A tapintás kérgi feldolgozásának első lépései főemlősökben

Doktori értekezés

Ashaber Mária

Semmelweis Egyetem
Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Négyessy László, PhD, tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók:	Dr Tompa Tamás, PhD, egyetemi docens Dr Vereczki Viktória, PhD, egyetemi adjunktus
Szigorlati bizottság elnöke:	Dr. Vígh Béla, PhD, DsC, egyetemi professzor emeritus
Szigorlati bizottság tagjai:	Dr. Vidnyánszky Zoltán, PhD, egyetemi tanár Dr. Zsarnovszky Attila, PhD, egyetemi adjunktus Dobolyi Árpád, PhD, tudományos főmunkatárs

Budapest
2014

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke 4

2. Bevezetés 5

2.1 A témaválasztás indoklása 5

2.2 Irodalmi áttekintés 6

2.2.1 Szomatotópia a főemlősök agykérgében 6

2.2.2 A tapintás perifériás mechanizmusa és reprezentációja az agykéregben 9

2.2.3 A tapintási információk integrálása a kéregben. 15

2.2.4 Hierarchia a somatosensoros kéregben 17

3. Célkitűzések 29

4. Módszerek 31

4.1 Állatok és tartási körülmények 31

4.2 Műtét 31

4.3 Funkcionális térképezés 31

4.3.1 Az área határok és az ujjreprezentációk meghatározása 32

4.3.2 Ujjbegy stimulálása 33

4.3.3 Mikroelektródás elektrofiziológiai térképezés 33

4.3.4 Képalkotás és képanalízis 34

4.4 Pályajelölőanyag beadása 37

4.5 Perfúzió és metszés 38

4.6 Szövettani eljárás 38

4.7 Adatelemzés 40

4.7.1 BDA jelölés térképezése 40

4.7.2 Rétegeloszlás számítása 42

4.7.3 SLN és SLP értékek meghatározása 42

4.7.4 Agykérgi nagyítási faktor (CMF) meghatározása 43

4.7.5 A fénymikroszkópos sorozatmetszetek illesztése a funkcionális térképekkel 43

4.7.6 Elektronmikroszkópos elemzés és háromdimenziós rekonstrukció 43

5. Eredmények 45

5.1 A pályajelölő anyagok beinjektálásának funkcionális lokalizációja 45

5.2 BDA lokalizációja 48

5.3 Kétirányú pályajelölés BDA-val 52

5.4 Célterületek: terminális axonarborizációk és boutonszerű struktúrák 55

5.5 Retrográd jel eloszlása 59

5.6 Anterográd jel eloszlása 60

5.7 A beadási hely áreán belüli bemeneti neuronális összeköttetései 62

5.8 A beadási hely interáreális bemeneti neuronális összeköttetései 63

5.9 A beadási hely áreán belüli célterületei 64

5.10 A beadási hely interáreális célterületei 65

5.11 Reciprocitás 68

5.11.1 Br3b reciprok kapcsolatai 68

5.11.2 Br1 reciprok kapcsolatai 68

5.12 Kvantitatív eredmények 70

5.12.1 Moduláris szerveződés 70

5.12.2 Rétegeloszlás 71

5.12.3 SLN és SLP értékek 72

5.12.4 Kérgi nagyítási faktor (CMF) 73

5.12.5 Szinaptikus szerveződés 76

6. Megbeszélés 90

6.1 Metodikai szempontok 90

6.1.1 Kétirányú pályajelölés 90

6.1.2 A funkcionális térkép és az illesztés pontossága 91

6.1.3 Br3b és Br1 beadások egyedi különbségei 92

6.2 A terminális arborizációk jelentősége 92

6.3 Br3b és Br1 reciprok kapcsolatai 93

6.4 Br 3b és Br1 összeköttetései 94

6.5 Br3b és Br1 hierarchikus viszonya 95

6.6 Új nézetek a Br 3b és a Br1 kézreprezentációik funkcionális integrációjáról 97

6.6.1 Br3b kapcsolati mintázata 98

6.6.2 Br1 kapcsolati mintázata 99

6.7 Funkcionális összefüggések 100

6.7.1 A mozgásfeldolgozás PS-ben 100

6.7.2 Braille írás 100

7. Következtetések 102

8. Összefoglalás 104

9. Irodalom jegyzék 106

10. Saját publikációk jegyzéke 116

10.1 Az értekezésben felhasznált publikációk 116

10.2 Egyéb saját publikáció 116

11. Köszönetnyilvánítás 117

1. Rövidítések jegyzéke

Rövidítés	angol megfelelő	magyar megfelelő
Br3a		Brodmann área 3a
Br3b		Brodmann área 3b
Br1		Brodmann área 1
Br2		Brodmann área 2
Br4/M1		Brodmann área 4, primer motoros kéreg
BDA		Biotinilált dextrán amin
CMF	Cortical magnification factor	Kérgi nagyítási faktor
DAB		1'3'-diamino-benzidin
F		Terminális axonarborizációt (foltokat) tartalmazó régió
FF	Feedforward	Előrecsatolt
FB	Feedback	Visszacsatolt
NiDAB		Nikkel-intenzifikált 1'3'-diamino-benzidin
d1-5	1-5 digits	1-5 ujjak
dt1-5	1-5 digit tips	1-5 ujjbegyek
IOS	Intrinsic optical signal imaging	Intrinszik optikai képalkotó eljárás
R		Rostos régió
RA	Rapidly adapting type	Gyorsan adaptálódó pálya
PC		Vater-Paccini test
PV		Ventralis parietalis área
PS		Postcentralis somatosensoros kéreg
SII		Másodlagos somatosensoros kéreg
SAI	Slowly adapting type I	Lassan adaptálódó pálya I
SM		Sejt és rost mentes régió
V1	Primary visual cortex	Elsődleges látókéreg
V2	Secondary visual cortex	Másodlagos látókéreg
VPL		Thalamus ventralis posterolateralis magja
VPM		Thalamus ventralis posteromedialis magja

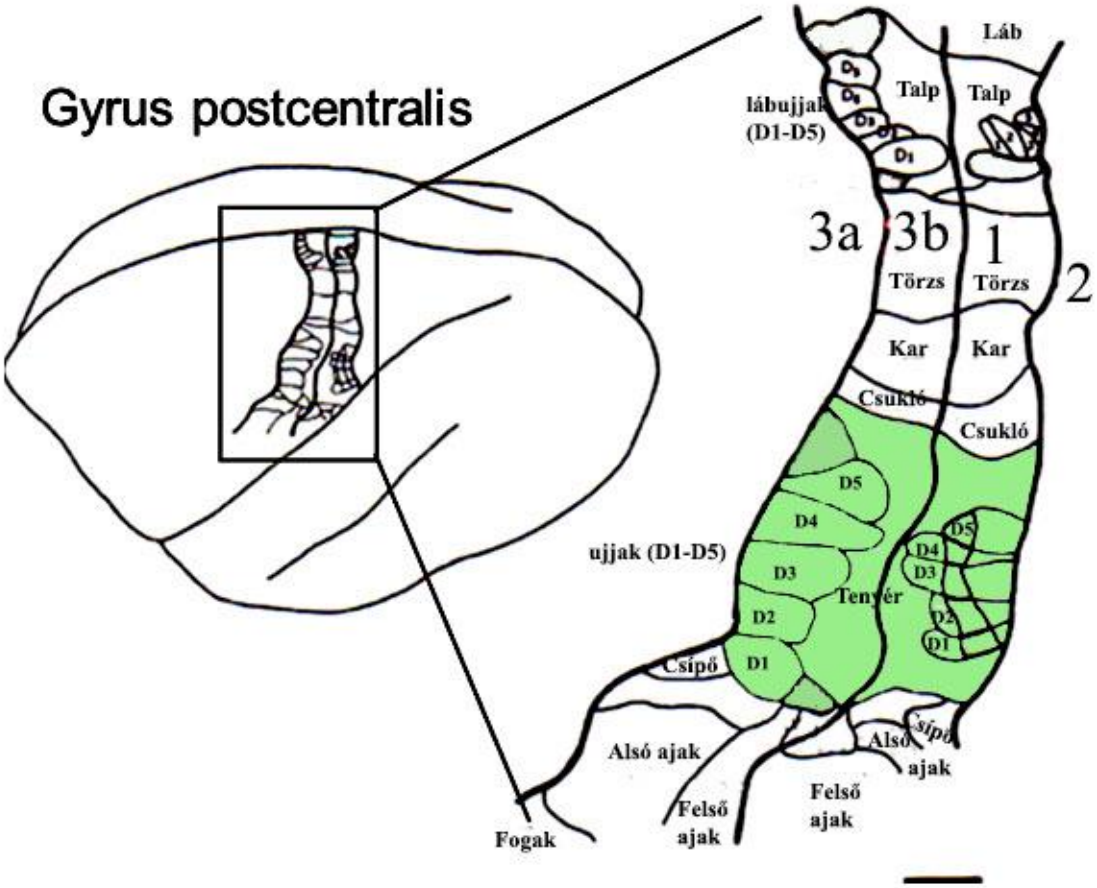
2. Bevezetés

2.1 A témaválasztás indoklása

Környezetünk felfedezésében és a mindennapi tájékozódásban a tapintás jelentősége felbecsülhetetlen. Ennek ellenére a tapintási információ neuronális feldolgozása, különösen az agykéreg szintjén kevésbé feltárt. Habár azt tudjuk, hogy működésében és felépítésében eltér a látókéregtől, a lokális kapcsolatok sturktúrája nem ismert.

