a funkcionálisan különböző motoneuronokat. Sötétkék pontok: pharyngo-motoneuronok; sárga pontok: visceromotor neuronok; világoskék pontok: laryngo-motoneuronok; fekete pontok: nervus accessorius motoneuronjai. A piros terület a motoneuronok dendritfa kiterjedést, míg a zöld terület a trigeminalis afferensek helyzetét illusztrálja a kézzel jelölt agytörzs félkontúrájában. A nyilak az obex szintjét mutatják. A szaggatott vonalak az almagok határait jelölik. IV: negyedik agykamra; Cc: canalis centralis; L: laterális; D: dorsális; R: rostrális.

A **19. ábrán** az is látható, hogy a különböző típusú motoneuronok rostro-caudalisan három funkcionálisan különböző almagot hoznak létre, de az is észrevehető, hogy a motoneuron típusok keverednek az almagok között, ezért az almagok működésüket tekintve nem teljesen homogének. A visceromotor neuronok a mag közepét foglalják el, de betérjednek mind a pharyngo-, mind a laryngo-motoneuronok közzé. A sorozatmetszetekben a neuronok helyzete és alakja alapján meghatároztuk az almagokban található funkcionálisan különböző motoneuronok számát (**1. táblázat**).

	Pharyngomotor almag	Visceromotor almag	Laryngomotor almag
Összes motoneuron (db)	141	445	244
Szomato-motoneuron (db)	98	28	202
Viscero-motoneuron (db)	43	417	42
Almaghoz tartozó motoneuron típus	70%	94%	83%
Más almaghoz tartozó motoneuron típus	30%	6%	17%

1. táblázat: A nucleus ambiguus almagjaiban található motoneuron típusok eloszlása.

A pharyngomotor almag motoneuronjai csak 70%-ban tartoznak a pharynx izmaihoz, 30%-ban viszont a belső szervek visceromotoros funkcióját látják el, míg a visceromotor almagban található neuronok majdnem kizárólag (94%) viscero-motoneuronok. A laryngomotor almag 83%-ban a larynxot látja el, 17%-ban visceromotoros funkciójú (**1. táblázat**). A kapott adatok alapján belátható, hogy nem elégséges a kapcsolatok eloszlását kizárólag a rostro-caudalis pozíciójú almagok alapján megállapítani, hanem szükséges a funkcionálisan különböző motoneuron típusok szerint is megvizsgálni.

4.1.3. Szenzori-motoros kapcsolatok vizsgálata konfokális sorozatfelvételeken

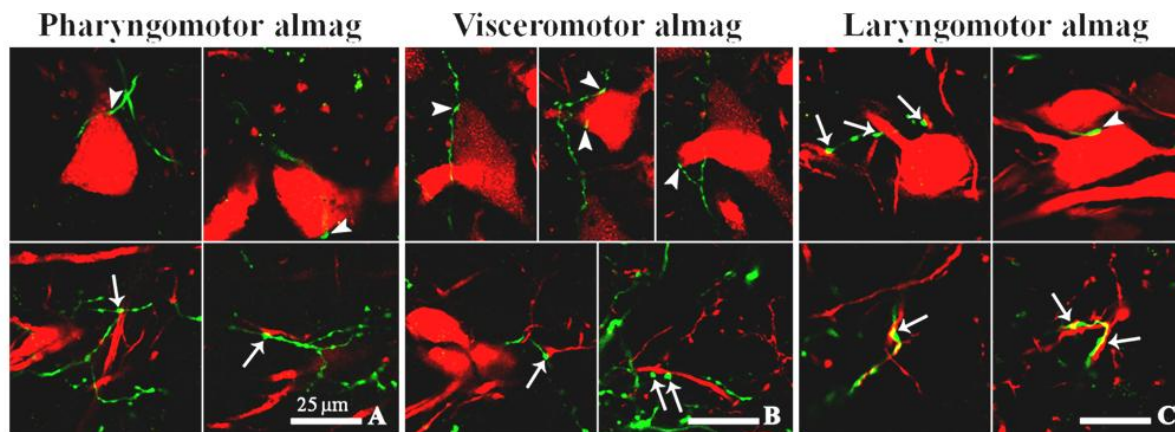
4.1.3.1. Trigeminus terminálisok kapcsolatai a nucleus ambiguus motoneuronjaival

A közvetlen szenzori-motoros kapcsolatok bizonyításához konfokális 1 µm vastag optikai szeletekből álló sorozatfelvételeket készítettünk a nucleus ambiguus három almagjának teljes hosszában, amelyeken a motoneuronok teljes dendritfa kiterjedését átvizsgáltuk. Amennyiben az optikai szeletben a motoneuron és a trigeminus axon terminálisai között nem láttunk térbeli elkülönülést közvetlen kapcsolatot tételezünk fel közöttük.

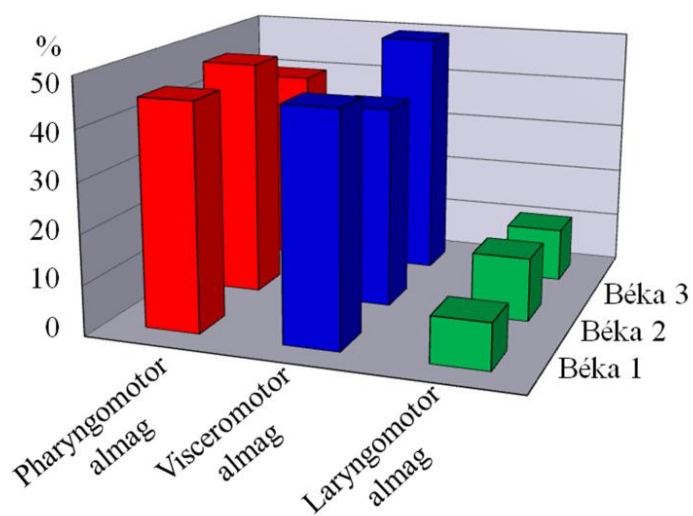
Három állatban 8079 optikai szelet átvizsgálásával összesen 2285 közvetlen kapcsolatot találtunk a nervus trigeminus afferens terminálisai és a nucleus ambiguus motoneuronjai között. A kapcsolatok főként a dendritfákon helyezkedtek el (95%), de 5%-uk axo-szomatikusnak adódott, amelyeket mindhárom almagban megtaláltuk (**20. ábra**).

Az ambiguus magon belüli kapcsolatok rostro-caudalis eloszlásának vizsgálata azt mutatta, hogy a trigeminus axonok jelentős része, a pharyngomotor (44%) és a visceromotor

(45%) almagokban található motoneuronokkal képzett kontaktust, míg a laryngomotor almagban csak néhányat találtunk (11%). A kapcsolatok száma és eloszlása hasonló volt mind a három vizsgált állatban (**21. ábra**).



20. ábra: Konfokális felvételek a nucleus ambiguus almagjaiban. A konfokális felvételeken nyílhegyek jelölik azt axo-szomatikus, a nyilak az axo-dendritikus kapcsolatokat a nucleus ambiguus három almagjában.



21. ábra: Az egyes állatokban talált kapcsolatok eloszlása a nucleus ambiguus három almagjában.

4.1.3.2. A terminálisok eloszlása a funkcionálisan különböző motoneuronokon

Mivel egy almag funkcionálisan nem egyezik meg egy motoneuron típussal, az almagokra kapott kapcsolatok eloszlását korrigálnunk kellett az adott almagban található különböző működést végző motoneuronok arányaival (**2. táblázat**). Az 1. táblázat alapján a pharyngomotor almagban talált kapcsolatoknak csak a 70%-a, míg a laryngomotor almagban lévő kapcsolatok 83%-a képezett kapcsolatokat az almagokra jellemző szomatomotoros sejtekkel míg a többi a visceromotoron volt megtalálható. Eredményeinket összegezve azt mondhatjuk, hogy a trigeminalis kapcsolatok kétharmadát (67%) a gyomor, szív és tüdő visceromotoronjain találtuk, a garat mozgásában résztvevő motoneuronok a kapcsolatok negyedét kapták (24%) míg a trigeminus viszonylag gyenge hatást (9%) gyakorolhat a gége izmok működésére. Habár a kapcsolatok kétharmada a visceromotoronon volt megtalálható, mivel ez a sejtszám a teljes mag sejtszámának körülbelül felét teszi ki, így egy adott neuronon csupán egy kapcsolat található, míg a kisebb sejtszámú pharyngo-motoneuron csoport esetében ez a szám jelentősen nagyobb (**2. táblázat**).

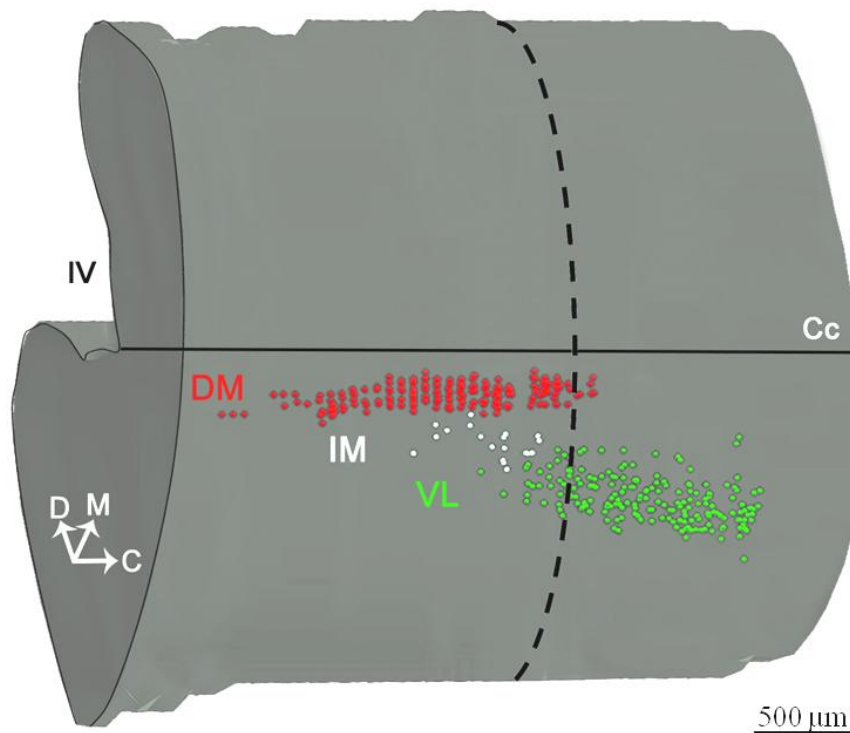
	Kapcsolatok száma			
	pharyngo- motoneuronon	viscero- motoneuronon	laryngo- motoneuronon	Összes
Béka 1	214	573	62	849
Béka 2	160	385	61	606
Béka 3	185	575	70	830
Kapcsolatok száma	559 (24%)	1533 (67%)	193 (9%)	2285
Kapcsolatok átlaga ± SD	186±27	511±109	64±5	762±135
Kapcsolatok száma / motoneuronok	1.90	1.15	0.32	0.92

2. táblázat: A talált kapcsolatok eloszlása a nucleus ambiguus funkcionálisan különböző neuronjain.

4.2. A nyelvizmok motoneuronjain végződő primer afferens terminálisok vizsgálata

4.2.1. A hypoglossus mag funkcionálisan különböző motoneuronjainak vizsgálata

A hypoglossus mag vizsgálatával kapcsolatos munka első lépéseként, ahogyan azt a nucleus ambiguus esetében is tettük, szeretnénk volna feltérképezni az agytörzsben elhelyezkedő hypoglossus motoros mag kiterjedését, valamint a motoneuronok pozícióját és eloszlását térben rekonstruálni. Ennek elkészítéséhez a motoneuronokat retrográd módon neurobiotinnal tüntettük fel, majd a jelölt motoneuronokat tartalmazó agytörzsi sorozatmetszeteket Neurolucida program segítségével háromdimenzióban rekonstruáltunk (22. ábra).



22. ábra: A hypoglossus mag motoneuronjainak elhelyezkedése az agytörzsben. A különböző színű pontok jelölik az almagokat. Piros pontok: dorsomedialis almag motoneuronjai; fehér pontok: intermediér almag motoneuronjai; zöld pontok: ventrolaterális almag motoneuronjai. A horizontális vonal az agytörzs középvonalát jelöli, a szaggatott vonal pedig az obex szintjét. DM: dorsomedialis almag; IM: intermediér almag; VL: ventrolaterális almag; IV: negyedik agykamra; Cc: canalis centralis; D: dorsalis; M: medialis; C: caudalis.

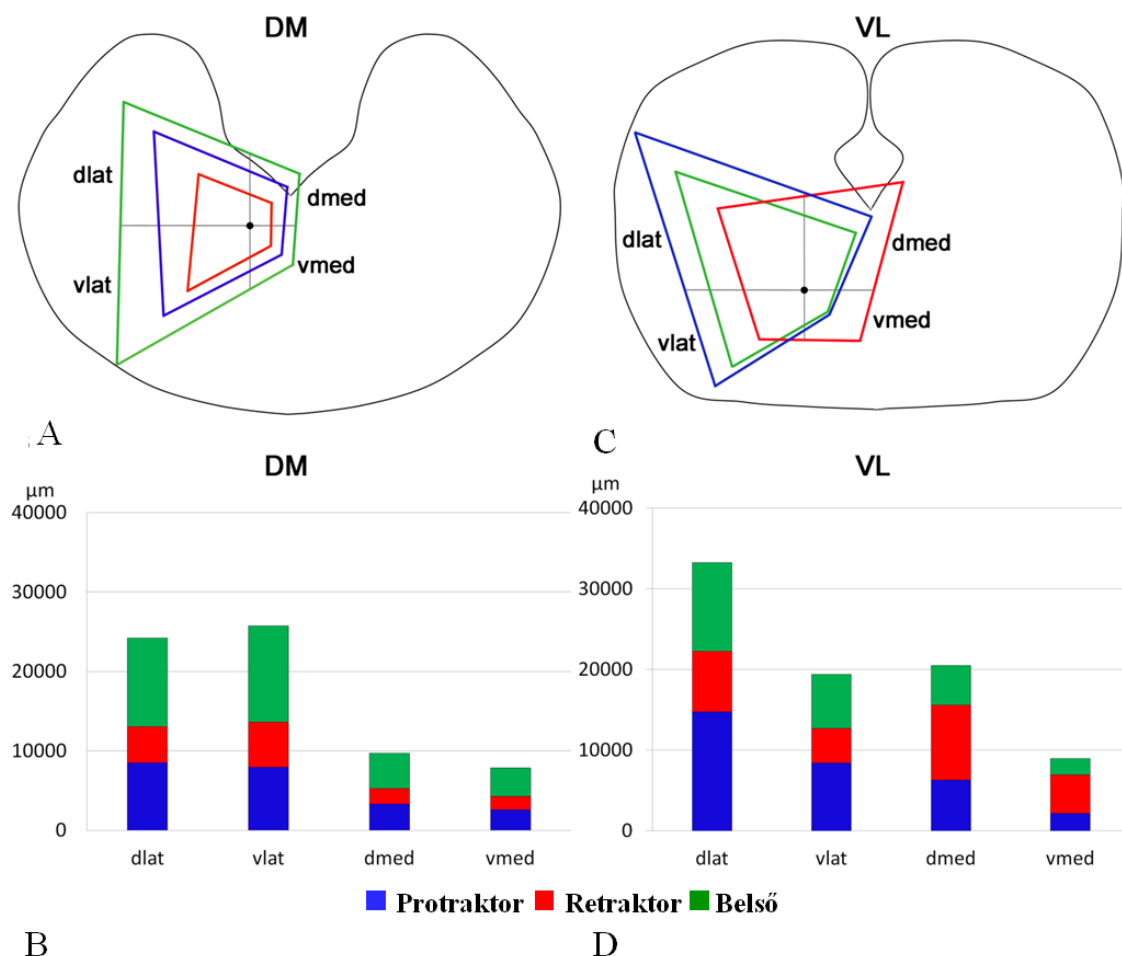
A rekonstrukción jól látható, hogy a motoneuronok az agytörzsben három eltérő helyzetű almagban találhatóak. A dorsomedialis (DM) almagban 216 ± 20 ($n=3$) motoneuront számoltunk, ami a teljes mag motoneuronjainak körülbelül a felét teszi ki, ezek egységes sejtoszlopot alkotnak az obextől rostralisán. Az intermediér (IM) almag kiterjedése alig $300 \mu\text{m}$, csupán 21 ± 2 motoneuront tartalmaz, amelyek elszórtan helyezkednek el a két másik sejtoszlop közötti területen, rostro-caudalis átfedésben mindkét másik almag neuronjaival. A ventrolateralis (VL) almagban lévő sejtek főleg az obextől caudalisán alakítanak ki sejtoszlopot, amely valamivel nagyobb területet foglal el az agytörzsben, mint a DM almag, sejteinek száma viszont kevesebb (180 ± 39).

Az almagokban lévő motoneuronok funkció szempontjából nem képeznek egységes csoportot, a protraktor, retraktor, valamint a belső nyelvizmok motoneuronjai különböző arányban jelennek meg az almagokban (**3. táblázat**). Az egyes minták átvizsgálásával arra az eredményre jutottunk, hogy a DM almagban a motoneuronok háromnegyede a protraktor funkciót ellátó izmokat idegzi be, míg a maradék a retraktor izmot, emellett a belső nyelvizmok motoneuronjainak száma elhanyagolhatóan kicsi. A VL almagban a retraktor motoneuronok dominálnak, míg kis mennyiségben a protraktor és belső nyelvizmok motoneuronjait is megtaláltuk itt. Az IM almag funkciója kevert, funkcionális dominanciát nem lehet megállapítani. Mivel a dendritfák átfednek, ezt az almagot kihagytuk a további vizsgálatainkból (**3. táblázat**).

	Protraktor motoneuron	Retraktor motoneuron	Belső motoneuron
DM almag	73%	25%	2%
VL almag	12%	82%	6%
IM almag	42%	29%	29%

3. táblázat: Különböző típusú motoneuronok eloszlása a hypoglossus mag almagjaiban.

Az izmok felől történő jelölés lehetővé tette az egyes motoneuron típusok dendritfáinak tanulmányozását is. A dendritfák orientációjának kvantitatív leírásához a szóma körüli teret négy kvadránsra osztottuk és Neuroexplorer programmal kiszámoltuk a kvadránsokba eső dendrit szegmensek hosszát, amelyet a program Polar Histogram moduljának segítségével ábrázoltunk a **23. ábrán**.



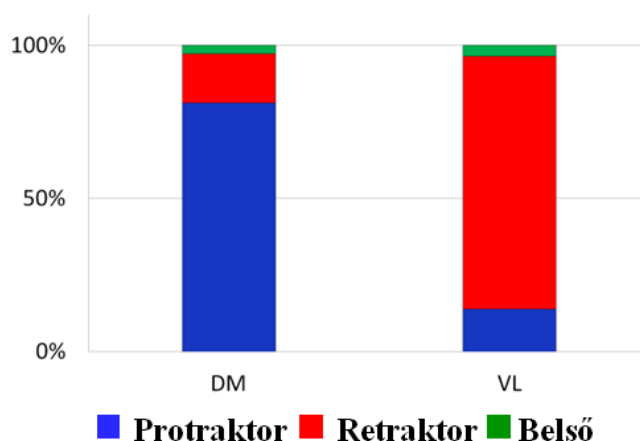
23. ábra: A különböző funkciójú motoneuronok dendritfa kiterjedésének vizsgálata.

Az A és C ábrákon a dendritfák eloszlásának Polar Histogramja látható az agytörzs kontúrájába illesztve, míg a B és D ábrákon az egyes kvadránsokban lévő dendrit szegmensek hosszának eloszlása látható oszlopdiagramokon ábrázolva, különböző színnel szemléltetve az egyes neuroncsoportokat. Kék szín: protraktor dendritfák; piros szín: retraktor dendritfák; zöld szín: belső nyelvizmok neuronjainak dendritfái. DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag; dlat: dorsolateralis kvadráns; vlat: ventrolateralis kvadráns; dmed: dorsomedialis kvadráns; vmed: ventromedialis kvadráns.

A DM almagban mind a három neuroncsoport esetében a dendritfák mintegy 75%-a a sejttestől lateralisán volt megtalálható, fele-fele arányban elosztva a dorsolateralis (dlat) és a ventrolateralis (vlat) kvadránsok között (**23.A ábra**). A kvantitív analízis azt mutatta, hogy a dendrit szegmensek fele a belső nyelvizmok neuronjaihoz, míg harmaduk a protraktor neuronokhoz tartozott, a fennmaradó dendritek pedig a retraktor izmokat beidegző sejtekhez (**23.B ábra**).

A VL almagban a dendritfák orientációja eltért a különböző neuroncsoportok között (**23.C,D ábra**). A protraktor és belső izmok motoneuronjainál a dendritek jelentős többsége a szómától lateralisán helyezkedik el, a dendritek fele a dorsolateralis, negyede pedig a ventrolateralis kvadránsban (**23.C ábra**). Ezzel szemben a retraktor neuronok dendritfái dorsomedialis és dorsolateralis irányokban haladtak. A dorsomedialis kvadránsban a dendrit szegmensek fele a retraktor izmokhoz tartozik, míg 25-25%-ban a protraktor és belső nyelvizmok neuronjainak dendrit szegmenseit találjuk (**23.D ábra**).

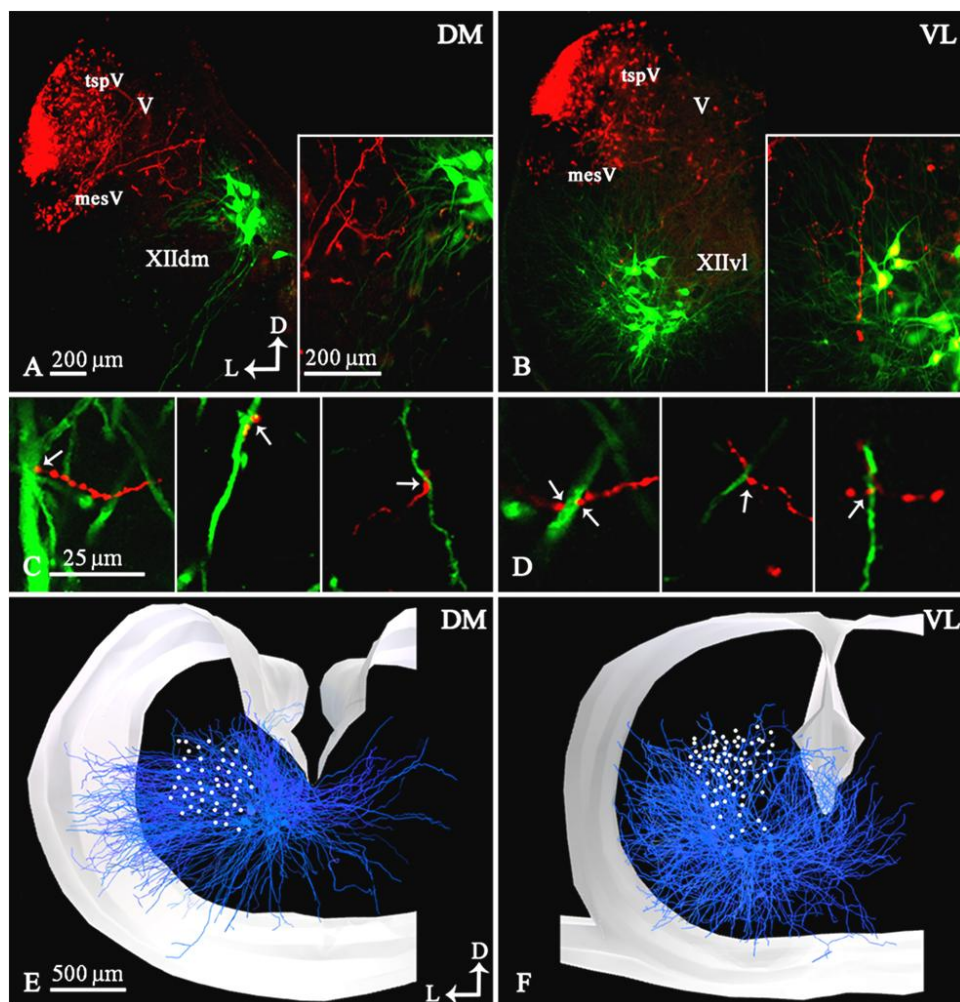
Annak a kérdésnek a megválaszolásához, hogy az agytörzs adott területén, egy meghatározott funkciót betöltő motoneuron (protraktor, retraktor, belső) előfordulásának mennyi a valószínűsége, összevetettük a neuroncsoportok dendrit szegmentumainak összesített hosszát az almagokban talált motoneuron számokkal (**24. ábra**). Az adatok azt mutatták, hogy a DM almagban a dendritek 80%-a a protraktor neuronokhoz tartozik, ugyanezt az arányt kaptuk a VL almagban is a retraktor sejtek dominanciájával. A belső nyelvizmok dendritjei mindkét almagban csak 5%-át képezték a teljes dendritarborizációnak.



24. ábra: A dendritfák eloszlása az almagok között. A grafikonokon az almagokban található különböző típusú motoneuronokhoz tartozó dendritfák hosszának százalékos eloszlás értékei láthatóak. DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag.

4.2.2. A hypoglossus motoneuronokon végződő primer afferens terminálisok vizsgálata

4.2.2.1. Trigeminus afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai



25. ábra: A hypoglossus dorsomedialis (DM) és ventrolateralis (VL) almagjainak szintjében készült fluoreszcens mikroszkópos felvételek, valamint a trigeminalis kapcsolatok konfokális felvételei és NeuroLucida rekonstrukciói. Az A és B ábrák szemléltetik a zölden jelölt motoneuronokat, és a pirosan jelölődött trigeminalis axonokat. A nagyított képek az axonok és dendritek közötti átfedő területeket illusztrálják. A C és D konfokális felvételeken láthatóak a közvetlen kapcsolatok (nyilak) a hypoglossus motoneuronok és a trigeminalis axonok között. Az E és F ábrákon az agytörzs NeuroLucida rekonstrukciójában (szürke terület) mutatjuk a trigeminus kapcsolatokat, (fehér pontok) az almagok motoneuronjainak dendritfáin (kék neuronok). DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag; XII_{dm}: dorsomedialis hypoglossus motoneuron; XII_{vl}: ventrolateralis hypoglossus motoneuron; V: trigeminalis afferensek; tspV: tractus spinalis nervi trigemini; mesV: tractus mesencephalicus nervi trigemini; L: lateralis; D: dorsalis.

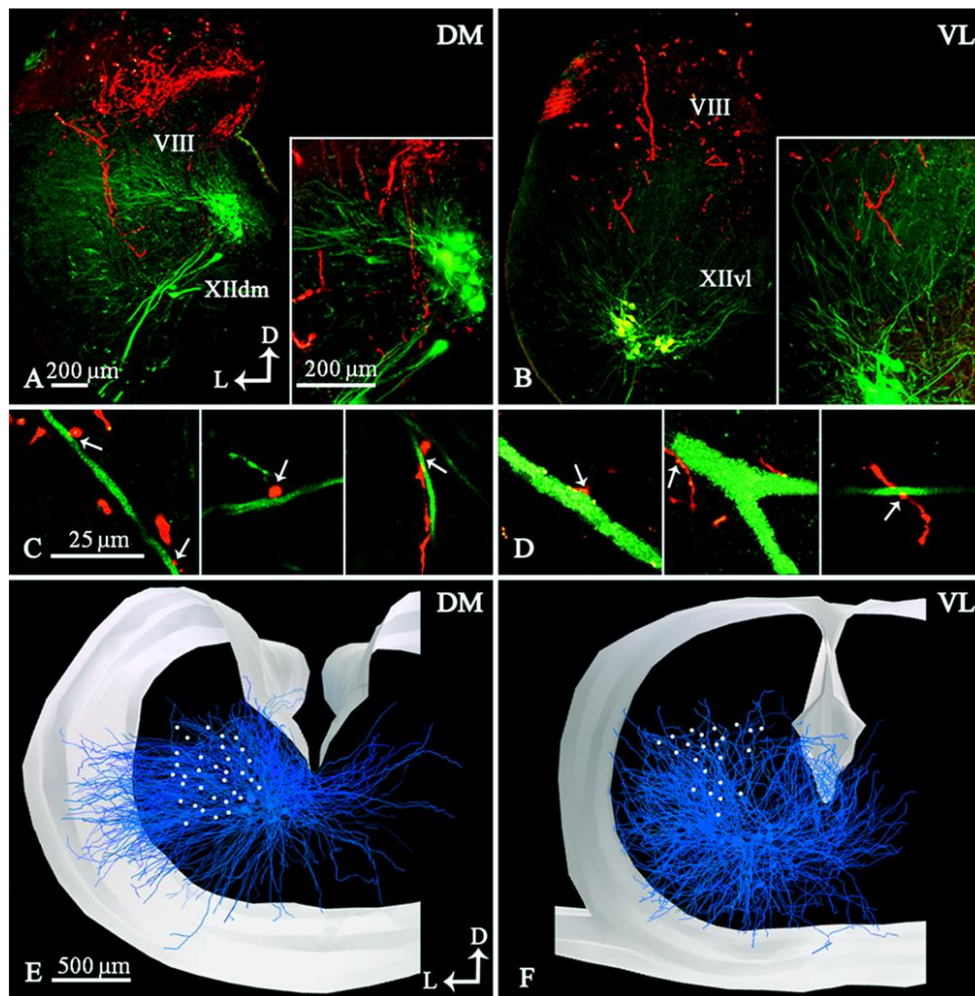
A mikroszkópos felvételeken jól láthatóak a hypoglossus mag FDA-val retrográd módon jelölődött zöld színű motoneuronjai és a piros színű RDA jelölést tartalmazó trigeminus afferensek az agytörzs keresztmetszeteiben (**25.A,B ábra**). Az agytörzsön belül a nervus trigeminus axon kötegei a tractus spinalis nervi trigeminiben (tspV) és a tractus mesencephalicus nervi trigeminiben (mesV) szedődnek össze. Az axonokból nagyszámú kollaterális ágazik le, amelyek egy nagyobb területet foglalnak el az agytörzs dorsolateralis részében (**25.A,B ábra**). A kapcsolatok detektálására konfokális felvételeket készítettünk, amelyeken 1 μm vastag optikai szeletekben vizsgáltuk a jelölt axonok és a motoneuronok kapcsolatait. A kollaterálisok a motoneuronokkal átfedő területeken kapcsolatokat létesítenek mind a DM mind a VL almagok motoneuronjaival (**25.C,D ábra**). A konfokális felvételek alapján állatonként a két almagban összesen 118 (46 ± 9 ; 72 ± 5) kapcsolatot találtunk (**4. táblázat; 32. ábra**), melynek kétharmadát a VL motoneuronok distalis szegmensein számoltuk meg, míg a DM almagban a kapcsolatok laterálisabban helyezkedtek el (**25.E,F; 34. ábra**), és közelebb voltak a sejttestekhez ($P\leq0,05$).

4.2.2.2. Facialis afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai

A nervus facialis fluorescens felvételein a tractus solitarius egy vékony axon kötege jelölődött, amelyből az axon kollaterálisok csak a hypoglossus magtól rostrálisabb agytörzsi területeken ágaztak le. Mivel nem láttunk átfedést az afferensek és a motoneuronok között (**30.C; 31.C ábra**), nem volt lehetséges a kapcsolatok keresése ebben az esetben.