Általában a vizuális bemenet domináns, és ahogy Gibson (1966) kiemelte, hajlamosak vagyunk a haptikus kapacitásunkat – és a kezünket – kevésbé méltányolni. A kéz ügyessége képessé tesz minket tapintással vezérelt prezíc mozgásra és az ujjak igen jelentős szerepet kapnak a haptikus explorációban. A bőr mechanoreceptorai által érzékelt tapintási információ (nyomás, forma, keménység, textúra stb.) első kérgi feldolgozó állomása a **postcentralis somatosensoros kéreg (PS)**. Ezen belül a diszkrét tapintási információ feldolgozásában **Brodmann área 3b (Br3b)** és **Brodmann área 1 (Br1)** szerepe kitüntetett főemlősökben (Sur és mtsai, 1980; Iwamura, 1998; 1. ábra).

Munkánk során a Br3b és Br1 áreán belüli és áreák közötti, eddig kombináltan még nem vizsgált funkcionális (intrinsic optical imaging és elektrofiziológia) és strukturális összeköttetéseinek megismerésére törekedtünk valamint arra, hogy értelmezzük a hierarchikus kapcsolatukra vonatkozó strukturális jellemzőket. Eredményeink hozzásegíthetnek a sensoros információ feldolgozás mechanizmusának, különösen az ujjreprezentációk integrálásának megértéséhez. Továbbá az ismert somatosensoros kérgi lokális kapcsolatokat modellezni lehet és alkalmazni a robotikában. Jelenleg ugyanis a robotok csak durva motoros funkciókra képesek kontrollált környezetben, melyek sensoros visszacsatolással továbbfejlesztve már alkalmasak lehetnek precíz haptikus funkciókra.



1. ábra. *A főemlős postcentralis somatosensoros kérge.*
Az ellenoldali testfelszín reprezentációja van feltüntetve a Br3b és Br1-ben éji majomban (Aotus trivirgata). Mindkét áreában reprezentálódik az egész test felülete, melyek fel vannak tüntetve. Az área 3b és 1 szomatotóp térképe az área határra tükörszimmetrikus. A kar reprezentációja felső és alsó karra osztható (Kaas és mtsai nyomán, 1979). Aránymérték=1mm

2.2 Irodalmi áttekintés

2.2.1 Szomatotópia a főemlősök agykérgében

Kísérletünkben az emberi taktilis funkciókhoz leginkább közelálló alanyt választottunk. Mivel az ujjbegy minden főemlősben a tapintás érzékszerve, munkánkban is erre fókuszáltunk. Az ujjbegyek jól körülírt reprezentációval rendelkeznek a postcentralis somatosensoros kéregben. Néhány főemlősben a Br3b-ben és a Br1-ben az egész test felülete reprezentált, de általános, hogy az ujjbegyek a többi testrészhez képest a mechanoreceptorok sűrűségével arányosan nagyobb kérgi képviselettel bírnak.

Főemlősökben a két áreában a kéz szomatotóp térképe tükörszimmetrikus: az ujjbegyek reprezentációs területe Br3b rostralis és Br1 caudalis határán található, a tenyér alapjának reprezentációja pedidg a két área közötti határra esik (Kaas, 1993, 2004; 1. ábra).

A jelenlegi szomatotóp térképek alappilléreiként szolgáltak az 1930-as években végzett elektrofiziológiai mérések. Marshall, Woolsey és Bard (1937) majomban és macskában számos neuron aktivitásáról informáló makroelektród segítségével a bőrfelület mechanikai ingerlésével meghatározott kéregterületeken kiváltott potenciálokat mértek. Mountcastle (1959) sejtszintű regisztrálásokat extracelluláris mikroelektródokkal végzett altatott és éber majmokban. Megfigyelése szerint a kérgi neuronok alapaktivitása a somatosensoros kéregben alacsony, kicsi vagy semmilyen spontán aktivitást nem mutattak. Wilder Penfield (1950) helyi érzéstelenítésben végzett műtétek során elektromosan ingerelte a feltárt parietalis kéreg pontjait, melynek hatására a betegek az ellenkező testfél körülírt területéről származó zsibbadásról, taktilis érzésekről számoltak be. Megalkotta a humunculust, amely a test felszínének a reprezentációját ábrázolja (a receptorsűrűséggel arányos mértékkel) Br1-ben. A somatosensoros kéreg felépítésének lényeges elemeiben a főemlősök közös jellemzőkkel bírnak. Az emberi gyrus centralis posterior rendszeres vizsgálatokkal felvett szomatotópiás térképe (lásd. humunculus) hasonló volt a majmokban kiváltott potenciálok alapján kialakított képhez (Nelson és mtsai, 1980). Adott bőrterület agykérgi reprezentációja nem annak nagyságával, hanem az illető területnek a taktilis érzékelésben játszott szerepével – a bőrben található receptorsűrűséggel – arányos, így az ajkaknak, a kéz ujjainak, a nyelvnek aránytalanul nagy a kérgi képviselete (több idegsejt dolgozza fel a felületükről jövő információt; Sur és mtsai, 1982). A főemlősök (és még néhány emlős) somatosensoros rendszerének felépítésében további közös vonás, hogy a thalamus ventroposterior superior és inferior magjai elkülönülnek és a postcentralis somatosensoros kéreg Brodmann áreákra osztható (Carlson és Nystrom, 1994).

Az extracelluláris mikroelektródok segítségével Kaas, Merzenich és kollégái (1979) felfedezték, hogy a szomatotópia a postcentralis somatosensoros kéreg (PS) minden áreájában jelen van néhány főemlősben. Br3b és Br1 áreákban a kéz külön leképeződéséről számol be Carlson és Nystrom (1994) az óvilági majmokhoz tartozó makákóban, és néhány újvilági majomban (Cebus, a kísérleti alanyunként szolgáló **Saimiri** (mókusmajom), valamint az Aotus nemzetségek). Az áreák kapcsolati

rendszeréről kiderül munkájukban, hogy Br3b aktivitásától függ Br1 működése (Carlson és Nystrom, 1994). Néhány fajban, mint a Galago és a Saguinus nemzetséghez tartozó majmokban PS a kézről csak egyszeres térképpel rendelkezik (Carlson és Nystrom, 1994). A főemlősök agyszerkezete a sensomotoros funkcióiban, a textúra diszkriminációjában, a kognitív és viselkedési repertoárjukban további diverzitást mutat (Carlson és Nystrom, 1994). Az emberszabású majmoknál és embereknél kevesebb adat áll rendelkezésünkre.

Az erdei életmódot folytató mókusmajom (Saimiri sciureus) a főemlősök rendjébe és a csuklyásmajomfélék (Cebidae) családjába tartozik. Életében a tapintás fontos szerepet játszik. Kutatásunkban kiváló alanyként szolgált, melynek okát a következőkben tárgyalom.