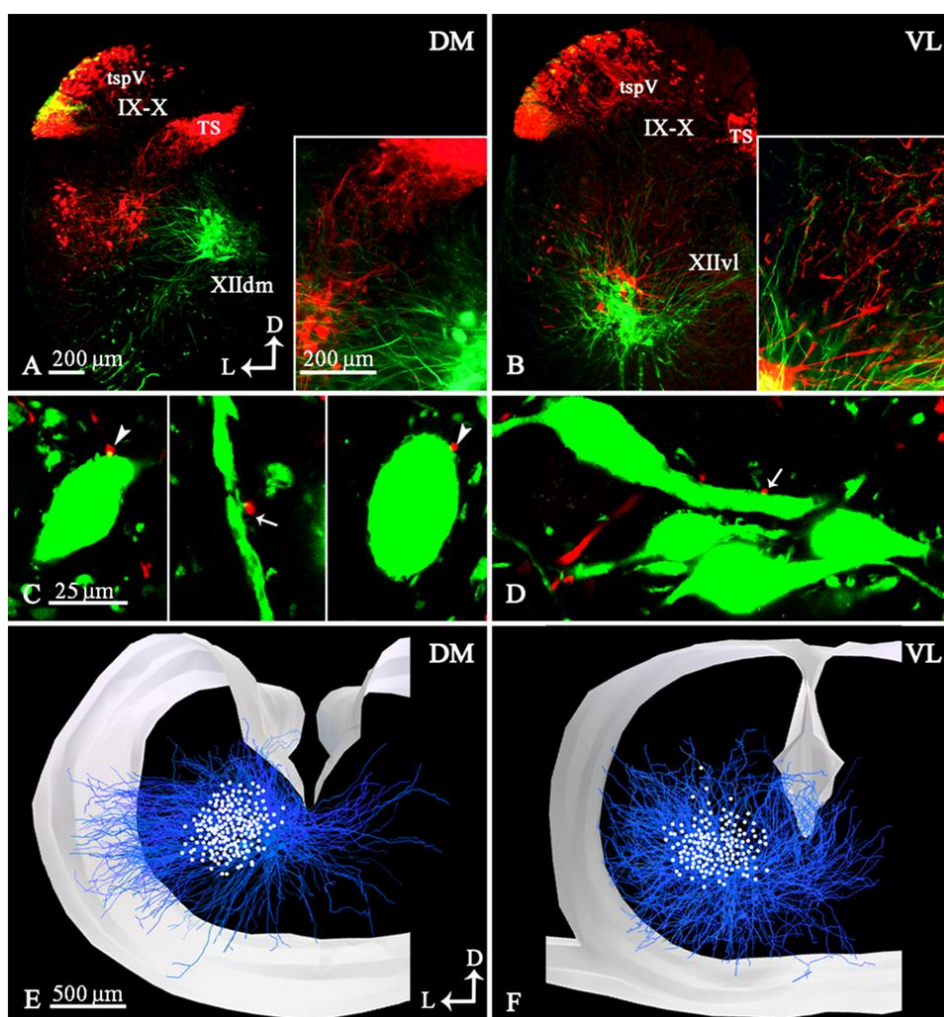
4.2.2.3. Vestibularis afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai

Az agytörzsbe történő belépés után a leszálló vestibularis rostok az agytörzs dorsomedialis régiójában haladnak a tspV leszálló kötegeitől medialisán (**26.A,B ábra**). Néhány vastag axon köteg elhagyja ezt a területet és ventralisan haladva megközelíti a hypoglossus motoneuronokat, ahol kontaktust képeznek a sejtek dendritfáin (**26.C,D ábra**). A jelölt vestibularis terminálisok állatonként a két almagban összesen 58 (35 ± 6 ; 23 ± 7) kapcsolatot alakítottak ki a hypoglossus motoneuronokkal (**4. táblázat; 32. ábra**), amelyeknek több mint 60%-a a DM neuronok laterális dendritfáin végződött (**26.E,F; 34.A ábra**), kevesebb terminálist találtunk a VL mag motoneuronjainak dorsalis dendritfáin (**34.B ábra**).



26. ábra: A hypoglossus dorsomedialis (DM) és ventrolateralis (VL) almagjainak szintjében készült fluoreszcens mikroszkópos felvételek, valamint a vestibularis kapcsolatok konfokális felvételei és NeuroLucida rekonstrukciói. Az A és B ábrák szemléltetik a zölden jelölt motoneuronokat, és a pirosan jelölődött vestibularis axonokat. A nagyított képek az axonok és dendritek közötti átfedő területeket illusztrálják. A C és D konfokális felvételeken láthatóak a közvetlen kapcsolatok (nyilak) a hypoglossus motoneuronok és a vestibularis axonok között. Az E és F ábrákon az agytörzs NeuroLucida rekonstrukciójában (szürke terület) mutatjuk a vestibularis kapcsolatokat, (fehér pontok) az almagok motoneuronjainak dendritfáin (kék neuronok). DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag; XIIIdm: dorsomedialis hypoglossus motoneuron; XIIVl: ventrolateralis hypoglossus motoneuron; VIII: vestibularis afferensek; L: lateralis; D: dorsalis.

4.2.2.4. Glossopharyngeus-vagus afferensek és hypoglossus motoneuronok



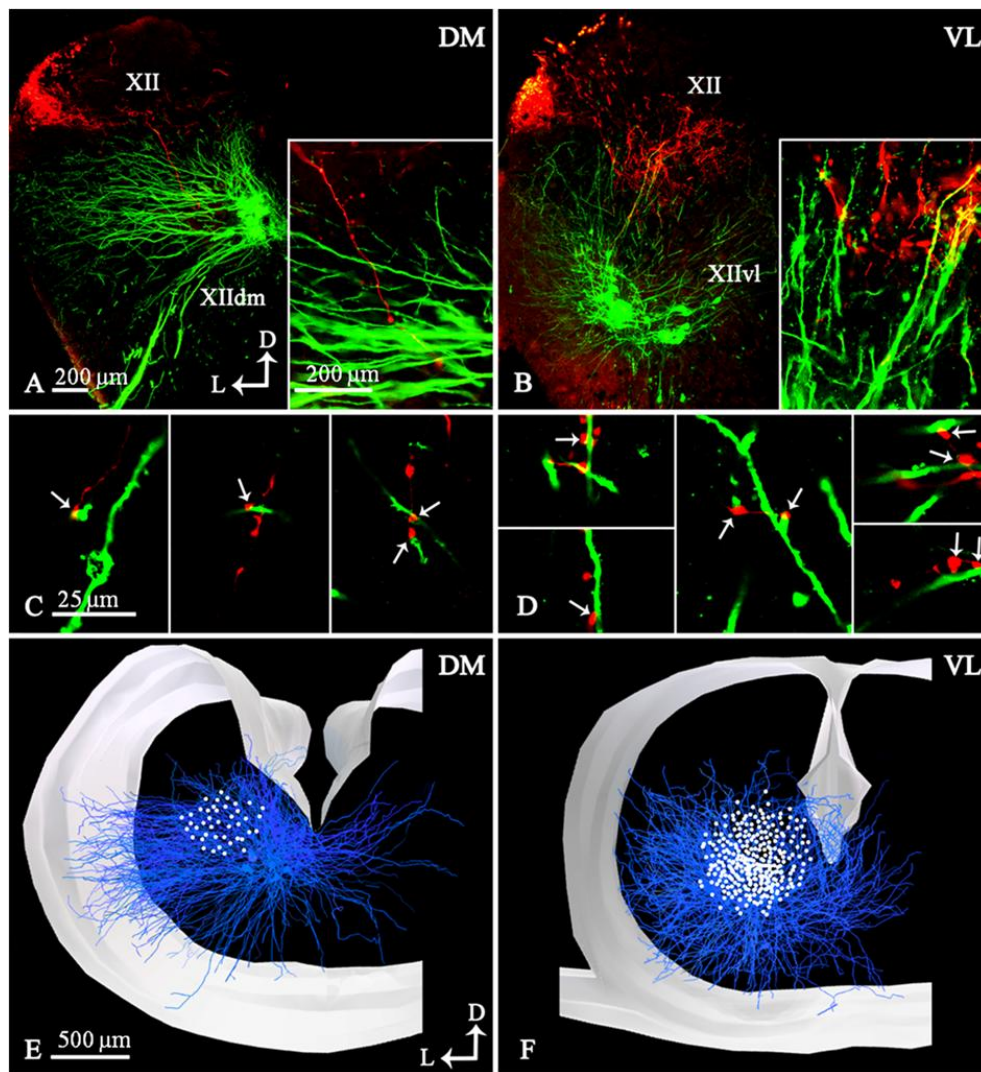
27. ábra: A hypoglossus dorsomedialis (DM) és ventrolateralis (VL) almagjainak szintjében készült fluoreszcens mikroszkópos felvételek, valamint a glossopharyngeus-vagus kapcsolatok konfokális felvételei és NeuroLucida rekonstrukciói. Az A és B ábrák szemléltetik a zölden jelölt motoneuronokat, és a pirosan jelölődött glossopharyngeus-vagus axonokat. A nagyított képek az axonok és dendriték közötti átfedő területeket illusztrálják. A C és D konfokális felvételeken láthatóak a közvetlen kapcsolatok (nyilak) a hypoglossus motoneuronok és a glossopharyngeus-vagus axonok között. Az E és F ábrákon az agytörzs NeuroLucida rekonstrukciójában (szürke terület) mutatjuk a glossopharyngeus-vagus kapcsolatokat, (fehér pontok) az almagok motoneuronjainak dendritfáin (kék neuronok). DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag; XIIIdm: dorsomedialis hypoglossus motoneuron; XIIvl: ventrolateralis hypoglossus motoneuron; IX-X: glossopharyngeus-vagus afferensek; TS: tractus solitarius; L: lateralis; D: dorsalis.

A jelölt glossopharyngeus-vagus rostok a tractus solitarius (TS) és a tspV jelentős részét teszik ki. Nagyszámú kollaterális látható a hypoglossus motoneuronok körül, amelyek egy sűrű hálót alakítanak ki a sejtestek és dendritek között, ezek egyaránt származhatnak mind a TS-ből, mind a tspV-ből (**27.A,B ábra**). Az axonok és a dendritek közötti jelentős átfedés alapján várható volt, hogy nagyszámú kapcsolatot fogunk detektálni a konfokális felvételeken (**27.C,D ábra**).

Az általunk talált 368 kapcsolatnak több mint a fele a DM almagban (212 ± 29) volt megtalálható, míg 42%-a a VL (156 ± 28) motoneuronokon (**4. táblázat; 32. ábra**). Mindkét esetben a szómához közel voltak a kapcsolatok (**33. ábra**), a DM almagban a laterális dendriteken (**27.E; 34.A ábra**) a VL almagban pedig inkább a dorsális dendriteken (**34.B; 27.F ábra**). A kapcsolatok száma és szómától mért távolsága nem mutatott szignifikáns különbséget a két almag motoneuronjai között.

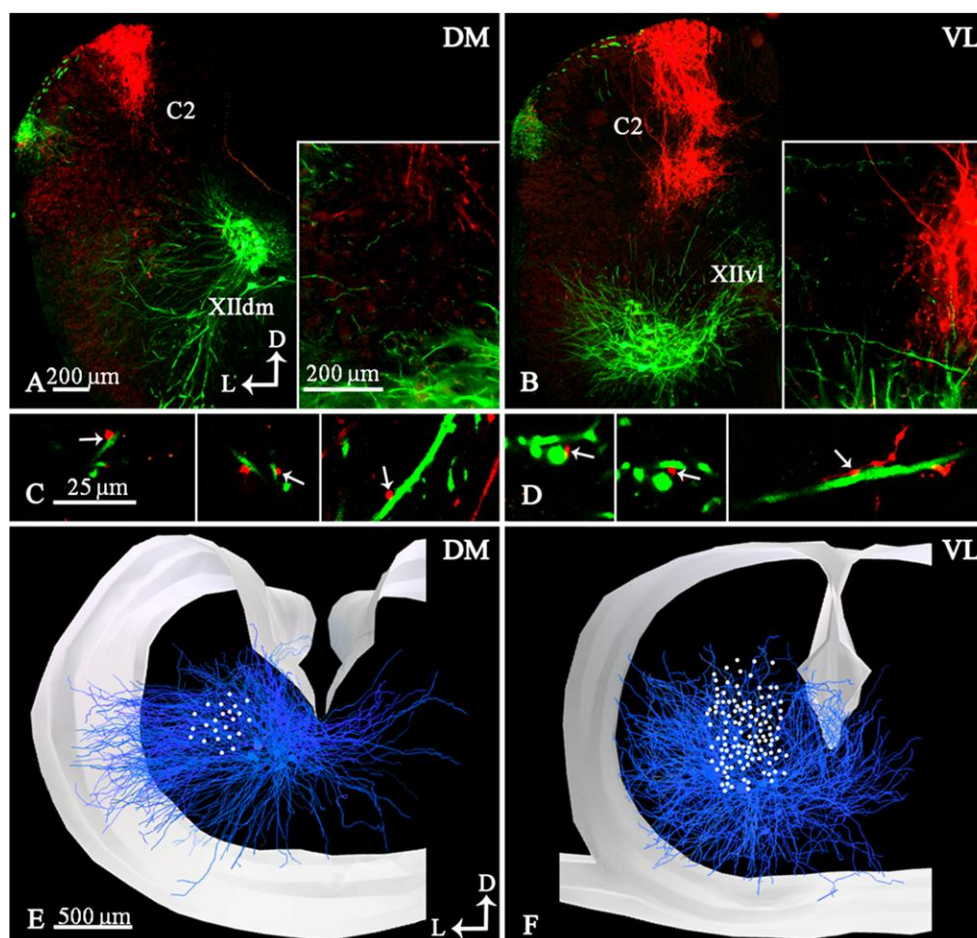
4.2.2.5. Hypoglossus afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai

A nervus hypoglossus primer afferensei a tspV rostjai közé ágyazódva futnak felfelé az agytörzs dorsolaterális részében, ahol egy kisebb háromszög alakú köteget alkotnak (**28.A,B ábra**), kollaterálisai pedig ventrolateralisan indulnak ebből a területből a motoneuronok irányába. A DM almag esetében csak néhány axon látható a kötegtől távolabbi területeken (**28.A ábra**), míg a VL almagban egy kiterjedtebb terminális felhő található átfedésben a motoneuronok dendritfáival (**28.B ábra**). A talált kapcsolatok (**4. táblázat, 32. ábra**) korrelálnak az axonok sűrűségével, a DM almagban állatonként átlagosan 41 ± 10 kapcsolatot azonosítottunk a dorsolaterális dendritfákon (**34.A ábra**), míg a VL almagban (301 ± 46) szignifikánsan ($P \leq 0.01$) több volt a kapcsolatok száma (**4. táblázat**), amelyek dorsolaterális és dorsomedialis dendrit szegmenseken helyezkedtek el (**28.F; 34.B ábra**).



28. ábra: A hypoglossus dorsomedialis (DM) és ventrolateralis (VL) almagjainak szintjében készült fluoreszcens mikroszkópos felvételek, valamint a hypoglossus kapcsolatok konfokális felvételei és Neurolucida rekonstrukciói. Az A és B ábrák szemléltetik a zölden jelölt motoneuronokat, és a pirosan jelölődött hypoglossus axonokat. A nagyított képek az axonok és dendritek közötti átfedő területeket illusztrálják. A C és D konfokális felvételeken láthatóak a közvetlen kapcsolatok (nyilak) a hypoglossus motoneuronok és a hypoglossus axonok között. Az E és F ábrákon az agytörzs Neurolucida rekonstrukciójában (szürke terület) mutatjuk a hypoglossus kapcsolatokat, (fehér pontok) az almagok motoneuronjainak dendritfáin (kék neuronok). DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag; XII_{dm}: dorsomedialis hypoglossus motoneuron; XII_{vl}: ventrolateralis hypoglossus motoneuron; XII: hypoglossus afferensek; L: lateralis; D: dorsalis.

4.2.2.6. Második cervicalis gerincvelői afferensek és hypoglossus motoneuronok kapcsolatai



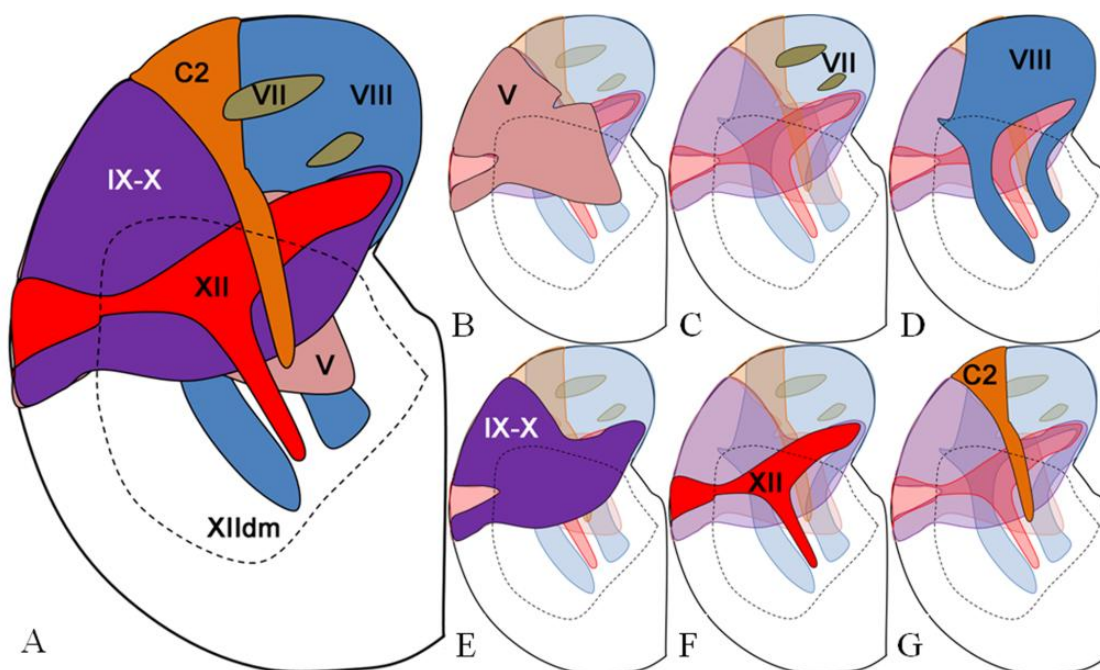
29. ábra: A hypoglossus dorsomedialis (DM) és ventrolateralis (VL) almagjainak szintjében készült fluoreszcens mikroszkópos felvételek, valamint a spinalis kapcsolatok konfokális felvételei és NeuroLucida rekonstrukciói. Az A és B ábrák szemléltetik a zölden jelölt motoneuronokat, és a pirosan jelölődött spinalis axonokat. A nagyított képek az axonok és dendritek közötti átfedő területeket illusztrálják. A C és D konfokális felvételeken láthatóak a közvetlen kapcsolatok (nyilak) a hypoglossus motoneuronok és a spinalis axonok között. Az E és F ábrákon az agytörzs NeuroLucida rekonstrukciójában (szürke terület) mutatjuk a spinalis kapcsolatokat, (fehér pontok) az almagok motoneuronjainak dendritfáin (kék neuronok). DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag; XIIIdm: dorsomedialis hypoglossus motoneuron; XIIvl: ventrolateralis hypoglossus motoneuron; C2: második cervicalis gerincvelői ideg afferensek; L: laterális; D: dorsális.

A fej és a mellső végtagok gyors koordinált mozgásainak létrejöttéhez a cervicalis gerincvelői idegek szenzoros rostjainak közvetlenül kell kapcsolódnia a hypoglossus motoneuronokhoz, tehát ebben a jelölt afferens esetében is meg kellene találnunk a keresett

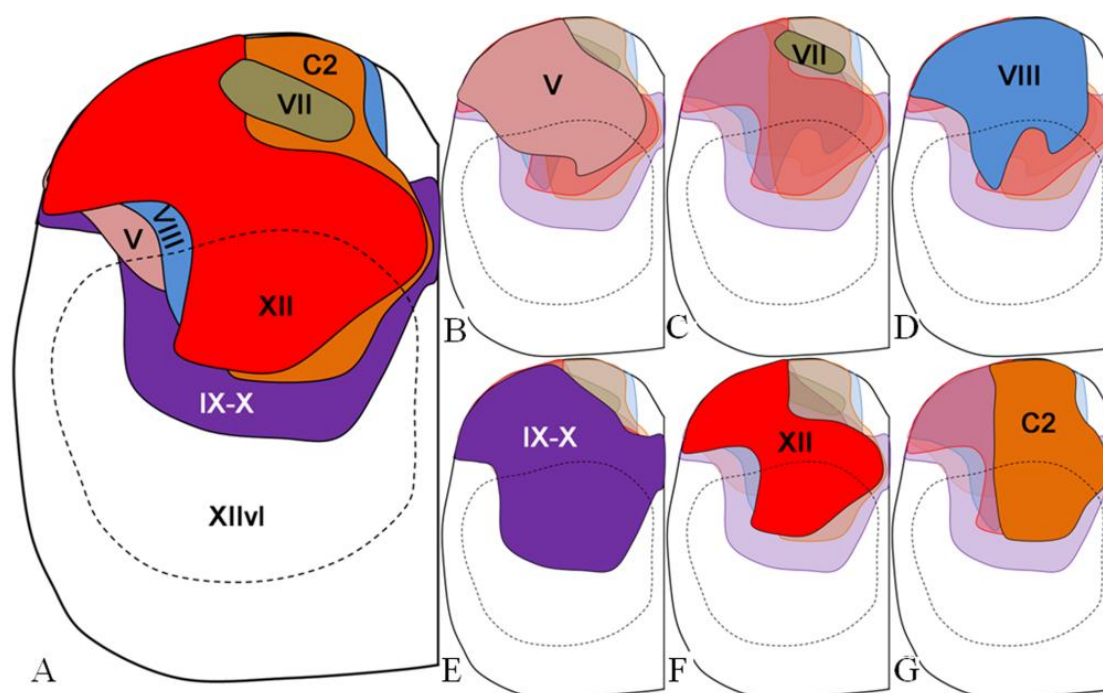
szoros összefekvéseket. A gerincvelőből felszálló axonok a tspV és a vestibularis kötegek között futnak az agytörzs dorsalis részén, kollaterálisai a DM almagban alig észrevehetőek (29.A,C ábra), míg a VL almagban jelentős területeket tesznek ki a nyúltvelő középső részén (29.B,D ábra). A gerincvelői idegek terminálisai elhanyagolható számú kapcsolatot létesítenek a DM motoneuronokkal (22 ± 7), míg a VL motoneuronok területén a dendritek között szignifikánsan nagyobb (118 ± 15) számban ($P \leq 0.01$) találtunk kapcsolatokat (4. táblázat; 32. ábra).

4.2.2.7. A hypoglossus motoneuronokon végződő primer afferens terminálisok kvantitatív elemzése

Az afferensek fluorescens jelölésével a fel- illetve leszálló pályák mellett az axonok kollaterálisai által elfoglalt agytörzsi területek is kirajzolódtak. A mikroszkópos felvételek alapján készült sémás ábrákon látható, hogy a vizsgált afferensek a facialis kivételével átfednek mind a DM (30. ábra) mind a VL (31. ábra) motoneuronok dendritfa kiterjedésével.



30. ábra: A különböző primer afferensek kiterjedése a dorsomedialis hypoglossus motoneuronok szintjében. Az ábrák szemléltetik a különböző afferensek és kollaterálisaik által az agytörzs keresztmetszetében elfoglalt területeket. A szaggatott vonal a dorsomedialis hypoglossus motoneuronok (XIIIdm) dendritfa kiterjedését ábrázolja.



31. ábra: A különböző primer afferensek kiterjedése a ventrolateralis hypoglossus motoneuronok szintjében. Az ábrák szemléltetik a különböző afferensek és kollaterálisaik által az agytörzs keresztmetszetében elfoglalt területeket. A szaggatott vonal a ventrolateralis hypoglossus motoneuronok (XIIvl) dendritfa kiterjedését ábrázolja.

A hypoglossus mag vizsgálatánál a különböző bemenetek felől érkező kapcsolatokat kvantitatív módszerekkel is vizsgáltuk. A ventrolateralis és a dorsomedialis magcsoportokban elemeztük a kapcsolatok számán túl, azok szómától mért távolságát és az agytörzsön belüli helyzetét. Kísérleteinket jelölt afferensenként három-három mintával ismételtük meg, a kapott eredményeket átlagoltuk, az átlagok esetén a szignifikancia szintet Mann-Whitney próbával és Kruskal-Wallis varianciaanalízis segítségével számoltuk ki, míg a talált kapcsolatok eloszlásának összehasonlítására Wilcoxon tesztet használtuk. Vizsgálatainkban 15 állatból származó (jelölt afferensenként 3-3), 14250 optikai szeletben 3034 kapcsolatot találtunk, amelyeknek harmada a DM, és kétharmada a VL almagban lévő motoneuronokkal létesített kapcsolatot.

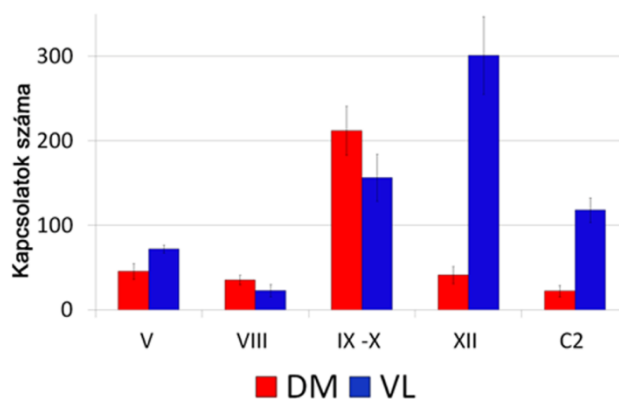
4.2.3. A kontaktusok eloszlása a hypoglossus mag almagjaiban

4.2.3.1. A DM almag kapcsolatainak eloszlása

A DM almag motoneuronjaival létesített kapcsolatok több mint fele a glossopharyngeus-vagus idegtől származott, míg a többi ideg egyenként a terminálisoknak körülbelül 10-10%-át adta (4. táblázat; 32; 35.A ábra).

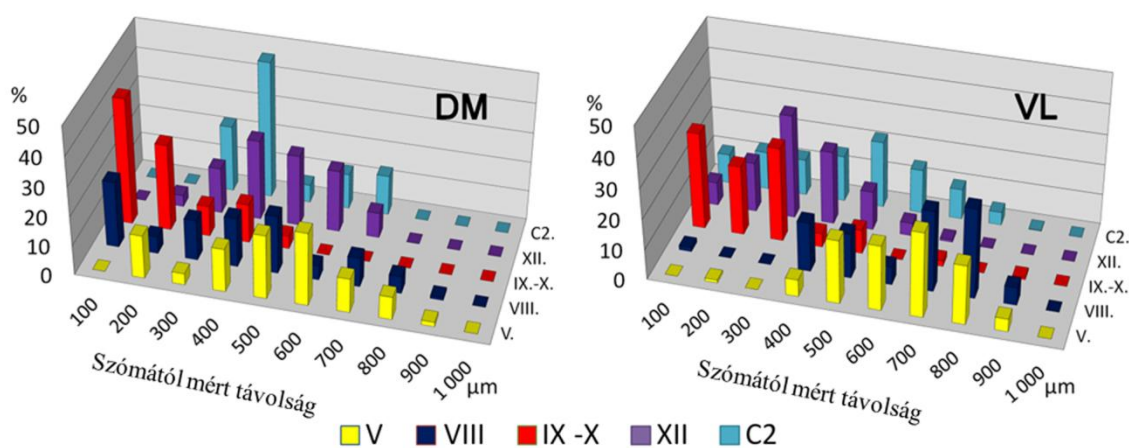
		Kapcsolatok száma		Szómától mért távolság (µm)	
		DM almag	VL almag	DM almag	VL almag
V	Béka 1	56	81	421	529
	Béka 2	27	67	518	582
	Béka 3	54	68	445	604
	Átlag ± SEM	46±9	72±5	462±29	572±22
VIII	Béka 1	38	13	111	488
	Béka 2	24	18	444	550
	Béka 3	40	37	465	602
	Átlag ± SEM	35±6	23±7	340±115	547±33
IX-X	Béka 1	151	110	49	28
	Béka 2	245	154	130	136
	Béka 3	237	204	224	281
	Átlag ± SEM	212±29	156±28	134±51	148±73
XII	Béka 1	28	308	358	166
	Béka 2	61	376	422	257
	Béka 3	35	218	404	409
	Átlag ± SEM	41±10	301±46	395±19	277±71
C2	Béka 1	27	143	281	252
	Béka 2	31	113	447	419
	Béka 3	9	95	444	439
	Átlag ± SEM	22±7	118±15	391±55	370±59

4. táblázat: A primer afferens kapcsolatok eloszlása a dorsomedialis (DM) és ventrolateralis (VL) hypoglossus motoneuronokon.



32. ábra: A primer afferensek számának eloszlása a dorsomedialis (DM) és ventrolateralis (VL) hypoglossus motoneuronokon.

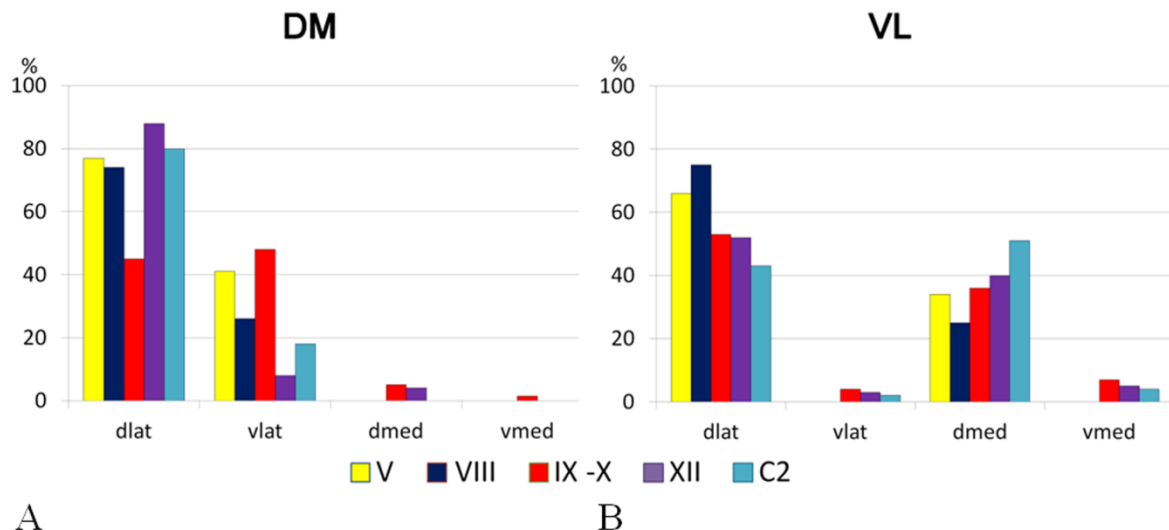
A IX.-X. agyideg terminálisai nem csak számban domináltak ebben az almagban, hanem közelebb is helyezkedtek el a sejttesthez, mint a többi terminális. A kapcsolatok 83%-a a szómától kevesebb mint 300 μm -en belül volt megtalálható (33. ábra). A VIII., XII., és C2 idegek terminálisai a dendritfák középső szakaszain, míg a V. kapcsolatok a sejttesttől távolabb helyezkedtek el (4. táblázat; 32; 33. ábra). Az azonosított kapcsolatok ebben az almagban a dorsolateralis és ventrolateralis dendritfákat vették célba. A IX.-X. terminálisok egyenlően oszlottak meg ebben a két kvadránsban, míg a többi idegnél a dorsolateralis kvadránsban lévő kapcsolatok voltak túlsúlyban, körülbelül 70%-ban (34. ábra).