A mókusmajmokban az emberéhez hasonlóan elkülönült térképpel rendelkezik Br3b és a Br1, ahogy korábban említettem már és melyekről kollaborátoraink részletes funkcionális vizsgálatokat végeztek már (Chen és mtsai, 2001; Friedman és mtsai, 2004; 2008). Rendkívül ügyes haptikus funkciókra képesek. A tapintás szempontjából legfejlettebb a keze, a lába már kevésbé, a hosszú farka egészen érzéketlen, kapaszkodásra nem alkalmas (2. ábra). Rövid, de jól fejlett hüvelykujjuk is kiváló tapintószerv. Az újvilági majmok közül csak a kapucinusok és a mókusmajmok rendelkeznek szembefordítható hüvelykujjal. A mókusmajmot a makákók mellett előszeretettel használják idegtudományi tanulmányokhoz, mivel relatíve nagy agya van, mely felépítését tekintve az emberi agyhoz hasonlatos. Kísérleteinkben módszertani szempontból is a legideálisabb alanynak bizonyult a funkcionális és az anatómiai vizsgálataink egyidejű optimalizálása érdekében. A mókusmajmok lissencephalikus (sima felszínű) aggyal rendelkeznek, mely előnyös a kéreg kiterítéséből adódó szöveti torzulások redukálása szempontjából, továbbá optical imaging- és elektrofiziológiai technikákkal jól térképezhető szimultán több área (így a vizsgált két áreánk is) ebben a majomban (Chen és mtsai, 2001, 2003; Friedman és mtsai, 2004). Mivel a tapintás receptorainak zöme az ujjbegy területén található (Vallbo és Johansson, 1984), tanulmányunkban a mókusmajmok ujjbegy-reprezentációs területeire fókuszáltunk. A *Weil-Weigert módszerrel*[1]megfestett agyszelet-fotósorozattal készült sztereotaxiás atlasz

[1] Az agyszövetben a myelin hüvelyt festi meg, azaz a korábbi, ún. magfestéssel ellentétben a fehér állományt jelöli.

alapján a mókusmajom agyának anatómiájáról részletes ismereteink vannak (Gergen és MacLean, 1964). Az atlasz illusztrálja a mókusmajom anatómiai tulajdonságainak magas szintű idegrendszeri szerveződését.

2. ábra. *Mókusmajom (Saimiri sciureus). Forrás: http://en.wikipedia.org/wiki/Cebidae#mediaviewer/File:Common.squirrel.monkey.arp.jpg*

2.2.2 A tapintás perifériás mechanizmusa és reprezentációja az agykéregben

Főemlősökben a haptikus érzékelésben az ujjbegyek mechanoreceptorai kiemelt szerepet kapnak. A somatosensoros rendszer a bőrfelületet ért taktilis ingereken kívül a hőről, a fájdalomról, a belső szervek nyálkahártyáját ért ingerekről és a testrészek helyzetéről szállít információt (Qiufu, 2012). Az összetett tapintási inger elemzésében különböző mechanoreceptorok, hő és fájdalomérző receptorok játszanak szerepet. Az alacsonyküszöbű mechanoreceptorok az ártalmatlan, míg a magas küszöbűek a fájdalmas, káros ingerekről tájékoztatják az idegrendszert (Abraira és Ginty, 2013). A tapintást és a tudatosuló propriocepciót főként a hátsókötegi rendszer (lemniscus

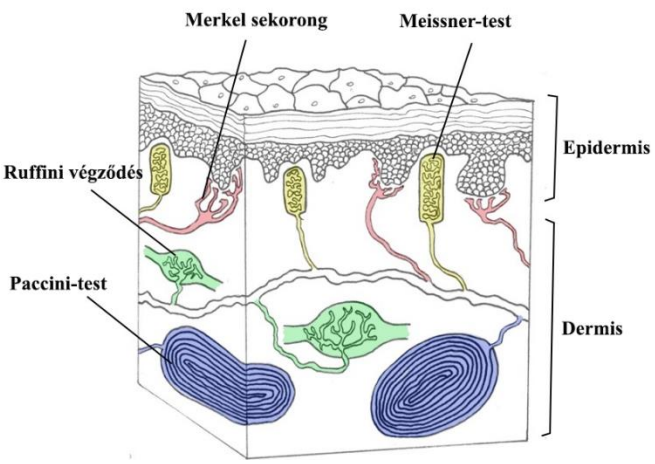
medialis) közvetíti, míg a fájdalom, a hő és a durva tapintás az anterolaterális (spinothalamicus) rendszerhez köthető.

Anatómiai és funkcionális tanulmányok szerint a specifikus szenzoros modalitásokat a bőrtől az agykéreg szintjéig sajátos idegi áramkörök vagy elkülönült pályarendszerek szállítják (Verrillo 1966a, b; Talbot és mtsai, 1968; Torebjörk és Ochoa, 1980; Verrillo és Bolanowski 1986). Bár a somatosensoros rendszer (beleértve a hőt, fájdalmat és a tapintást is) bonyolultabb jellegére és a huzalozott pályarendszerek közötti bőrben megvalósuló áthallás meglétére egyre több tanulmány utal (Belmonte és Viana, 2008; Qiufu, 2012). Többek között megállapították, hogy más kvalitású energiát érzékelő molekuláris szenzor kapcsolódhat más funkciójú szenzoros receptorhoz (Belmonte és Viana, 2008). Ezt az információt a fájdalom és a hő érzékelő receptorokról történt vizsgálatokból nyerték.

Br3b-be és Br1-be vetülnek döntően a finom tapintáshoz kötött információk, mint a nyomás, a remegés és a rezgés, melyek közül a nyomás reprezentációját kezdtük vizsgálni. A szomatotópia minden pálya és átkapcsolás szintjén megtartott. Különböző frekvenciájú ingerek különböző érzékeléseket eredményeznek a bőrön: 1) a nyomást 2-5 Hz, 2) a remegés érzését (flutter), 4-40 Hz, 3) a vibrációt pedig a magasabb frekvenciatartomány, 40-200 Hz idézi elő (Johansson és mtsai, 1982). Ezeket az érzéseket a Merkel testekhez (1) kötött lassan adaptálódó (SAI), a Meissner corpusculákkal (2) összekötött gyorsan adaptálódó pályák (RA) és a Pacini receptorok (3) közvetítik a központi idegrendszer felé (Mountcastle és mtsai, 1972; LaMotte és Mountcastle, 1975; Cohen és Vierck, 1993; (1. táblázat). Az RA afferensek a tárgy textúrájáról, az SAI afferensek pedig ezek keménységéről és formájáról gyűjtenek információt. Mind SAI, RA kis és pontszerű, míg SAII és Paccini receptorokhoz kötött rostok diffúz és nagy receptívmezővel rendelkeznek. A Meissner testek főleg a rezgés, a csúszás és a mozgás érzékelésére specializálódtak. A Paccini receptorok felépítésük miatt igen érzékenyek az érintésre. A lassan adaptálódó Ruffini-végződésekhez kötött pályákról (SAII), ezek pontos szerepéről keveset tudunk. Nem humán főemlősökben csak a körömágyakban fordulnak elő Ruffini-végződések (Pare és mtsai, 2002). Ezek részt vesznek a propriocepcióban, lassan adaptálódnak, a bőr megnyúlására és a körmök hajlítására érzékenyek. Emberben az ízületi tokokban ilyen receptorok vannak. A változatos alakú mechanoreceptorok a bőr különböző rétegeiben helyezkednek el (3. ábra, 1. táblázat).

1. táblázat.

A bőr mechanoreceptorainak tulajdonságai.



Receptor	Elhelyezkedés	Receptív mező	Adaptáció	Inger frekvenciája és a kódolt szubmodalitás
Pacini-test	Mélyen	Nagy	Nagyon gyors	40-200 Hz Vibráció, gyorsulás
Meissner-féle test	Felszínen	Kicsi	Gyors	4-40 Hz Sebesség, csúszás
Merkel-féle tapintókorong	Felszínen	Kicsi	Lassú	2-5 Hz Forma, textúra, intenzitás
Ruffini-test	Mélyen	Nagy	Lassú	Időtartam és intenzitás propriocepció

3. ábra. *Főemlős ujjbegy bőrének keresztmetszete (balra; Talbot nyomán, 1968). Fel van tüntetve a specializált idegvégződések helye, melyek tulajdonságai szerepelnek a táblázatban (jobbra).*

Nem egyszerű meghatározni az anatómiai egységek funkcióját SI-ben. A postcentralis somatosensoros kéregben a modalitások viszonya az anatómiai modulokhoz nem tisztázott. Jelen álláspont szerint az is megkérdőjelezhető, hogy funkcionális egységek-e a columnák a kéregben (Horton és Adams, 2005). A barrelkéregben bár nem columnákhoz kapcsoltan, viszont egyértelműen léteznek citokrómoxidáz reaktív domének, a barrelek, melyek funkcionális egységet alkotnak (Meyer és mtsai, 2013). Korábbi elképzelés szerint egy-egy szubmodalitást egy-egy kérgi oszlop dolgoz fel (RA és SAI ingerlésére válaszoló oszlopok, 5. ábra) és egy oszlop idegsejtjei hasonló választulajdonsággal (pl. hasonló hely-, orientáció- és térfrekvencia szelektivitással) rendelkeznek (Kaas és mtsai, 1979; Lund és mtsai, 1993). Van ugyan bizonyos fokú columnáris szerveződés SI-ben is (Sur és mtsai, 1985), de kevésbé meghatározott, mint a látókéreg binoculáris makrocolumnái és az okulár dominancia oszlopok (Hubel és Wiesel, 1977).