A

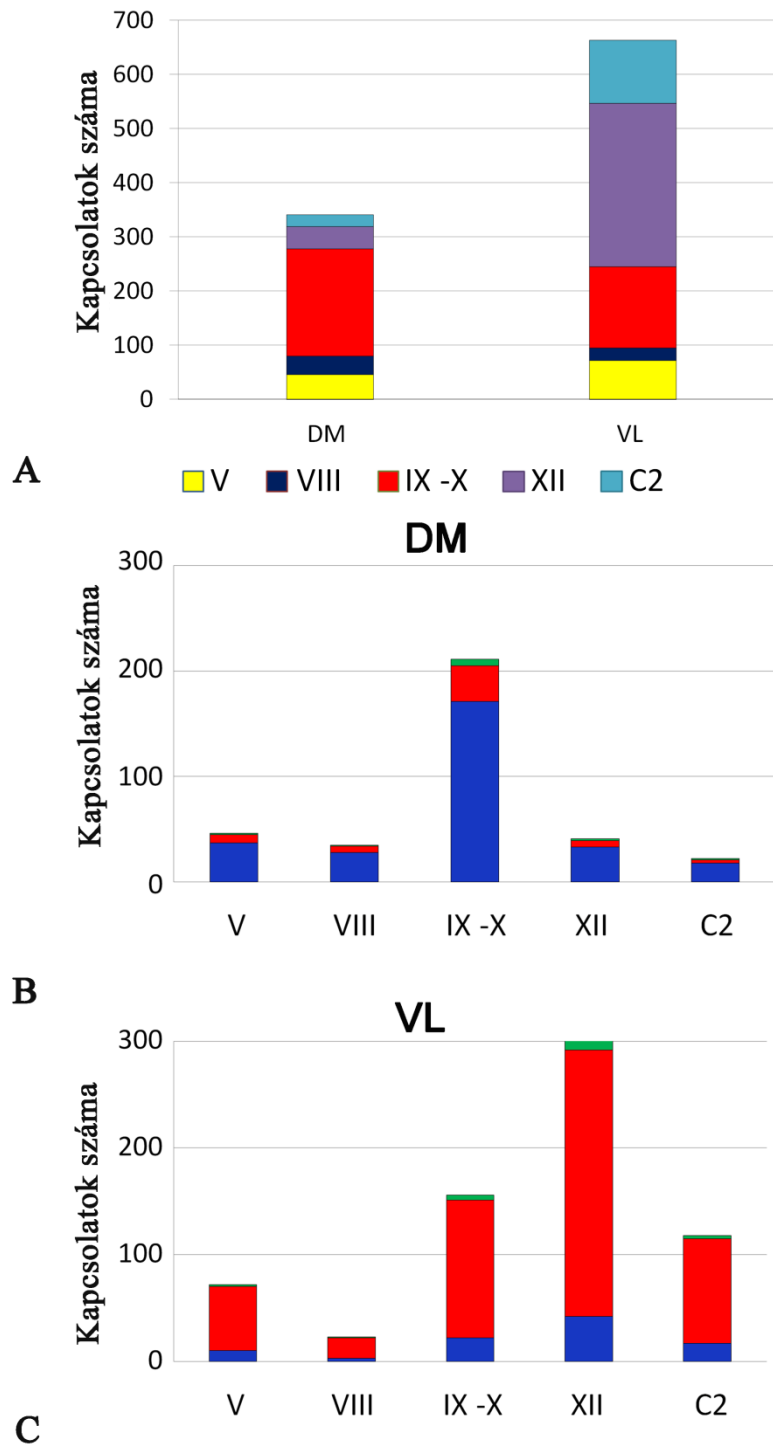
B

33. ábra: A primer afferens kapcsolatok eloszlása hypoglossus motoneuronok dendritfáin. Sejttesttől mérve 100 μm sugarú sávokban (vízszintes tengely) meghatároztuk a kapcsolatok számát, ennek százalékos megoszlása látható a függőleges tengelyen. DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag.



34. ábra: A primer afferens kapcsolatok eloszlása a DM és VL motoneuronok különböző irányultságú dendritfáin. A szóma körüli teret négy kvadránsra osztva meghatároztuk az adott kvadránsban talált kapcsolatok számát, amelynek százalékos értékét ábrázoltuk a függőleges tengelyen. DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag; dlat: dorsolateralis kvadráns; vlat: ventrolateralis kvadráns; dmed: dorsomedialis kvadráns; vmed: ventromedialis kvadráns.

A kapcsolatok DM és VL almagokban való eloszlása még nem elégséges a funkcionális hatásuk megállapításához, ugyanis az almagokban különböző funkciót végző motoneuronok találhatók. Ezért az almagokban talált kapcsolatok adatait összevetettük az almagokban található funkcionálisan különböző motoneuronok **3. táblázatban** leírt százalékos eloszlásával. Így kiszámíthattuk, hogy a talált kapcsolatok hogyan oszthatók el a különböző funkciójú motoneuronok között, az almagokon belül (**35.B ábra**). A DM almagban az axon terminálisok jelentős többsége a nyelv kiöltését végző genioglossus és geniohyoideus izmok motoneuronjaihoz kapcsolódott és a dendrit szegmenseken talált kontaktusok felét a glossopharyngeus-vagus axonjai képezték (**35. ábra**). Ezeknek a kapcsolatoknak a száma és számához közeli pozíciója azt feltételezi, hogy az ideg stimulációja jelentős hatással lehet a hypoglossus motoneuronok működésére. A többi vizsgált ideg kevesebb és a sejttesttől távolabb elhelyezkedő (**33.A ábra**) kapcsolatot képzett a dorsomedialis almag motoneuronjaival, körülbelül azonos eloszlásban a protraktor, retraktor és belső izmokat ellátó sejteken (**35.B ábra**).



35. ábra: A primer afferens kapcsolatok számának eloszlása a hypoglossus mag almagjaiban. Az A ábra bemutatja a különböző primer afferens kapcsolatok számának megoszlását a két almag között, a B és C ábrák pedig illusztrálják az almagokban lévő protraktor, retraktor és belső motoneuronokonk kapcsolatainak számát. DM: dorsomedialis almag; VL: ventrolateralis almag.

4.2.3.2. A VL almag kapcsolatainak eloszlása

A VL motoneuronokon végződő afferensek összesen 670 kapcsolatot képeztek (**4. táblázat**), melynek fele a nervus hypoglossus terminálisaihoz tartozott. A szoros összefekvések negyede a glossopharyngeus-vagus idegtől származott, míg a többi terminális megoszlott a V., VIII. és C2 idegek között. Ezek közül a VIII. agyideg szignifikánsan kevesebb (3%) kapcsolatot létesített a VL motoneuronokkal, mint a többi ideg (**35.A ábra**). A IX.-X. idegek terminálisai ebben az almagban is szignifikánsan közelebb ($P \leq 0.05$) voltak a sejttestekhez, mint a más forrásokból származó terminálisok. A XII. és C2 végződések a dendritfa közepén voltak, míg a V. és VIII. terminálisokat a distalis fákon detektáltuk (**4. táblázat; 32; 33. ábra**). A kapcsolatok jelentős többségét a dorsalis kvadránsokban mutattuk ki, a ventrolateralis negyedben pedig csak a végződések 5%-a volt megtalálható (**34. ábra**), habár ebben a kvadránsban helyezkedtek el a dendritfák 20%-a.

A VL almagban az általunk azonosított kapcsolatok több mint 80%-a XII., IX.-X. és C2 idegektől származott és a nyelv visszahúzásáért felelős retraktor izmok motoneuronjain végződött. A protraktor motoneuronok csupán a kapcsolatok 14%-át kapták ebben az almagban, míg ez a szám a belső nyelvizmok neuronjai estében 4%.

Eredményeink azt mutatták, hogy a VL almagban lévő motoneuronok kapták a talált kapcsolatok kétharmadát (**35. ábra**), amelyek a hypoglossus (45%), glossopharyngeus-vagus (23%), és a második cervicalis gerincvelői idegektől (18%) származtak. Ezek a végződések főleg a retraktor motoneuronok dorsalis dendritfa szegmenseivel képeztek szoros összefekvéseket. A XII. és a IX.-X. idegek esetében a sejttesthez közeli volt a kapcsolat, ezáltal a motoneuronok elektromos tulajdonságai könnyebben befolyásolhatóak. A C2 terminálisok pozíciója a dendritfa középső részén gyengébb hatást feltételez a neuronok működésére, míg a V. és VIII. terminálisok kis száma és szómától távoli pozíciója valószínűsíthetően csak gyenge hatással van a motoneuronok működésére.

5. MEGBESZÉLÉS

Munkánk során neuronális jelölési technikák alkalmazásával a béka zsákmányszerző magatartását befolyásoló szenzori-motoros rendszerek útvonalait tanulmányoztuk. Vizsgáltuk a szájüreg receptorai és a szájzáró izmok proprioceptorai felől érkező primer szenzoros rostok nucleus ambiguus motoneuronjaira kifejtett hatását és a nyelvizmok funkcionálisan különböző motoneuronjaival közvetlen kapcsolatban álló primer afferens terminálisok eloszlását.

5.1. Az ambiguus mag motoneuronjainak kapcsolatai

Konfokális mikroszkóp használatával közvetlen kapcsolatokat igazoltunk a nervus trigeminus primer afferensei és a nucleus ambiguus motoneuronjai között. Ezek a kapcsolatok szolgáltatathatják a szenzori-motoros kölcsönhatások neuro-morfológiai alapját a zsákmányszerzés nyelés fázisában. A béka zsákmányszerző viselkedésének első lépését a zsákmány látványa váltja ki (Ewert 1984). Az állat felismeri a zsákmányt, ami a motoneuronok aktivációján keresztül egy rendkívül gyors motoros választ vált ki. Feltételezésünk szerint különböző szenzoros információk befolyásolhatják ezt a reakció utat annak érdekében, hogy a motoros választ optimalizálják és a zsákmány elejtésének hatásfokát növeljék (Anderson és Nishikawa 1993; Anderson 2001; Harwood és Anderson 2000; Nishikawa és Gans 1992; Weerasuriya 1989). Az egyik ilyen ismert tényező a nervus trigeminus által közvetített szenzoros információ, ami fontos szerepet játszik az állkapocs mozgásában, a nyelv kiöltésében és visszahúzásában (Morimoto és mtsai. 1978; Morimoto és mtsai. 1989; Tolu és mtsai. 1994; Ishiwata és mtsai. 2000; Luo és mtsai. 2001; Mandal és Anderson 2009; Wolff és mtsai. 2004; Nishikawa 2000).

A szájüregi nyálkahártya mechano-, termo- és kemoreceptorait a zsákmányállat szájüregi jelenléte aktiválja, míg az izomorsók proprioceptorai aktívak a táplálék elejtésének legtöbb fázisában (Nishikawa és Gans 1992; Corbacho és mtsai. 2005). Morfológiai vizsgálatok kimutatták, hogy a trigeminalis szenzoros bemenetek jelentős többsége az izomorsókból származik, így befolyásolják az állkapocs és a nyelv koordinált mozgásait (Mandal és Anderson 2010; Matesz és Székely 1978).

Az ambiguus mag funkcionálisan különböző motoneuronjai és a trigeminus afferensek közötti kapcsolatok kvantitatív analízise azt mutatta, hogy a szomatomotoneuronok közül a

nyelésben kulcsfontosságú garatizmokat ellátó pharyngo-motoneuronok jelentősen több terminálist fogadtak, mint a gégeizmokat ellátó laryngo-motoneuronok. A gégeizmok közvetlenül nem játszanak szerepet a táplálék továbbításában, mégis fontos szerepük van a légrés méretének szabályozásában a nyelés folyamán (Gaupp 1904; Kogo és mtsai. 1994). Habár a békák és emlős fajok között lényeges különbségek vannak a táplálkozási folyamatokban, eredményeink mégis összefüggésbe hozhatóak emlős kísérletekben kapott adatokkal. A mi eredményeinkhez hasonlóan, patkány agytörzsében is azonosítottak közvetlen kapcsolatokat a trigeminalis proprioceptorokból származó rostok és a garat valamint gége motoneuronjai közötti (Zhang és mtsai. 2012). Az anatómiai adatok mellett fiziológiai vizsgálatokban is igazolták több emlős fajban a trigeminalis rendszer hatását a légutak védelmére a nyelés során (Lang 2009; Zhang és mtsai. 2005).

A legtöbb közvetlen kontaktust a nucleus ambiguus visceromotoroneuronjain találtuk. Ezeket a kapcsolatokat kételtűekben eddig még nem azonosították, patkányban viszont morfológiailag már bizonyították az állkapocs izmok proprioceptorjaiból származó információ hatását a belső szervek működésére (Zhang és mtsai. 2005). A nervus trigeminus ingerlése több állatfajban is a szívritmus lassulását (trigemino-cardiacus reflex), a vérnyomás csökkenését (trigemino-depressor válasz), valamint a légzés kimaradását (búvárreflex) eredményezte (Kumada és mtsai. 1975, 1977; Schaller 2004; Gorini és mtsai. 2009; Gorini és mtsai. 2010). Ezek a reflexek morfológiai és elektrofiziológiai vizsgálatokkal igazolhatóan a formatio reticularis neuronjain keresztül poliszinaptikus útvonalakon befolyásolják a visceromotoroneuronokat (Kumada és mtsai. 1975, 1977; Schaller 2004; Panneton és mtsai. 1994).

Az értekezésben általunk azonosított közvetlen kapcsolatok monoszinaptikus útvonalakat feltételeznek, így a direkt és indirekt trigeminalis útvonalak kombinációja szolgáltathatja a motoneuronok időben összehangolt aktivációját. A motoros válasz megváltozását okozhatja a trigeminalis bemenet erősségének változása, ami összefüggésben áll a nyelv és az állkapocs izmok feszülésének folyamatos változásával (Monroy és Nishikawa 2011). A nucleus ambiguus motoneuronok és a trigeminus afferensek közötti szoros összefekvések azt feltételezik, hogy a trigeminalis szenzoros bemenetek jelentősen befolyásolhatják a nyelés fázisában aktív garatizmok működését valamint az állat számos vegetatív funkcióját annak érdekében, hogy a szervezet felkészüljön a táplálék elfogyasztására.

5.2. A hypoglossus mag motoneuronjainak kapcsolatai

Konfokális mikroszkóppal végzett vizsgálataink során közvetlen kapcsolatokat igazoltunk a trigeminus, vestibularis, glossopharyngeus-vagus, hypoglossus és a második cervicalis gerincvelői ideg afferensei és a hypoglossus motoneuronjai között. A nervus facialis estében nem találtunk kapcsolatokat a kérdéses területen, valószínűsíthetően ingerülete poliszinaptikus útvonalakon keresztül érvényesül. Feltételezzük, hogy a közvetlen kapcsolatok szolgáltatják az egyik lehetséges morfológiai hátterét a zsákmányszerzési viselkedésben bekövetkező mozgássorozat koordinálásának.

5.2.1. Afferens terminálisok kapcsolatainak eloszlása a hypoglossus mag almagjaiban

A vizsgálatainkban talált szoros összefekvések kétharmadát a hypoglossus motoros mag **ventrolateralis (VL)** almagjában detektáltuk, ezek több mint 80%-a a retraktor motoneuronok dendritfáin végződtek, míg a további 20% nagyobb részét a protraktor neuronok, kisebb hányadát pedig a belső nyelvizmok kapcsolatai adták. A funkcionálisan különböző motoneuronok dendritfáinak orientációja ebben az almagban nem egységes. Az almag fő motoneuron típusa, a retraktor neuronok, amelyek dendritfái medialis és laterális kiterjedést is mutatnak, habár a dendrit szegmensek hossza alapján a medialis irányultságú fák vannak túlsúlyban. A talált kapcsolatok főleg a neuronok dorsolateralis dendrit szegmenseivel alkottak közvetlen kapcsolatokat.

Vizsgálataink azt mutatják, hogy a VL almag legjelentősebb szenzoros befolyását a nervus hypoglossus afferensei közvetítik. A végzódések körülbelül felét ezek az afferensek szolgáltatják, ami szignifikánsan nagyobb, mint a többi forrásból származó kapcsolatok száma. A mennyiségi túlsúly mellett a talált kapcsolatok sejtesthez közeli pozíciója is jelzi, hogy lényeges hatással lehetnek a motoneuronok működésére. Az almagban elhelyezkedő motoneuron típusok számát, dendritfaik hosszát és elhelyezkedését figyelembe véve megállapítható, hogy a hypoglossus terminálisok főleg a retraktor motoneuronokkal vannak kapcsolatban, melyek a musculus sternohyoideus és omohyoideus izmokat kontrollálják. Ezek az izmok a nyelv visszahúzása és a táplálék szájüregbe juttatása mellett a belégzésben is fontos szerepet játszanak (Gaupp 1904).

Habár a IX.-X. idegek felől érkező rostok terminálisai csak a végződés körülbelül 20%-át teszik ki, a szómához nagyon közeli pozíciójuk miatt a második leghatékonyabb monoszinaptikus hatást fejthetik ki a motoneuronokra. A többi forrásból származó szoros összefekvéseket a C2, V. és VIII. idegek rostjai hozzák létre. A trigeminalis és vestibularis szoros összefekvések viszonylag kevés kapcsolatot képeztek a dendritfák distalis szegmentjeivel, ezért valószínűleg a VL motoneuronok működése szempontjából kevésbé jelentős hatást közvetítenek.