Elektrofiziológiai és optical imaging vizsgálatokból nyert ismeret szerint a különböző érzékleteket, szubmodalitásokat Br3b-ben és Br1-ben (az utóbbiban kevésbé, lásd Megbeszélés/Moduláris jellegek) nagyobb részben funkcionálisan elkülönülő neuronpopulációk dolgozzák fel és topográfiailag reprezentáltak (Sur és mtsai, 1980; Chen és mtsai, 2001, Friedman és mtsai, 2004; 2008; Pei és mtsai, 2009). A két área

vibrotaktilis térképén 250 µm-es kérgi áreák aktiválódtak a nyomásra, a remegésre („flutter”) és a rezgésre. A kéreg Br3b RA-domináns helyének való frekvenciaspecifikus elektromos ingerlése a bőr RA afferenseinek ingerlésekor keletkezett érzést kelti (Romo és mtsai, 1998). Az, hogy egyetlen alacsony küszöbű mechanoreceptív afferens (SAI, RA vagy PC) direkt kérgi elektromos ingerlése csak egyetlen típusú érzékelést vált ki (nyomás, remegés vagy rezgés) (Torebjork és Ochoa, 1980; Vallbo és mtsai, 1981) utalhat arra, hogy a thalamocorticalis vetület már specifikus érzékletet közvetít. Kérdéses viszont, hogy a perifférián hol alakulnak ki a submodalitások. A hierarchián felfelé haladva, mégpedig a tapintással kapcsolatos tanulásban és memóriában szerepet játszó magasabb kérgi áreákban a konvergencia miatt a szegregáció csökken és a szubmodalitások egyre inkább átfednek (Romo és mtsai, 2000). Bár PS-ben is előfordulnak átfedési zónák, amelyek körül a különböző érzékletek reprezentációi szélkerékszerűen helyezkednek el és mind a három szubmodalitás reprezentációja előfordul (Chen és mtsai, 2001, Friedman és mtsai, 2004). Az ilyen kérgi átfedő régiók feltételezhetően már PS-ben jelentősek lehetnek olyan komplex érzőinformációk begyűjtésében, mint amik a formák felismeréséhez nélkülözhetetlenek (pl. élek iránya).

Fontos megjegyezni, hogy ezek az elkülönülő érzékletek különböző frekvenciájú ingerléssel válthatók ki, mely messze nem köthetők egyetlen mechanoreceptorféleség működéséhez sem, hiszen a komplex információk elemzését a perifférián nem lehet elég korán elkezdeni. Erre utalnak a legújabb kutatási eredmények, melyek fejlett molekuláris genetikai, valamint a neuronális altípusok lézionális tanulmányaiból születtek és az ioncsatornák precíz kombinációját tárták fel (Abraira és Ginty, 2013). Pruszynski és Johansson (2014) ember perifériás idegben végzett méréseiben felismerték, hogy már az elsőrendű sensoros idegsejtek képesek tulajdonságelemző számításokat végezni a tárgy geometriai tulajdonságaira vonatkozóan (él-orientációs tulajdonságok). Az SAI és az RA afferens neuronok elágazódása és a transzdukciós helyeinek eloszlása teszi lehetővé, hogy a komplexebb ingereket, mint a tárgy térbeli tulajdonságait érzékeljék és szűrjék (Pruszynski és Johansson, 2014). A „huzalozott pálya” elmélet jelen ismeretek fényében már nem állja meg a helyét, mivel a morfológiailag és a fiziológiailag is különböző mechanoreceptorok egyedi együttes aktivációs mintázata az, ami szűri és kódolja kollektíve a tapintási inger összes kvalitását.

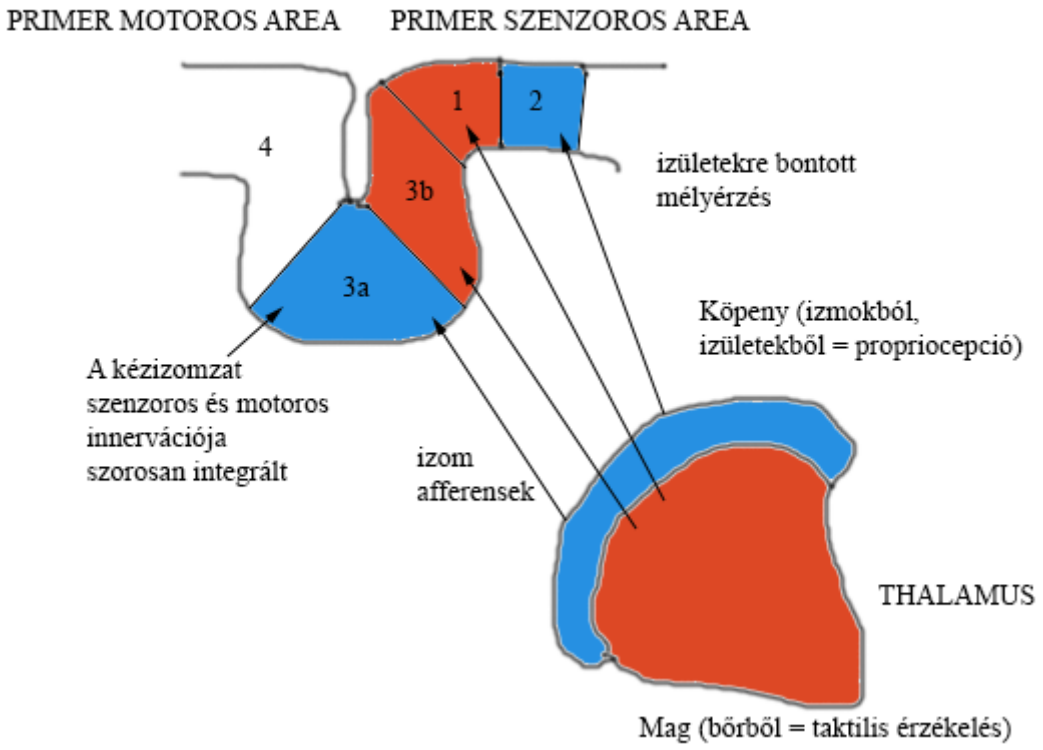
A testfelszín és a szubmodalitások topográfiáját illetően a gyrus postcentralison elhelyezkedő somatosensoros kéreg mind a négy Brodmann áreája (Br3a, Br3b, Br1 és Br2) külön-külön szomatotóp térképpel rendelkezik főemlősökben (Woolsey és mtsai, 1942; Mountcastle és Powell, 1959; Kaas és mtsai, 1979; Nelson és mtsai, 1980; Sur és mtsai, 1982; Pons és mtsai, 1985, 1987) (4. 5. ábra). Az ujjak reprezentációja nagy területet fed le Br3b-ben és Br1-ben, melyek inkább a felszíni receptorokból érkező információra érzékenyek (Br3b főleg SAI, Br1 pedig főleg RA). A hasonló topografikus szerkezet Br3b-ben és Br1-ben lehetővé teszi, hogy szerepüket a tapintásban kölcsönös egymásrahangolással lássák el, de a közöttük való munkamegosztás visszatükröződik az általuk reprezentált szubmodalitások eltérő dominanciájában: Br3b-ben a lassan adaptálódó (SAI), míg Br1-ben a gyorsan adaptálódó (RA) pályák bemeneti képviselete dominál (Chen és mtsai, 2001; Friedman és mtsai, 2004). Bár nem szabad megfeledkezni arról, hogy mindkét áreában mindegyik szubmodalitás reprezentálva van (SAI, RA, kevésbé PC).

Br3a és Br2 a mélyebb afferensektől kap bemenetet, és ezekben az áreákban a szomatotópia már elmosódott (izom és ínorsó, 4. 5. ábra), (Tanji és Wise, 1981). A nociceptorokból és a termoreceptorokból kiinduló anterolateralis pálya agykérgi állomása Br3a (az anterolateralis rendszer vizsgálatainkban nem szerepelt).

Ami a magasabbrendű áreákat illeti, Br5 sejtjei már komplexebb ingerekre reagálnak, mint a kar térbeli helyzetére és forgatására (Sinclair és Burton, 1991). Br7 somatosensoros és vizuális információt integrál (Murray és Mishkin, 1984; Burton és mtsai, 1997; Duhamel és mtsai, 1998; Debowy és mtsai, 2001), mely nélkülözhetetlen olyan funkciókhoz, mely a mozgató, a látó és tapintórendszer koordinációját igényli, azaz a látás vezérelt haptikus explorációhoz.

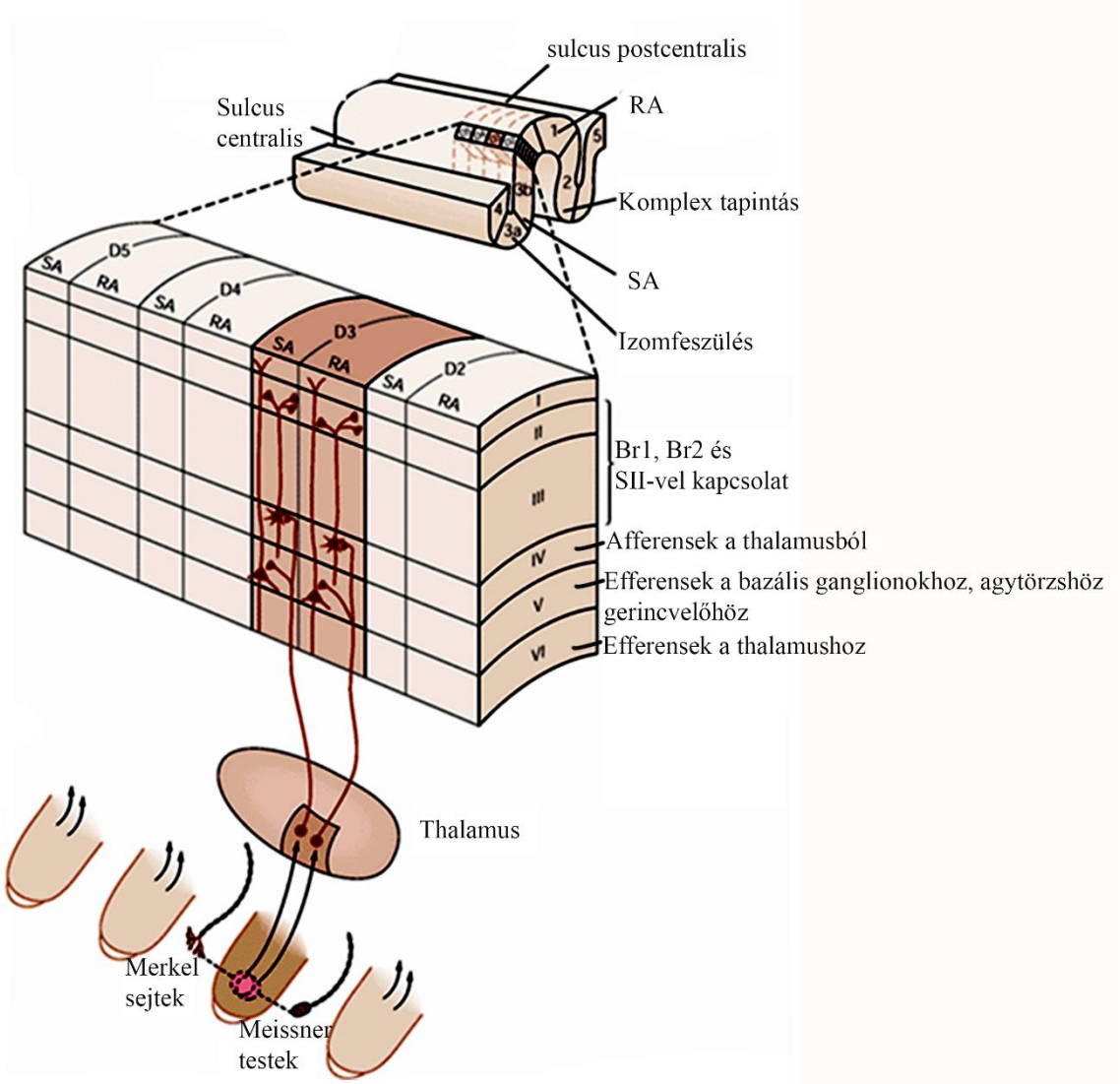
A somatotop térkép a magasabb kérgi területeken egyre elmosódottabbá válik és az ujjak túlzó képviselete egyre kevésbé jelenik meg. Szomatotóp térképek lateralisan, a másodlagos somatosensoros kéregben (SII), a szomszédos ventralis parietalis áreában (PV) és Br5-ben is megtalálhatók (Burton és Fabri, 1995; Krubitzer és mtsai, 1995). Padberg és mtsai (2006) kabócamajom kísérleteiből kapott eredményeiben részletezi, hogy Br5 a thalamus motoros és somatosensoros magjaiból is kap bemenetet, ami alapján feltételezi, hogy Br5 magasan specializálódott sensorimotor área. SII és PV magasabbrendű agyterületek és asszociációs funkcióval rendelkeznek (sensoros és

motoros működés összehangolása, a különböző szomatikus sensoros modalitások integrálása). Más somatosensoros áreák, mint az inzula, a felszíni bőrreceptorokból származó taktilis, valamint visceralis információt is kap (Robinson és Burton, 1980; Schneider és mtsai, 1993; Craig, 2003).



4. ábra. *A hátsó köteg – lemniscus medialis rendszer által közvetített modalitások thalamocorticalis projekciója a postcentralis sensoros areába.*

A sensoros homunculus-szal jellemzett szomatotópia mellett nagymértékű funkcionalitás jellemzi a projekció topológiáját. Pl. a kéz izomzatának sensoros (Br3a) és motoros (Br4) innervációja szomszédos területekre lokalizált (Eke nyomán, 2001).



5. ábra. *A különböző (SAI, RA csatornák által kódolt) modalitások elkülönülése a kérgi oszlopokban.*

A különböző modalitásokat egyes agykérgi áreák preferáltan dolgozzák fel (SAI Br3b-ben, RA Br1-ben). Az izomfeszülési információk Br3a-ba futnak, míg a komplex tapintási érzetek kialakításában Br1 és Br2 vállal szerepet (Kaas és mtsai nyomán, 1979).

2.2.3 A tapintási információk integrálása a kéregben.

Ahogy az előzőekben bemutattuk, a bőrben levő minden egyes mechanoreceptor a kéznek csak kis területéről ad információt. A tárgy egész alakjának, helyzetének (stereognosia), méretének, textúrájának a felfogása és a bőrfelületen elmozduló tárgy irányának és sebességének meghatározása többek között a receptorokból érkező taktilis

információ sokaságának az integrálását igényli áreák között és áreákon belül (Warren és mtsai, 1986).

Főemlős tanulmányokból ismert, hogy az **ujjak összehangolt működésében** a somatosensoros kéreg fontos szerepet játszik. A somatosensoros kérgi áreák közül már Br3b-ban megjelennek a több ujjra kiterjedő receptívmeződulajdonságok (Chen és mtsai, 2003, Reed és mtsai, 2010, 2012; Thakur és mtsai, 2012), de Br1-ben a több ujjat lefedő receptívmezőtulajdonságok dominálnak. A szomtszédos ujjreprezentációk közötti kapcsolatok leírását elektrofiziológiai (Sur és mtsai, 1980; Iwamura 1998) és kombinált elektrofiziológiai és anatómiai eredmények (Burton és Fabri, 1995; Krubitzer és Kaas, 1990; Manger és mtsai, 1997; Fang és mtsai, 2002) támasztják alá. Tehát az afferensek integrációja a kérgi feldolgozás kezdeti lépéseiben elkezdődik.