A kapcsolatok harmadát a hypoglossus motoros magjának **dorsomedialis (DM)** almagjában találtuk meg, ahol jelentős többségük a musculus genioglossust és geniohyoideust beidegző protractor motoneuronokkal alkotott kapcsolatokat. Lényegesen kevesebb kapcsolatot alkottak a terminálisok a retraktor hyoglossus izom motoneuronjaival, míg a belső nyelvizmok sejtjein csak néhány terminális volt megtalálható. A DM almagban a motoneuronok dendritfa kiterjedése lateralis dominanciát mutat és a vizsgált idegek kapcsolatait is ezeken a dendrit szegmenseken találtuk meg.

Ebben az almagban a vizsgált kapcsolatok körülbelül 60%-a a glossopharyngeus-vagus idegek szenzoros rostjai felől érkezett. A kapcsolatok nagy száma és szóma közeli pozíciója alapján ezek erős hatást gyakorolhatnak a nyelvizmok működésére. Jelentősebb számban találtunk kapcsolatokat a nervus trigeminus és nervus hypoglossus idegek felől is, amelyek viszont a dendritfák distalis részén helyezkedtek el, ezért a IX.-X. agyidegekhez képest kisebb hatást képesek kiváltani a hypoglossus motoneuronokon. A DM almagban talált kisszámú vestibularis és spinalis közvetlen kapcsolat, és azok sejttestől mért távoli pozíciója valószínűsíthetően elhanyagolható szereppel bír a nyelvizmok motoneuronjainak működésére.

5.2.2. A hypoglossus motoneuronokon végződő afferens terminálisok szerepe a béka zsákmányszerző viselkedésében

A **glossopharyngeus-vagus** agyidegek tractus solitariusban futó szenzoros rostjai főleg vegetatív rostok, amelyek a szájüregi nyálkahártyából, a légzőrendszerből, a szívből és a tüdőből közvetítik az ingerületet. Az afferens rostok kisebb hányada a tspV-ben futva, a szájüreg és a nyelv nyálkahártya mechanoreceptorainak információját valamint a garat és gége izmok proprioceptív ingerületét szállítják (Matesz és Szekely 1978; Stuesse és Fish 1984; Matsushima és mtsai. 1987). A IX. agyideg feltehetőleg kettős szerepet játszik a zsákmányszerző vagy elkerülő viselkedésben. Amikor a zsákmányállat kapcsolatba kerül a

béka nyelvének felszínével és a táplálék fogyaszthatónak bizonyul, a mechanoreceptorok szenzoros ingere a nyelv visszahúzását és az élelem lenyelését indukálja monoszínaptikus útvonalon (Hanamori és Ishiko 1981). Amennyiben a táplálék nem fogyasztható, a nyelv ismét kinyúlik és eltávolítja a szájüregből a nem kívánt elemet (Kumai 1981; Matsushima és mtsai. 1986; Nakachi és Ishiko 1986; Ewert 1984). A IX. ideg elektromos stimulációja a retraktor izmok motoneuronjainak monoszínaptikus és poliszínaptikus aktivációját okozta, míg a protraktor neuronok csak poliszínaptikusan aktiválódtak (Matsushima és mtsai. 1986). Az irodalomban nincsenek adatok arra, hogy a protraktor és belső nyelvizmok motoneuronjai aktiválhatóak-e közvetlenül a IX. ideg afferensein keresztül, de eredményeink azt mutatták, hogy a IX. afferensek nagyszámú közvetlen kapcsolatot létesítenek a protraktor és a belső nyelvizmok motoneuronjaival. Habár köztudott, hogy a nyelv nagy szerepet játszik a légzési folyamatok kivitelezésében, kevés adat áll rendelkezésünkre, hogy a légzés alatt a IX.-X. idegeknek milyen szerepük lehet a nyelv mozgásaira. Biomechanikai vizsgálatok kimutatták, hogy emlősökben a nyelv pozíciójának jelentős szerepe van a légutak nyitva tartásában. Így például ismert, hogy a genioglossus izom a belégzés során megakadályozza a nyelv hátsó garatfalhoz való tapadását, így segít nyitva tartani a légutat (Fregosi és Fuller 1997). Emberben vázizmokból történő elvezetésekben azt találták, hogy a légzés során mind a genioglossus, mind a hyoglossus izmok aktívak, amely azt igazolja, hogy a folyamat közben a protraktor és retraktor izmok együttes működése szükséges a felső légutak nyitva tartásához (Mateika és mtsai. 1999). Kétélűekben szimulált tüdőlégzés esetén aktivációt mutattak ki magában a XII. agyidegben és az ideg STE és GGL izomágaiban is, ami ugyanezt a feltevést támasztja alá (Kogo és mtsai. 1994; Nishikawa és Gans 1996). Korábban azt feltételezték, hogy ezek a funkciók poliszínaptikus útvonalakon szabályozódnak, kísérleteinkben viszont nagyszámú közvetlen kapcsolatra derítettünk fényt a IX.-X. és a XII. idegek között. Ezek a kontaktusok valószínűsítik, hogy a légrés nyitva tartásának szabályozásában közvetlen szerepe lehet a légzőrendszer receptorai felől érkező visceroszenzoros visszacsatolásnak, illetve a garat és gége izmok proprioceptoraiból származó információnak.

A nyelv mechanoreceptoraiból érkező információ a **hypoglossus** afferenseken keresztül különböző visszacsatolási és előrecsatolási útvonalakon szabályozza az állkapocs és a nyelv koordinált mozgásait (Nishikawa és mtsai. 1992; Anderson és Nishikawa 1993; Harwood és Anderson 2000; Nishikawa 2000; Corbacho és mtsai. 2005; Mandal és Anderson 2009). Korábban feltérképeztek poliszínaptikus útvonalakat a hypoglossus afferensei és motoneuronok között, de sem a motoneuronok magon belüli helyzetét, sem ezek funkcióját nem azonosították (Anderson 2001; Mandal és Anderson 2009). Kísérleteink azt sugallják,

hogy a hypoglossus szenzoros rostok nagymértékben képesek aktiválni a retraktor motoneuronokat, míg a protrakcióra lényegesen kisebb hatással vannak. Emellett feltételezhetjük, hogy a hypoglossus afferensek a légrés nyitvatartásában fontos GGL és GEN izmok befolyásolásával a légzés szabályozására is hatnak (Gaupp 1904; Sauerland és Mitchell 1970).

A **nervus trigeminus** fontos szerepet tölt be zsákmányszerzés során az állkapocs és a nyelvizmok működésének irányításában (Ishiwata és mtsai. 2000; Luo és mtsai. 2001; Mandal és Anderson 2009; Morimoto és mtsai. 1989; Morimoto és mtsai. 1978; Nishikawa 2000; Tolu és mtsai. 1994; Wolff és mtsai. 2004). A szájjáró izmok proprioceptorai aktívak mind a protrakció mind a retrakció alatt, míg a szájüregi nyálkahártya mechanoreceptorait az elejtett zsákmány ingerli a nyelv visszahúzása közben (Nishikawa és Gans 1992; Corbacho és mtsai. 2005). Korábbi vizsgálatokban poliszinaptikus útvonalakat már kimutattak a trigeminalis és a hypoglossus rendszerek között (Mandal és Anderson 2010; Anderson 2001), a mi eredményeink alapján feltételezhetjük az állkapocs pozíciójának monoszinaptikus trigemino-hypoglossus útvonalakon létrejövő szenzoros visszacsatolását is.

Korábban fiziológiai vizsgálatokkal békában már igazolták a hypoglossus motoneuronok poliszinaptikus aktivációját a **vestibularis** ideg stimulálásával (Fanardjian és Sarkisian 1988). Különböző emlősfajokban, így emberben is kimutatták, hogy a testhelyzet és a légzés fenntartása érdekében a vestibularis rostok poliszinaptikus útvonalakon képesek befolyásolni a protraktor motoneuronok működését (Sauerland és Mitchell 1970; Elmund és mtsai. 1983; Mameli és Tolu 1986; Mameli és mtsai. 1988; Mameli és mtsai. 1994; Rossiter és Yates 1996). Saját vizsgálatainkban azonosított közvetlen vestibularis-hypoglossus kapcsolatok magyarázhatják a testtartás megváltozására adott rendkívül gyors választ a zsákmányszerzési mozgássorozat során.

A **második cervicalis gerincvelői ideg** afferensei a mellső végtag izmainak proprioceptoraiból közvetítik az információt (Montuelle és mtsai. 2009). A zsákmány elejtése előtt a fej pontos helyzetének beállítása nagyban függ a mellső végtagok feszülési állapotától, valamint a végtagok stabil beállítása elengedhetetlen a testhelyzet megtartásához az egész folyamat során (Kraklau 1991). Habár a C2 terminálisok hypoglossus motoneuronokra kifejtett lehetséges kapcsolatait közvetlenül nem igazolták korábban, az agytörzsön belül talált nagyszámú C2 terminális alapján feltételezték mind poliszinaptikus mind monoszinaptikus útvonalakat. Ezeket a vizsgálatainkban azonosítottuk és eredményeink azt mutatták, hogy ezek a közvetlen kapcsolatok a zsákmányszerzés során a nyelv visszahúzásának fázisában játszhatnak szerepet (Antal és mtsai. 1980).

5.2.3. Az afferens terminálisok és a hypoglossus motoneuronok kapcsolatainak funkcionális értékelése

Munkánk során a hypoglossus motoros mag mindkét almagjának sejtjein azonosítottuk a V., VIII., IX.-X., XII. és C2. idegek felől érkező szenzoros rostok végződéseit. Mivel mindkét almagban megtalálható mind a három funkcionálisan különböző motoneuron típus, feltételezésünk szerint a primer afferens rostok befolyásolhatják a protraktor, a retraktor és a belső nyelvizmok együttes működését. Ezt támasztják alá elektromiográfiás vizsgálatok is, amelyekben az egyes nyelvizmok összehúzódása csúcsokat eredményezett a zsákmányszerzés adott fázisában, de az izmok valamilyen szintű aktivitását a teljes folyamat alatt regisztrálni tudták (Nishikawa és mtsai. 1991; Nishikawa 1999; Nishikawa 2000).

Habár az afferensek végződéseit megtaláltuk az almagok különböző működést végző motoneuronjain, az elvégzett kvantitatív analízis alapján, hogy az egyes afferensek felől érkező bemenetek erőssége jelentős különbségeket mutatott. Egyrészt eltért a különböző bemenetek felől érkező kapcsolatok száma; az összes szoros összefekvés kétharmadát a IX.-X. és a XII. agyidegek hozták létre a hypoglossus motoneuronokkal. Korábbi munkákban is leírták ezeknek az idegeknek a hatását a zsákmányszerzésre. A zsákmány elejtésének korai szakaszában a nervus glossopharyngeus által közvetített stimulusok jelentős szerepet játszanak annak eldöntésében, hogy a béka lenyelje-e a zsákmányát, vagy elutasítsa azt. Amennyiben a fogyasztható táplálék kontaktusba kerül a nyelv felszínével, a mechanoreceptorokból származó információ a XII afferenseken keresztül késés nélkül indukálja a nyelv visszahúzását a zsákmányállattal együtt. A IX.-X. idegek létesítik a DM almagban talált kapcsolatok többségét, és mivel ebben az almagban a protraktor motoneuronok jellemzőek, ezeknek az idegeknek valószínűsíthetően a nyelv kiöltésének szabályozásában van jelentős funkciójuk. A XII afferensek a VL almagban ugyanilyen hatásfokkal a nyelv visszahúzásában játszhatnak szerepet.

Mivel a kapcsolatok többségét a dendritfákon találtuk, a funkcionálisan különböző típusú neuronok számán kívül, azok dendritfa hosszúságainak egymáshoz viszonyított aránya is fontos lehet a különböző monoszinaptikus bemenetek tekintetében. Adataink alapján a protraktor, retraktor és belső nyelvizmok motoneuronjainak dendritfa kiterjedése lényegesen eltért a két almag között: a DM almagban a dendritfák 80%-a a protraktor neuronokhoz tartozott, míg a VL almagban ugyanilyen arányban a retraktor motoneuronokhoz. A belső

nyelvizmokat ellátó motoneuronok dendritfái viszont csekély arányban (3-4%) vannak jelen mindkét almagban.

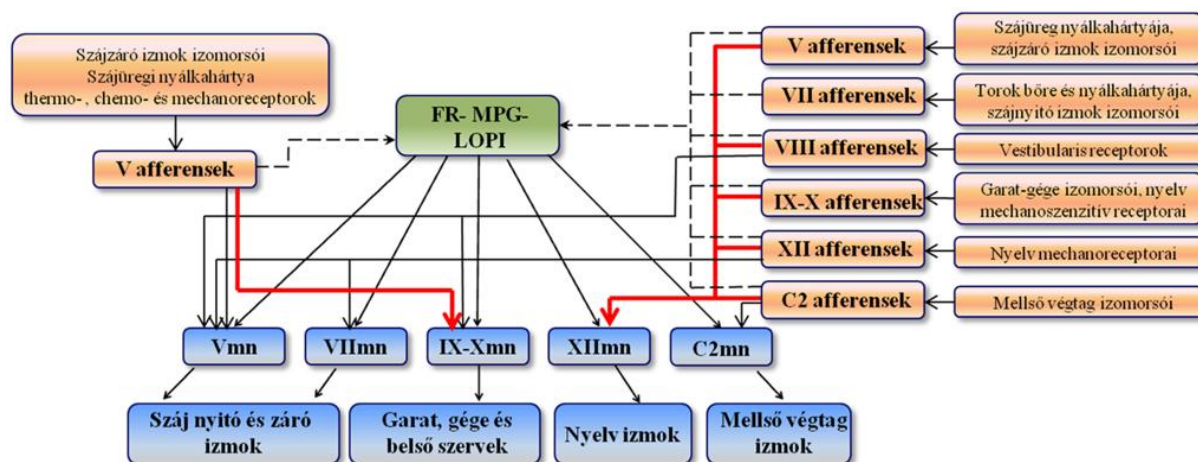
Jelentős különbségeket találtunk az azonosított kapcsolatok dendritfán belüli elhelyezkedését illetően a különböző afferensek felől érkező terminálisok eloszlása között. A IX.-X. idegek kapcsolatai voltak a szómához legközelebb, a XII. ideg terminálisai a proximalis dendriteken vagy a dendritfa középső részein voltak megtalálhatóak, míg a C2., V., VIII. terminálisok főleg a dendritfák középső területein, vagy a distalis dendrit szegmenseken foglaltak helyet. A VIII., IX.-X., XII. és C2 idegek esetében a szómától mért távolságok nem térnek el szignifikánsan a két almagban, míg a V. ideg esetében a kapcsolatok a DM almagban közelebb helyezkedtek el. Vizsgálatainkban a IX.-X. idegek esetében kis mennyiségben (6%) találtunk axo-szomatikus kapcsolatokat, a legtöbb afferens esetében viszont egyáltalán nem találtunk összefekvéseket a sejtesteken.

5.3. A béka közvetlen szenzori-motoros kapcsolatainak szerepe a zsákmányszerző magatartásban

A disszertáció alapjául szolgáló vizsgálatainkat korábbi munkák eredményeivel kiegészítve (Mandal és Anderson 2009; Deak és mtsai. 2009; Matesz és mtsai. 2008; Matesz és mtsai. 2014; Anderson 2001; Corbacho és mtsai. 2005; Harwood és Anderson 2000; Nishikawa 2000; Matesz 1994; Antal és mtsai. 1980) egy összesített folyamatábrán szeretnénk bemutatni (**36. ábra**) az általunk tanulmányozott különböző szenzoros bemenetek lehetséges hatásait a zsákmányszerző viselkedés során megjelenő különböző mozgási folyamatokra.