A topografikus aktiváció az alkalmazott ingerek kontextusától függ. Komplex taktilis stimulus esetén a kérgi topográfia Br3b-ben és Br1-ben különbözik az egyszerű stimlussal aktiválódott kérgi mintázattól. Ez eredményezheti az összeolvadt pontok érzékelését, a von Békésy tölcsérillúziót[2] (Chen és mtsai, 2003; Friedman és mtsai, 2008). Ennek oka a két áreában meglévő intraáreális (ujjak közötti) kapcsolat. Élettani jelentősége, hogy felerősítse a gyenge stimulusokat és több ingerelt pont kérgi integrációja a tárgy detektálásán kívül a lokalizációjában is szerepet játszik (Friedman és mtsai, 2008).

Az ujjak manuális funkciója a tapintás vezérelt mozgás révén valósul meg. Br3b, Br1 és Br2 a haptikus exploráció különböző aspektusainak szabályozásában játszik szerepet (Hikosaka és mtsai, 1985). A feladat komplex analízisét Br1 és Br2 végzi, melyek összetett bemenettel rendelkeznek. Br2 sensorimotor funkciójára utal az, hogy ujj reprezentációs területének reverzibilis léziói az ujjak koordinációjának deficitjével járnak (Hikosaka és mtsai, 1985). Tényleges, hogy Br1 és Br2 játssza a vezető szerepet ebben a funkcióban, ugyanakkor mozgásszelektív neuronok Br3b-ben is vannak (Warren és

[2]Keresztbetett ujjak: a propriocepció által viszonyítja az agy a tárgyhoz viszonyított ujjhelyzetet. Ha a két szomszédos ujjat egyszerre éri inger, akkor azt egyetlen pontnak érzékelhető, azaz egy, egyszeri érzés jelenik meg centralisan, mely kisebb, mint külön-külön. (Lateralis gátlás).

mtsai, 1986). Nagy valószínűséggel az RA-neuronoknak szerepe van a taktilis mozgás feldolgozásában (Gardner és Palmer, 1989). A motoros és sensoros területek közelsége leegyszerűsíti a területek összehangolását és az aktív tapintást hatékonyabbá teszi. Azonban a tapintással összefüggő mozgás funkcionális reprezentációjáról ugyancsak keveset tudni.

2.2.4 Hierarchia a somatosensoros kéregben

2.2.4.1 Br3b és Br1 kapcsolata és receptívmező tulajdonságaik

A magasabbrendű agyi területekben a neuronhálózatok komplexitása nő, egyre több bemenet konvergál egy idegsejten, melynek így több információt kell integrálnia. Az integráció legfőképp a neurális kapcsolatok konvergenciájától függ (Tononi és mtsai, 1998; Sporns és mtsai, 2004; Friston, 2005). A konvergencia a posztszinaptikus neuron receptív mezőjének méretét növeli, valamint modalitását változtatja meg (unimodális-polimodális átalakulás).

Az agykérgi hálózatokban magas szintű a reciprocitás (Felleman és Van Essen, 1991). Br3b és Br1 hierarchiában elfoglalt helyét a tapintási specifikáció (szubmodalitások) és a perifériával alkotott kapcsolata alsóbb szintekre helyezi a kérgi feldolgozásban. Br3b és Br1 között **topografikusan homotóp** (pl. Br1 ujjbegy reprezentációja Br3b és Br2 homotóp régióival) és **reciprok** kapcsolat van, melyet anatómiai (Jones és mtsai, 1969; Cusick és mtsai, 1985; Burton és Fabri, 1995) és elektrofiziológiai adatok támasztanak alá (Sur és mtsai, 1980; Chapman és Ageranioti-Bélanger, 1991). Juliano és munkatársai (1990) 2-deoxiglükóz jelöléses módszert kombinálták pályajelölőanyag beadásával, s eredményeik szerint a serkentő információ Br3b-ből Br1 felé halad, mely hasonló választulajdonságú sejtek csoportjait köti össze.

A két área **hierarchikus kapcsolatára** utalnak a következő megfigyelések. A taktilis jeláramban Br3b és Br1 bemenetét a thalamus ventrolateralis magjai képezik (4. ábra), de a legtöbb thalamikus rost a Br3a és Br3b-be vetít. Anatómiai tanulmányok szerint Br1 fő bemeneti egységét Br3b neuronjai képezik (Jones és mtsai, 1983; Shanks és mtsai, 1981). Ezzel összhangban Br3b léziója csökkenti Br1 perifériás stimulációra adott aktivitását, ellenben Br1 lézióját követően Br3b bőrfelszíni stimulációra reaktív marad (Garraghty és mtsai, 1990).

Br1-ben összetett tulajdonságok jelennek meg. Neuronjai olyan komplexebb ingerekre adnak invariáns választ, mint a mozgás vagy az irány (Hyvarinen és Poranen, 1978; Warren és mtsai, 1986; Phillips és mtsai, 1988; Gardner, 1989). Br1-ben az RA afferensek a stimulus megjelenésére és megszűnésére is reagálnak, jelezve a sebességre való érzékenységüket. Ezek az idegsejtek az aktív tapintás során tudnak információt nyújtani (Warren és mtsai, 1986). Ahogy már korábban utaltunk rá, Br1 bemeneteinek többsége Br3b-ből származik, így **Br3b neuronjainak konvergenciája** eredményezheti Br1 neuronjainak összetettebb válasz- és nagyobb receptívmezőtulajdonságait. Br3b-hez viszonyítva Br1 neuronjai kissé hosszabb latenciával válaszolnak (Lebedev és Nelson, 1996), mely jelzi közöttük az információáram irányát. Receptív mezejük nagyobb része kerül gátlás alá, ami magasabb kérgi szinteken kifejezettebbé válik, ahogy az is, hogy a neuronok választulajdonságai nem lineárisak (Sur és mtsai, 1980) és kevesebb az SAI afferens (Prud'homme és mtsai, 1994). A tulajdonság-specifitás csökken a komplexitással. Habár mindkét área rendelkezik orientációszelektivitással (Pubols és LeRoy, 1977; Gardner, 1989; Hsiao és mtsai, 2002), Br3b nagyobb mértékben, mint Br1.

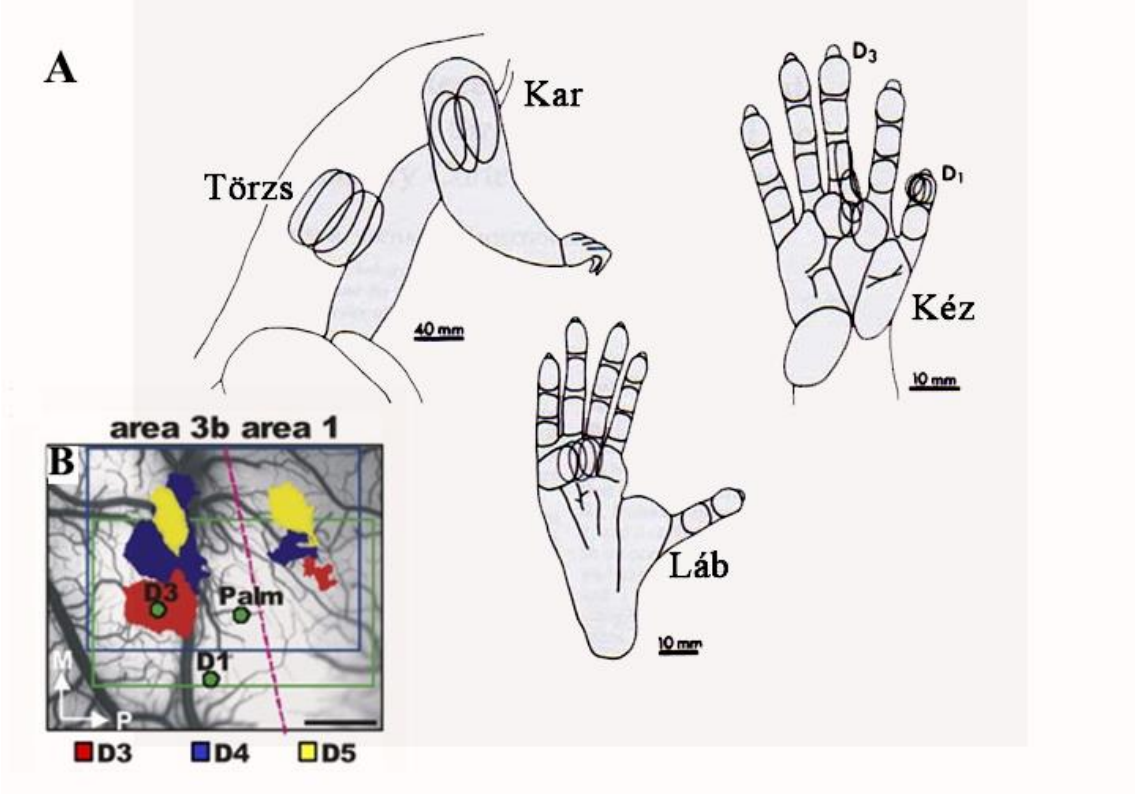
2.2.4.2 Hierarchikus kapcsolat somatosensoros kéreg többi áreái között