A predátor viselkedés különböző fázisaiban aktiválódó izmok motoros magjai részben indirekt befolyás alatt állnak az MPG neuronjain keresztül, illetve direkt módon is befolyásolhatóak a különböző primer afferensek által. A zsákmányszerzés poliszinaptikus útvonalán, az információ az agytörzsi központi motoros ritmus generátorból (MPG) az utolsórendű premotor interneuronokon (LOPI) keresztül jut el a hypoglossus motoneuronokig (Ewert 1984; Corbacho és mtsai. 2005; Nieuwenhuys 1976). A LOPI interneuronok nagy része az agytörzsi formatio reticularis medialis zónájában található (Racz és mtsai. 2008; Matesz és mtsai. 2014). Ez a terület pontosan megegyezik az általunk jelölt afferens terminálisok elhelyezkedésével. Morfológiai vizsgálatok hiányában nem állíthatjuk, de feltételezzük a kapcsolatokat a tanulmányozott afferensek és a LOPI neuronjai között ezekben

az átfedő régiókban. Ezek a poliszinaptikus útvonalak a monoszinaptikus kapcsolatokkal együtt, egy még precízebben szabályozott nyelvmozgást tesznek lehetővé.



36. ábra: A béka zsákmányszerző viselkedés neuronális szerveződésének sematikus illusztrációja. A szaggatott vonalak jelölik az indirekt, a folyamatos vonalak a direkt útvonalakat. A piros nyilak mutatják az általunk talált közvetlen kapcsolatokat. A kék elemek jelölik a zsákmányszerzés efferens funkcióit, míg a sárga az afferenseket. FR-MPG-LOPI: a formatio reticularisban található központi motoros ritmus generator és utolsó rendű premotor interneuronok. A római számok jelölik az adott ideg afferenseit illetve motoneuronjait (mn).

Az ábra bal oldala mutatja be a trigeminalis afferensek szerepét a zsákmányszerző viselkedésben. Korábbi vizsgálatokban már feltárták a trigeminalis afferensek formatio reticularison (FR) keresztül érvényesülő poliszinaptikus útvonalát a nucleus ambiguus motoneuronjaira (Matesz és Székely 1978). Ezek mellett a trigemino-reticularis pályák mellett munkánk során azonosítottunk direkt útvonalakat is a szájüregi nyálkahártya illetve a szájzáró izmok proprioceptoraiából érkező szenzoros rostok és a nucleus ambiguusmotoneuronjai között (**36. ábrán** bal oldali piros nyíl).

- Közvetlen kapcsolatokat azonosítottunk konfokális felvételeken a nucleus ambiguus motoneuronjai és a nervus trigeminus szenzoros végződése között.
- A terminálisok kétharmada a gyomor, szív és tüdő viscero-motoneuronjain végződött.
- Nagy számban találtunk végződéseket a garatizmokat működtető motoneuronokon is.
- A laryngo-motoneuronokon talált kapcsolatok jelentősége elhanyagolhatónak adódott.

A **36. ábra** jobb oldalán a hypoglossus magban végzett vizsgálatainkat összegeztük. A korábban már bizonyított FR-on keresztül lezajló poliszinaptikus útvonalak mellett (Ewert

1984; Corbacho és mtsai. 2005) **(36. ábrán** szaggatott nyilak) jelentős számban találtunk közvetlen kapcsolatokat a IX.-X. és a XII. afferensek illetve a XII. motoneuronok között.

- A kapcsolatok száma és sejttestől mért távolsága alapján a glossopharyngeus-vagus afferensek nagy mértékben hatnak mind a protrakcióra mind a retrakcióra.
- A hypoglossus afferensek fontosnak bizonyultak a nyelv visszahúzásában, míg annak kiöltésében elhanyagolható a szerepük.
- A spinalis afferensek is a retrakcióra vannak hatással.
- A trigeminus és a vestibularis idegek hatása nagy valószínűséggel kisebb szerepet játszik a nyelvizmok működésének befolyásolásában.

Összességében elmondható, hogy a trigeminalis bemenet hozzájárul a nucleus ambiguus motoneuronok aktivitásának megváltozásához a zsákmányszerző viselkedés során a nyelés fázisában. A hypoglossus motoneuronok különböző afferensekkel alkotott kapcsolatrendszere morfológiai alapját képezheti a zsákmányszerző viselkedésben megfigyelhető rendkívül gyors motoros válaszoknak. A közvetlen és közvetett szenzoros bemenetek együttese hozzájárulhat a motoros végrehajtás során az izmok optimális működésének beállításához a kétéltűek zsákmányszerzési mozgássorában.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A béka zsákmányszerző viselkedése a táplálkozásban résztvevő izmok precízen összehangolt működésén alapul. A motoros funkciók hátterében álló neuronális hálózat aktivitását különböző agyidegek által szállított szenzoros információk befolyásolhatják részben interneuronokon részben az afferens és efferens rendszerek közötti közvetlen szenzori-motoros kapcsolatokon keresztül. A doktori értekezésemben az efferens rendszer két kiemelt fontosságú agytörzsi motoros magját vizsgáltuk: a nyelésben és visceromotoros funkciókban fontos nucleus ambiguus valamint a nyelv mozgásában szerepet játszó nucleus motorius nervi hypoglossi. Vizsgálataink célja annak felderítése volt, hogy létesítenek-e közvetlen kapcsolatokat a különböző primer afferensek a vizsgált magok motoneuronjaival, illetve feltérképeztük ezen kapcsolatok magon belüli eloszlását is.

Konfokális felvételeken közvetlen kapcsolatokat azonosítottunk a trigeminus szenzoros végződése és a nucleus ambiguus motoneuronjai között. Az almagokon belül a kapcsolatok eloszlása nem egyenletes: a terminálisok kétharmada a gyomor, szív és tüdő visceromotoroneuronjain végződött, jelentős számban találtunk végződéseket garatizmokat működtető motoneuronokon is, míg a laryngo-motoneuronokon talált kapcsolatok jelentősége elhanyagolhatónak adódott.

A béka hypoglossus magjában a nervus trigeminus, vestibularis, glossopharyngeus-vagus, hypoglossus és a második cervicalis gerincvelői idegek esetében ki tudtunk mutatni közvetlen kapcsolatokat a hypoglossus motoneuronokkal. A nervus facialis esetében nem láthatóak kollaterálisok a kérdéses területen, valószínűsíthetően a szájnyitó izmok izomorsóinak ingerülete poliszinaptikus útvonalon érvényesül. A talált kapcsolatok száma és sejttestől mért távolsága alapján azt feltételezzük, hogy a glossopharyngeus-vagus afferensek nagy mértékben hatnak a különböző típusú hypoglossus motoneuronok működésére és jelentős befolyásuk van mind a protrakcióra mind a retrakcióra. A hypoglossus afferensek fontosak a nyelv visszahúzásában, míg annak kiöltésében elhanyagolható a szerepük. Hasonlóképpen a spinalis afferensek mellső végtag proprioceptoraiból szállított információja is a retrakcióra van hatással. A trigeminus és a vestibularis idegek hatása valószínűsíthetően kisebb szerepet játszik a nyelvizmok működésének befolyásolásában; a szájüregben lévő zsákmányállat jelenléte, illetve a szájzáró izmok izomorsóinak ingerülete az V. idegen keresztül a retrakciót, míg a VIII. ideg ingerülete a protrakciót befolyásolhatja kismértékben.

Az azonosított monoszinaptikus kapcsolatok jelenthetik a neuro-morfológiai hátterét a kétéltűek összetett, gyors motoros válaszának, ami reflex-szerű képességet kölcsönöz az állatnak a zsákmányszerzés során.

SUMMARY

The prey-catching behaviour of frogs consists of a sequence of coordinated activity of different muscles corresponding to various stages of feeding. The activity of motoneurons responsible for coordinated activity of muscles can be modified indirectly via interneurons or directly via sensorimotor connections between afferent and efferent systems in the brainstem. In the present Thesis the sensorimotor integration was studied in two efferent components of the neuronal networks underlying prey-catching behaviour: the ambiguus nucleus which is necessary for gulping and visceromotor functions, and the hypoglossal nucleus responsible for contraction of tongue muscles. The aim of our experiments was to study whether the afferent fibres establish direct connections with the motoneurons in motor nuclei, and to provide a map on the distribution of the connections in the motor nuclei.

Confocal micrographs showed direct contacts between sensory terminals of trigeminal nerve and motoneurons of the ambiguus nucleus. The contacts were not evenly distributed between the subnuclei: two-third of the afferents terminated on the visceromotor motoneurons of the stomach, heart and lung, large number of terminals were found on the pharyngo-motoneurons, while the number of connections on the laryngo-motoneurons was insignificant.

We also demonstrated direct connections between trigeminal, vestibular, glossopharyngeal-vagal, hypoglossal and second cervical spinal afferent terminals and hypoglossal motoneurons. The collaterals of the facial afferents are absent at the level of hypoglossal motor nucleus, suggesting that the proprioceptive information from the mouth opening muscles is carried through polysynaptic pathways. Based on the highest number of the connections and their closest location to the soma, we presume that the glossopharyngeal-vagal afferents can exert the strongest effect on the different motoneurons in the hypoglossal nucleus, and these contacts influence both the protraction and the retraction of the tongue. The hypoglossal afferents can activate the retraction, but during protraction they do not play important role. The proprioceptive information from the muscles of the upper limb, carried by the C2 afferents, can modify the retraction of the tongue. The monosynaptic influence of trigeminal and vestibular afferents on the activity of the hypoglossal motoneurons is probably less important; the stimulus of the oral mucosa by the prey animal and proprioceptive information of mouth closing muscles may contribute to the retraction of tongue via the trigeminal nerve, while the vestibular information may influence the protraction.

We conclude that these monosynaptic connections may serve as one of the neuro-morphological substrates of the fast response during feeding movements of amphibians that gives the reflex-like ability of prey-catching behaviour.

7. IRODALOMJEGYZÉK

- Anderson CW (2001) Anatomical evidence for brainstem circuits mediating feeding motor programs in the leopard frog, *Rana pipiens*. *Exp Brain Res* 140 (1):12-19
- Anderson CW, Nishikawa KC (1993) A prey-type dependent hypoglossal feedback system in the frog *Rana pipiens*. *Brain Behav Evol* 42 (3):189-196
- Anderson CW, Nishikawa KC (1996) The roles of visual and proprioceptive information during motor program choice in frogs. *Journal of comparative physiology A, Sensory, neural, and behavioral physiology* 179 (6):753-762
- Anderson CW, Nishikawa KC (1997) The functional anatomy and evolution of hypoglossal afferents in the leopard frog, *Rana pipiens*. *Brain Res* 771 (2):285-291.
- Antal M, Tornai I, Szekely G (1980) Longitudinal extent of dorsal root fibres in the spinal cord and brain stem of the frog. *Neuroscience* 5 (7):1311-1322.
- Bieger D, Hopkins DA (1987) Viscerotopic representation of the upper alimentary tract in the medulla oblongata in the rat: the nucleus ambiguus. *J Comp Neurol* 262 (4):546-562.
- 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 (4):409-421.
- Corbacho F, Nishikawa KC, Weerasuriya A, Liaw JS, Arbib MA (2005) Schema-based learning of adaptable and flexible prey-catching in anurans I. The basic architecture. *Biol Cybern* 93 (6):391-409.
- Deak A, Bacskai T, Veress G, Matesz C (2009) Vestibular afferents to the motoneurons of glossopharyngeal and vagus nerves in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res* 1286:60-65.
- Dicke U, Roth G, Matsushima T (1998) Neural substrate for motor control of feeding in amphibians. *Acta Anat (Basel)* 163 (3):127-143.
- Dutia MB (2010) Mechanisms of vestibular compensation: recent advances. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 18 (5):420-424.
- Elmund J, Bowman JP, Morgan RJ (1983) Vestibular influence on tongue activity. *Exp Neurol* 81 (1):126-140.
- Ewert JP (1984) Tectal mechanism that underlies prey-catching and avoidance behavior in toads. In: Vanegas H (ed) *Comparative neurology of the optic tectum*. . Plenum, pp 247-416
- Ewert JP, Buxbaum-Conradi H, Glasgow M, Rottgen A, Schurg-Pfeiffer E, Schwippert WW (1999) Forebrain and midbrain structures involved in prey-catching behaviour of toads: stimulus-response mediating circuits and their modulating loops. *Eur J Morphol* 37 (2-3):172-176

- Ewert JP, Framing EM, Schurg-Pfeiffer E, Weerasuriya A (1990) Responses of medullary neurons to moving visual stimuli in the common toad. I. Characterization of medial reticular neurons by extracellular recording. *Journal of comparative physiology A, Sensory, neural, and behavioral physiology* 167 (4):495-508
- Fanardjian VV, Sarkisian VS (1988) Synaptic mechanisms of interaction between Deiters' nucleus and the nuclei of some cranial nerves. *Neuroscience* 24 (1):135-142.
- Fregosi RF, Fuller DD (1997) Respiratory-related control of extrinsic tongue muscle activity. *Respir Physiol* 110 (2-3):295-306
- Fuller PM, Ebbesson SO (1973) Central projections of the trigeminal nerve in the bull frog (*Rana catesbeiana*). *J Comp Neurol* 152 (2):193-199.
- Gans C, Gorniak GC (1982a) Functional morphology of lingual protrusion in marine toads (*Bufo marinus*). *The American journal of anatomy* 163 (3):195-222.
- Gans C, Gorniak GC (1982b) How does the toad flip its tongue? Test of two hypotheses. *Science* 216 (4552):1335-1337.
- Gaupp E (1904) A. Ecker's und R. Wiedersheim's Anatomie des Frosches, vol 3. Braunschweig: Vieweg und Sohn,
- Gorini C, Jameson HS, Mendelowitz D (2009) Serotonergic modulation of the trigeminocardiac reflex neurotransmission to cardiac vagal neurons in the nucleus ambiguus. *J Neurophysiol* 102 (3):1443-1450.
- Gorini C, Philbin K, Bateman R, Mendelowitz D (2010) Endogenous inhibition of the trigeminally evoked neurotransmission to cardiac vagal neurons by muscarinic acetylcholine receptors. *J Neurophysiol* 104 (4):1841-1848.
- Gray LA, O'Reilly JC, Nishikawa KC (1997) Evolution of forelimb movement patterns for prey manipulation in anurans. *J Exp Zool* 277 (6):417-424.
- 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*. Plenum, New York, pp 331-347
- Hanamori T, Ishiko N (1981) Conduction-Velocity of the 10th Nerve-Fibers Innervating Taste Organs in the Rostral and Caudal Tongue Region in Bullfrog. *Chem Senses* 6 (3):175-187.
- Harwood DV, Anderson CW (2000) Evidence for the anatomical origins of hypoglossal afferents in the tongue of the leopard frog, *Rana pipiens*. *Brain Res* 862 (1-2):288-291.
- Ishiwata Y, Ono T, Kuroda T, Nakamura Y (2000) Jaw-tongue reflex: afferents, central pathways, and synaptic potentials in hypoglossal motoneurons in the cat. *J Dent Res* 79 (8):1626-1634
- Joseph BS, King RB, Whitlock DG (1968) Central distribution of trigeminal primary afferent fibers in anuran amphibians. *Anat Rec* 160 (4):719-727.

- Kogo N, Perry SF, Remmers JE (1994) Neural organization of the ventilatory activity in the frog, *Rana catesbeiana*. I. J Neurobiol 25 (9):1067-1079.
- Kraklau DM (1991) Kinematics of Prey Capture and Chewing in the Lizard Agama-Agama (Squamata, Agamidae). J Morphol 210 (2):195-212.
- Kumada M, Dampney RA, Reis DJ (1975) The trigeminal depressor response: a cardiovascular reflex originating from the trigeminal system. Brain Res 92 (3):485-489.
- Kumada M, Dampney RA, Reis DJ (1977) The trigeminal depressor response: a novel vasodepressor response originating from the trigeminal system. Brain Res 119 (2):305-326.
- Kumai T (1981) Reflex response of the hypoglossal nerve induced by gustatory stimulation of the frog tongue. Brain Res 208 (2):432-435.
- Lang IM (2009) Brain stem control of the phases of swallowing. Dysphagia 24 (3):333-348.
- Liaw J-S WA, Arbib MA (1994) Snapping: a paradigm for modeling coordination of motor synergies. Neural Netw 7:1137-1152
- Llinás RR, Precht W, Capranica RR (1976) Frog neurobiology : a handbook. Springer-Verlag, Berlin ; New York
- Lowe DA, Russell IJ (1982) The central projections of lateral line and cutaneous sensory fibres (VII and X) in *Xenopus laevis*. Proc R Soc Lond B Biol Sci 216 (1204):279-297
- Luo P, Moritani M, Dessem D (2001) Jaw-muscle spindle afferent pathways to the trigeminal motor nucleus in the rat. J Comp Neurol 435 (3):341-353
- Luo P, Zhang J, Yang R, Pendlebury W (2006) Neuronal circuitry and synaptic organization of trigeminal proprioceptive afferents mediating tongue movement and jaw-tongue coordination via hypoglossal premotor neurons. Eur J Neurosci 23 (12):3269-3283.
- Mameli O, Melis F, De Riu PL (1994) Visual and vestibular projections to tongue motoneurons. Brain Res Bull 33 (1):7-16.
- Mameli O, Tolu E (1986) Vestibular ampullar modulation of hypoglossal neurons. Physiol Behav 37 (5):773-775.
- Mameli O, Tolu E, Melis F, Caria MA (1988) Labyrinthine projection to the hypoglossal nucleus. Brain Res Bull 20 (1):83-88.
- Mandal R, Anderson CW (2009) Anatomical organization of brainstem circuits mediating feeding motor programs in the marine toad, *Bufo marinus*. Brain Res 1298:99-110.
- Mandal R, Anderson CW (2010) Identification of muscle spindles in the submentalis muscle of the marine toad, *Bufo marinus* and its potential proprioceptive capacity in jaw-tongue coordination. Anat Rec (Hoboken) 293 (9):1568-1573.

- Mateika JH, Millrood DL, Kim J, Rodriguez HP, Samara GJ (1999) Response of human tongue protruder and retractors to hypoxia and hypercapnia. *Am J Respir Crit Care Med* 160 (6):1976-1982.
- Matesz C (1979) Central projection of the VIIIth cranial nerve in the frog. *Neuroscience* 4 (12):2061-2071.
- Matesz C (1994) Synaptic relations of the trigeminal motoneurons in a frog (*Rana esculenta*). *Eur J Morphol* 32 (2-4):117-121
- Matesz C, Kovalecz G, Veress G, Deak A, Racz E, Bacskai T (2008) Vestibulotrigeminal pathways in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res Bull* 75 (2-4):371-374.
- Matesz C, Kulik A, Bacskai T (2002) Ascending and descending projections of the lateral vestibular nucleus in the frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol* 444 (2):115-128.
- 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 (2-3):190-194
- Matesz C, Szekely G (1977) The dorsomedial nuclear group of cranial nerves in the frog. *Acta Biol Acad Sci Hung* 28 (4):461-474
- Matesz C, Szekely G (1978) The motor column and sensory projections of the branchial cranial nerves in the frog. *J Comp Neurol* 178 (1):157-176.
- Matesz C, Szekely G (1983) The motor nuclei of the glossopharyngeal-vagal and the accessorius nerves in the rat. *Acta Biol Hung* 34 (2-3):215-229
- Matesz C, Szekely G (1996) Organization of the ambiguus nucleus in the frog (*Rana esculenta*). *J Comp Neurol* 371 (2):258-269.
- Matesz K, Kecskes S, Bacskai T, Racz E, Birinyi A (2014) Brainstem circuits underlying the prey-catching behavior of the frog. *Brain Behav Evol* 83 (2):104-111.
- Matsushima T, Satou M, Ueda K (1987) Direct contacts between glossopharyngeal afferent terminals and hypoglossal motoneurons revealed by double labeling with cobaltic-lysine and horseradish peroxidase in the Japanese toad. *Neurosci Lett* 80 (3):241-245
- Matsushima T, Satou M, Ueda K (1989) Medullary reticular neurons in the Japanese toad: morphologies and excitatory inputs from the optic tectum. *Journal of comparative physiology A, Sensory, neural, and behavioral physiology* 166 (1):7-22
- Matsushima TA, Satou M, Ueda K (1986) Glossopharyngeal and tectal influences on tongue-muscle motoneurons in the Japanese toad. *Brain Res* 365 (1):198-203
- Monroy JA, Nishikawa K (2011) Prey capture in frogs: alternative strategies, biomechanical trade-offs, and hierarchical decision making. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol* 315A (2):61-71.

- Montuelle SJ, Herrel A, Libourel PA, Reveret L, Bels VL (2009) Locomotor-feeding coupling during prey capture in a lizard (*Gerrhosaurus major*): effects of prehension mode. *J Exp Biol* 212 (Pt 6):768-777.
- Morimoto T, Inoue T, Masuda Y, Nagashima T (1989) Sensory components facilitating jaw-closing muscle activities in the rabbit. *Exp Brain Res* 76 (2):424-440
- Morimoto T, Takebe H, Sakan I, Kawamura Y (1978) Reflex activation of extrinsic tongue muscles by jaw closing muscle proprioceptors. *Jpn J Physiol* 28 (4):461-471
- Munoz A, Munoz M, Gonzalez A, de Boer-van Huizen R, ten Donkelaar HJ (1994a) The dorsal column-medial lemniscal projection of anuran amphibians. *Eur J Morphol* 32 (2-4):283-287
- Munoz A, Munoz M, Gonzalez A, ten Donkelaar HJ (1994b) Spinothalamic projections in amphibians as revealed with anterograde tracing techniques. *Neurosci Lett* 171 (1-2):81-84
- Munoz A, Munoz M, Gonzalez A, ten Donkelaar HJ (1997) Spinal ascending pathways in amphibians: cells of origin and main targets. *J Comp Neurol* 378 (2):205-228.
- Munoz M, Munoz A, Marin O, Gonzalez A (1994c) Primary afferents and second order projections of the trigeminal system in a frog (*Rana ridibunda*). *Eur J Morphol* 32 (2-4):288-292
- Nakachi T, Ishiko N (1986) Gustatory signal processing in the glossopharyngeal-hypoglossal reflex arc of the frog. *Jpn J Physiol* 36 (1):189-208
- Nieuwenhuys R, Opdam, R. (1976) Brainstem In: Frog neurobiology. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York
- Nieuwenhuys R, ten Donkelaar, H.J., Nicholson, C. (1998) The central nervous system of vertebrates. Springer, New York
- Nishikawa KC (1999) Neuromuscular control of prey capture in frogs. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 354 (1385):941-954.
- Nishikawa KC (2000) Feeding in Frogs. In: Schwenk K (ed) Feeding: form, function and evolution in tetrapod vertebrates. . Academic Press, San Diego, pp 117-144
- Nishikawa KC, Anderson CW, Deban SM, O'Reilly JC (1992) The evolution of neural circuits controlling feeding behavior in frogs. *Brain Behav Evol* 40 (2-3):125-140
- Nishikawa KC, Gans C (1992) The role of hypoglossal sensory feedback during feeding in the marine toad, *Bufo marinus*. *J Exp Zool* 264 (3):245-252.
- Nishikawa KC, Gans C (1996) Mechanisms of tongue protraction and narial closure in the marine toad *Bufo marinus*. *J Exp Biol* 199 (Pt 11):2511-2529
- Nishikawa KC, Roth G, Dicke U (1991) Motor neurons and motor columns of the anterior spinal cord of salamanders: posthatching development and phylogenetic distribution. *Brain Behav Evol* 37 (6):368-382

- Oka Y, Takeuchi H, Satou M, Ueda K (1987) Cobaltic lysine study of the morphology and distribution of the cranial nerve efferent neurons (motoneurons and preganglionic parasympathetic neurons) and rostral spinal motoneurons in the Japanese toad. *J Comp Neurol* 259 (3):400-423.
- Olabi B, Bergquist F, Dutia MB (2009) Rebalancing the commissural system: mechanisms of vestibular compensation. *J Vestib Res* 19 (5-6):201-207.
- Opdam R, Kemali M, Nieuwenhuys R (1976) Topological analysis of the brain stem of the frogs *Rana esculenta* and *Rana catesbeiana*. *J Comp Neurol* 165 (3):307-332.
- Panneton WM, Johnson SN, Christensen ND (1994) Trigeminal projections to the peribrachial region in the muskrat. *Neuroscience* 58 (3):605-625.
- Racz E, Bacsikai T, Szabo G, Szekely G, Matesz C (2008) Organization of last-order premotor interneurons related to the protraction of tongue in the frog, *Rana esculenta*. *Brain Res* 1187:111-115.
- Rossiter CD, Yates BJ (1996) Vestibular influences on hypoglossal nerve activity in the cat. *Neurosci Lett* 211 (1):25-28.
- Rubinson K (1970) Connections of the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve in the frog. An experimental study with silver impregnation methods. *Brain Res* 19 (1):3-14.
- Sato T, Nishishita K, Okada Y, Toda K (2012) Efferent fibers innervate gustatory and mechanosensitive afferent fibers in frog fungiform papillae. *Chem Senses* 37 (4):315-324.
- Sauerland EK, Mitchell SP (1970) Electromyographic activity of the human Genioglossus muscle in response to respiration and to positional changes of the head. *Bull Los Angeles Neurol Soc* 35 (2):69-73
- Schaller B (2004) Trigemino-cardiac reflex. A clinical phenomenon or a new physiological entity? *J Neurol* 251 (6):658-665.
- Schwippert WW, Beneke TW, Ewert JP (1990) Responses of medullary neurons to moving visual stimuli in the common toad. II. An intracellular recording and cobalt-lysine labeling study. *Journal of comparative physiology A, Sensory, neural, and behavioral physiology* 167 (4):509-520
- Simpson HB, Tobias ML, Kelley DB (1986) Origin and identification of fibers in the cranial nerve IX-X complex of *Xenopus laevis*: Lucifer Yellow backfills in vitro. *J Comp Neurol* 244 (4):430-444.
- 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 (4):432-439.
- Stuesse SL, Cruce WL, Powell KS (1984) Organization within the cranial IX-X complex in ranid frogs: a horseradish peroxidase transport study. *J Comp Neurol* 222 (3):358-365.
- Stuesse SL, Fish SE (1984) Projections to the cardioinhibitory region of the nucleus ambiguus of rat. *J Comp Neurol* 229 (2):271-278.

- Szekely G, Levai G, Matesz K (1983) Primary afferent terminals in the nucleus of the solitary tract of the frog: an electron microscopic study. *Exp Brain Res* 53 (1):109-117
- Szekely G, Matesz C (1988) Topography and organization of cranial nerve nuclei in the sand lizard, *Lacerta agilis*. *J Comp Neurol* 267 (4):525-544.
- Szekely G, Matesz C (1993) The efferent system of cranial nerve nuclei: a comparative neuromorphological study. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 128:1-92
- ten Donkelaar HJ (1997) The central nervous system of vertebrates. In: Nieuwenhuys R, ten Donkelaar, H.J., Nicholson, C. (ed) *Anurans*, vol 2. Springer Verlag Berlin, Heilderberg, Tokyo, pp 1151-1314
- ten Donkelaar HJ, de Boer-van Huizen R, Schouten FT, Eggen SJ (1981) Cells of origin of descending pathways to the spinal cord in the clawed toad (*Xenopus laevis*). *Neuroscience* 6 (11):2297-2312.
- Tolu E, Caria MA, Simula ME, Lacana P (1994) Muscle spindle and periodontal trigeminal afferents modulate the hypoglossal motoneuronal activity. *Arch Ital Biol* 132 (2):93-104
- Valdez CM, Nishikawa KC (1997) Sensory modulation and behavioral choice during feeding in the Australian frog, *Cyclorana novaehollandiae*. *Journal of comparative physiology A, Sensory, neural, and behavioral physiology* 180 (3):187-202
- Weerasuriya A (1989) In search of the motor pattern generator for snapping in toads. In: Ewert J-P, Arbib MA (eds) *Visuomotor coordination: amphibians, comparisons, models, and robots*. Plenum,
- Wolff JB, Lee MJ, Anderson CW (2004) Contribution of the submentalis muscle to feeding mechanics in the leopard frog, *Rana pipiens*. *J Exp Zool A Comp Exp Biol* 301 (8):666-673.
- Wouterlood FG, Bockers T, Witter MP (2003) Synaptic contacts between identified neurons visualized in the confocal laser scanning microscope. Neuroanatomical tracing combined with immunofluorescence detection of post-synaptic density proteins and target neuron-markers. *J Neurosci Methods* 128 (1-2):129-142.
- Wouterlood FG, van Haeften T, Blijleven N, Perez-Templado P, Perez-Templado H (2002) Double-label confocal laser-scanning microscopy, image restoration, and real-time three-dimensional reconstruction to study axons in the central nervous system and their contacts with target neurons. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 10 (1):85-95
- Zhang B, Zhang XY, Luo PF, Huang W, Zhu FP, Liu T, Du YR, Wu QH, Lu J, Xiu Y, Liu LN, Huang HP, Guo S, Zheng H, Zhang CX, Zhou Z (2012) Action potential-triggered somatic exocytosis in mesencephalic trigeminal nucleus neurons in rat brain slices. *J Physiol* 590 (Pt 4):753-762.
- Zhang J, Yang R, Pendlebery W, Luo P (2005) Monosynaptic circuitry of trigeminal proprioceptive afferents coordinating jaw movement with visceral and laryngeal activities in rats. *Neuroscience* 135 (2):497-505.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE



DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR



Nyilvántartási szám: DEENK/22/2015.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Kecskés Szilvia
Neptun kód: YFDDM0
Doktori Iskola: Idegtudományi Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10037409

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

1. **Kecskés, S.**, Matesz, C., Gaál, B., Birinyi, A.: Neural circuits underlying tongue movements for the prey-catching behavior in frog: Distribution of primary afferent terminals on motoneurons supplying the tongue.
Brain Struct. Funct. Epub ahead of print (2015)
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00429-014-0988-1>
IF:4.567 (2013)
2. **Kecskés, S.**, Matesz, C., Birinyi, A.: Termination of trigeminal primary afferents on glossopharyngeal-vagal motoneurons: Possible neural networks underlying the swallowing phase and visceromotor responses of prey-catching behavior.
Brain Res. Bull. 99C, 109-116, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.09.006>
IF:2.974



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



További Közlemények

3. **Kecskés, S.**, Gaál, B., Rácz, É., Birinyi, A., Hunyadi, A., Matesz, C.: Extracellular matrix molecules exhibit unique expression pattern in the climbing fiber-generating precerebellar nucleus, the inferior olive.
Neuroscience. 284, 412-421, 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.09.080>
IF:3.327 (2013)
4. Matesz, K., **Kecskés, S.**, Bácskai, T., Rácz, É., Birinyi, A.: Brainstem circuits underlying the prey-catching behavior of the frog.
Brain Behav. Evol. 83 (2), 104-111, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000357751>
IF:4.288 (2013)
5. Rácz, É., Gaál, B., **Kecskés, S.**, Matesz, C.: Molecular composition of extracellular matrix in the vestibular nuclei of the rat.
Brain Struct. Funct. 219 (4), 1385-1403, 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00429-013-0575-x>
IF:4.567 (2013)
6. **Kecskés, S.**, Kőszeghy, Á., Szűcs, G., Rusznák, Z., Matesz, C., Birinyi, A.: Three-dimensional reconstruction and quantitative morphometric analysis of pyramidal and giant neurons of the rat dorsal cochlear nucleus.
Brain Struct. Funct. 218 (5), 1279-1292, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00429-012-0457-7>
IF:4.567

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 24,29

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre): 7,541

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

Debrecen, 2015.02.06.

8. TÁRGYSZAVAK

Tárgyszavak: nucleus ambiguus, nucleus motorius nervi hypoglossi, afferens terminális, agytörzs, szenzori-motoros integráció, neuronális jelölési technika, NeuroLucida rekonstrukció.

Key words: nucleus ambiguus, hypoglossal motor nucleus, afferent terminals, brainstem, sensorimotor integration, neuronal labeling, NeuroLucida reconstruction.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kísérleteimet a Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézetében végeztem. Szeretném megköszönni korábbi témavezetőmnek Dr. Matesz Klára egyetemi tanárnak, és jelenlegi témavezetőmnek Dr. Birinyi András egyetemi docensnek, akik magas szintű tudásukkal és tanácsaikkal munkámat segítették, és lehetővé tették a doktori értekezésem elkészülését.

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

Köszönöm mindazoknak a munkáját, akik a kísérletek technikai kivitelezésében segítségemre voltak, elsősorban Horváth Tímeának, és a laboratóriumunk többi dolgozójának, akik szakértelmükkel és segítségükkel hozzájárultak az értekezésemhez.

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

10. FÜGGELÉK