A Br3a és Br3b neuronjai a Br1-be és Br2-be vetítenek. PS mind a négy mezője projektál a másodlagos somatosensoros kéregbe (SII). A másodlagos érzőkéreg tapintási elemzése tehát magában foglalja a postcentralis somatosensoros kéreg (PS) által feldolgozott információt (Kaas, 1987). Ugyanakkor mind PS, mind SII kap tapintási információt a thalamusból (Padberg és mtsai, 2009). Hierarchikus viszonyukat tükrözi pl. az, hogy PS-ből származik SII bemenetének többsége (Pons és mtsai, 1987; Burton és mtsai, 1990). SII perceptuális funkciójához szükséges PS ép működése (Pons és mtsai, 1987), PS sérülése után SII-ben megszűnnek az elektrofiziológiailag kimutatható sensoros működések. Hiányos lesz a végtagok helyzetérzékelése, továbbá a méret, az alak és a felszíni textúra felismerése (Garraghty és mtsai, 1990b). A taktilis információ feldolgozásának az útja PS-ből a temporális lebeny limbikus struktúráihoz SII-n és az insulán keresztül valósul meg, mely corticolimbicus útvonal szolgálhatja a magasabb szintű taktilis tanulást és a memóriát (Friedman és mtsai, 1986).

A **hierarchikus kapcsolatot** a következő mennyiségi jelzők segítségével lehet vizsgálni.

2.2.4.3 Kérgi nagyítási faktor (CMF)

A konvergencia leírására használt mennyiségi jellemző a kérgi nagyítási faktor (CMF). A CMF a kérgi reprezentáció területe és a reprezentált bőrfelület arányát adja meg (Sur és mtsai, 1980). A szomatotóp térképeken belül az áreák közötti arányos különbségek leírására használják PS és SII-ben. A csupasz kéz és láb területét 100-szor nagyobb kérgi terület képviseli, mint a törzset vagy a felkarokat (6A) (Sur és mtsai, 1980). A receptív mezők mérete az ujjbegy területén kisebb, s egyre nagyobb lesz a tenyér felé haladva. A beidegzés erőssége és az adott szerv agykérgi reprezentációjának nagysága közötti kapcsolatot először Welker és Van der Loos (1986) írta le egerek sinus-szőreivel végzett kísérleteiben. A kérgi reprezentáció területe distalis karon kisebb, mint a proximalis karon (6A). A CMF fordítottan arányos a receptív mezővel (Sur és mtsai, 1980; Catania és mtsai, 2011). Br3b-ben nagyobb kérgi szövet aktiválódik ugyanakkora bőrfelület stimulációjára, mint Br1-ben (Friedman és mtsai, 2008., 6B). Mivel a konvergenciából következtethetünk az integráció jelenlétére CMF ismeretében az egyes kérgi áreák közötti hierarchikus kapcsolat vizsgálható.



6. ábra *Jellemző receptívmező-méretek a test különböző részein és az ujjak reprezentációja a két vizsgált áreában.*

A: *A kézen, a karon, a törzsön és a lábfejen (Sur és mtsai nyomán, 1980). A háton és a karon látványosan nagyobbak a receptívmezők, mint a kézen, s legkisebbek az ujjakon (D1).* ***B****: Egyujjas ingerlésből kapott optical imaging eredmények (Friedman és mtsai nyomán, 2008). Az ujjak reprezentációja Br3b-ben nagyobb, mint Br1-ben. M: medialis, P: posterior. Palm: tenyér. D1, D3: 1-es és 2-es ujj. Méretarány: 10 mm (A) és 1 mm (B).*

2.2.4.4 Rétegeloszlás és az előre-és a visszacsatolt kapcsolati hálók

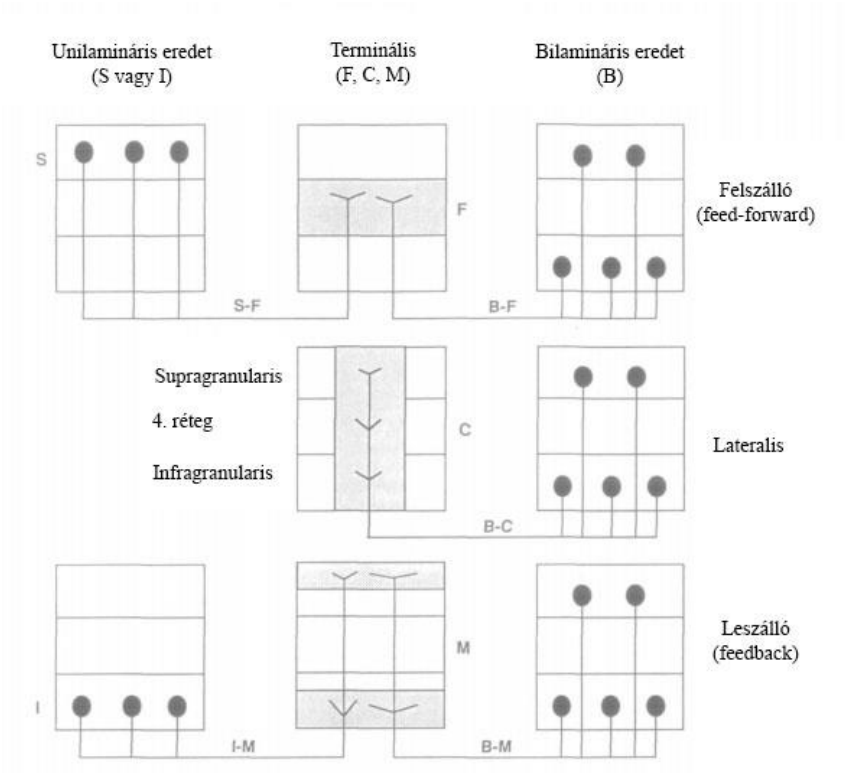
A kérgi kapcsolatok rétegbeli mintázata a különböző hierarchiai szinteken eltér. A sejttestek és az axonális terminális hálózatok rétegbeli eloszlásával lehet jellemezni a feedback (FB) és feedforward (FF) kapcsolatok struktúráját (7. ábra; Rockland és Lund, 1983; Felleman és Van, Essen, 1991; Barone és mtsai, 2000). Felleman és munkatársai a vizuális kéregben három jellemző eloszlási mintázatot állapított meg, mely a középső oszlopban van feltüntetve:

1. 4. réteget preferáló végződések (F mintázat),
2. a végződések sűrűsége minden rétegben hasonló (C, columnaris mintázat)
3. a 4. réteget elkerülő mintázat (M, multilaminaris mintázat).

Három jellemző mintázata van a sejtek különböző eredetére nézve is.

1. Bilamináris (B) mintázatban a superficialis és mély rétegekből származó közel azonos számú sejt jellemző és minden rétegben megjelenik a három típusú terminális mintázat.
2. Az unilaminaris mintázatot a superficialis inputok (S mintázat) F végződéssel és infragranularis rétegbeli inputokat tartalmaz, melyeknek végződései M típusúak.

Néhány útvonal főleg superficialisan végződik, de az M mintázatba tartoznak, mivel elkerülik a 4. réteget. A többi útvonal columnaris, de nem foglalja magába az összes réteget: ezek a C mintázatot adó utak, ha az összes rétegben egyenlő az eloszlás (Felleman és Van, Essen nyomán, 1991).



7. ábra. *A kérgi kapcsolatok lamináris mintázata hierarchiai jellemzésekhez.*

Három jellemző eloszlási mintázat van feltüntetve a középső oszlopban: a 4. réteget preferáló végződések (F mintázat), a minden rétegben hasonló sűrűséget mutató végződések (C, columnaris mintázat) és a 4. réteget elkerülő mintázat (M, multilaminaris mintázat). Három jellemző mintázata van a sejtek különböző eredetére nézve. Bilamináris (B) mintázat (jobbra) közel azonos számú sejtet mutat a superficialis és mély rétegekből és minden rétegben megjelenik a három típusú terminális mintázat. Az unilaminaris mintázatot a superficialis (S mintázat, F terminálisokkal) és infragranularis inputok jellemzik (M terminálisokkal) (Felleman és Van Essen nyomán, 1991).

Összefoglalva, amíg a felszálló kapcsolatokra a supragranularis neuronok és 4. rétegbeli végződések jellemzők, addig a visszacsatoltaknál a 4. réteget megkerülve supra- és infragranuláris eloszlás dominál. Felleman kategóriáinak a hátránya, hogy a lehetséges konfigurációk száma hatalmas, mivel hiányoznak azok a kritériumok, amik jól elkülönítenék a hierarchiai szinteket. Barone és mtsai (2000) ezt úgy küszöbölték ki, hogy bevezettek egy egyszerű mennyiségi jelzőt, amely a FF (feedforward) és a FB (feedback) pályákban részt vevő supragranularis réteg neuronjainak arányát adja meg (SLN).

Vizuális kéregben végzett tanulmányukban azt találták, hogy a magasabb kérgi szintet képviselő áreák SLN értéke szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a magasabb rendű kérgi áreáké. Ezekkel a megfigyelésekkel egybecsengő eredményekre jutott a hierarchia vizsgálatában Ueta (2013) patkány prefrontalis kérgében vizsgált piramissejtekkel kapcsolatban: a 2/3. rétegi piramissejtekből felszálló, míg az 5. rétegbeliekből leszálló pályák indulnak.

Az előrecsatolt kapcsolatok határozzák meg az idegsejtek receptívmezőtulajdonságait a vizuális kéregben és a bemenetet gyors továbbításával gyors viselkedési válasz követhet. A horizontális és visszacsatolt kapcsolatok csak kis szerepet kapnak a receptívmező tulajdonságok meghatározásában. Ezek a kapcsolatok olyan feldolgozást közvetítenek, mint az érzékelés rendszerezése, a figyelem és talán a vizuális tudatosság (Lamme és mtsai, 1998).

2.2.4.5 Az előre- és a visszacsatolt kapcsolatok szinaptikus jellemzői

Az agykérgi neuronhálózatok működése a serkentő és a gátlósejtek révén hatékony szabályozást tesz lehetővé. Az előre- és visszacsatolt gátlás képes a sejtek aktivitását stabilizálni, valamint az aktivitási szintet szabályozni. A kísérleteinkben jelölődött idegsejtek többsége ugyanakkor glutamáterg (ezen belül is piramissejt) és a néhány jelölt gátlósejt a beadási hely környékére lokalizálódott. Mivel a szinaptikus vizsgálatokra vonatkozó mintavételezés a beadási helytől távol esik (a feltérképezett axonterminálisok elhelyezkedéséből adódóan) a serkentő szinapszisok jellemzőire fókuszáltunk. A serkentő előrecsatolt kapcsolatok az afferensek révén a neuronhálózatok szinkron működnek, míg ahol visszacsatolt serkentés is jelen van ott önálló ritmikus aktivitás is megvalósul, mely tovább növeli a sensoros infomráció feldolgozásának a hatékonyságát. E funkciók mögött eltérő szinaptikus kapcsolatok húzódnak meg.

A különböző szinaptikus kapcsolatok eloszlása a magasabbrendű és alacsonyabbrendű agyi régiókban eltér (Rouiller és Welker, 2000). A thalamikus relésejt működését meghatározó fő előrecsatolt projekció óriás terminálisai a perifériáról érkeznek és a klasszikusan ismert irányító vagy „driver” serkentő bemenetet jelentik. A thalamocorticalis kapcsolatok a sensoros információ kifinomultabb szabályozását valósítják meg. A corticothalamikus projekciókban előforduló driver terminálisok a kéreg V. rétegéből érkeznek (Rouiller és Welker, 2000). A meghajtó jellegű thalamocorticalis útvonalak a látó, halló és somatosensoros rendszerben (Ahmed és mtsai, 1994; Lee és

Sherman, 2008; Viaene és mtsai 2011) és néhány corticocorticalis útvonal (Covic and Sherman, 2011) a kéreg IV. rétegében végződnek. Minden thalamikus terület modulátor, kis terminálisokkal jellemezhető bemenetet kap a kéreg VI. rétegéből. Magasabb- (medialis pulvinar) és alacsonyabbrendű thalamikus magban (ventralis posterolateralis) a meghajtó és a modulátor corticothalamicus axont eltérő eloszlásban figyelték meg (Hoogland és mtsai, 1991; Darian-Smith és mtsai, 1999; Van Horn és Sherman, 2007; Sherman és mtsai, 2011). A magasabbrendú thalamikus magban, a pulvinarban „en passant" boutonokkal és diffúz terminális arborizációkkal rendelkező corticothalamikus afferenseket írtak le, melyek apró boutonokban végződnek. Ugyanakkor eredményeik szerint a vastagabb, sima és jól lokalizálható nagy végződésekkel rendelkező axonok inkább a thalamus ventralis posterolateralis magjába (VPL) vetítenek (Darian-Smith és mtsai, 1999). Van Horn és Sherman (2004) macska látókérgében, az LGN-ben és a pulvinar posterolateralis részében végzett elektronmikroszkópos, morfológiai elemzéseiből hasonló megfigyelésekre jutott. A corticothalamikus visszacsatolt célterületeken reciprok kapcsolatra utaló jeleket találtak: sok retrográd sejttestet és anterográd kis terminálist, míg megfigyeléseik szerint az előrecsatolt corticothalamikus projekciók csupán anterográd módon jelölt, nagy terminálisokat tartalmaztak (Van Horn és Sherman, 2004). Úgy tűnik továbbá, hogy a fő sensoros információ továbbítása a lemniscus lateralis útvonalon független a kéreg állapotától, míg a moduláló jellegű paralemniscalis útvonal függ attól (Diamond és mtsai, 1992).

A különböző agykérgi szinapszisok eltérő ultrastruktúrális jellemzőkkel bírnak: a felszálló talamokortikális rostok jellemző végződése nagy terminális, a kérgi szinapszisok többsége ugyanakkor inkább a kis boutonok jellemzőek (Négyessy és Goldman-Rakic, 2005). Minden esetben a posztszinaptikus válasz függ a preszinaptikus terminálisok morfológiájától, méretétől, típusától, a szinapszisok számától és elhelyezkedésétől (Cathala és mtsai, 2005; Rollenhagen és Lübke, 2006). Az óriás terminálisokkal rendelkező rostok meghatározzák a posztszinaptikus neuron választulajdonságait, mivel számos serkentő szinapszist alkotnak a relésejtek nagy, proximális dendritjén. A nagyszámú aktív zóna rendkívül megnöveli a transzmisszió hatékonyságát. A thalamusban a vastag axonok végződéseinek sűrű terminális arborizációi relatív nagy (> 2μm²) szinaptikus boutonokat tartalmaznak. Ilyen pl. a ventralis posterolateralis és medialis thalamicus magokba (VPM/VPL-be) vetítő lemniscalis bemenet és azon

corticothalamikus útvonalak, melyek az 5. rétegből származnak (Hoogland és mtsai, 1991; Rouiller és Welker, 1991; 2000; Bourassa és mtsai, 1995; Vidnyánszky és mtsai, 1996; Feig és Harting, 1998; Li és mtsai, 2003). A kis, modulátor boutonokkal jellemezhető bemenetek (Összefoglalását lásd 2. táblázatban) a posztszinaptikus neuron választulajdonságait befolyásolja, de nem az elsődleges szenzoros információt továbbítja. A modulátor útvonalak vékony axonokat formálnak, melyekre kis boutonok jellemzőek (<1μm²) (Hoogland, és mtsai, 1991; Bartlett, és mtsai 2000; Ichida és Casagrande, 2002; Li és mtsai, 2003). Ezek a kis kérgi terminálisok célelemként egy szinapszist képeznek a thalamikus relésejtek vékony, distalis dendritjén (Li és mtsai, 2003). Ilyen jellegekkel bírnak az inter- és intraáreális corticocorticalis útvonalak (Covic és Sherman, 2011), 2/3 rétegi thalamocorticalis postcentralis somatosensoros kéregbe tartó bemenetei (Viaene és mtsai, 2011).

A thalamocorticalis és corticothalamikus nagy terminálisok strukturális tulajdonságaihoz különböző funkcionális jellemzők társulnak. Bár a corticocorticalis nagy terminálisok ultrastrukturális tulajdonságai feltáratlanok, így a corticocorticalis szinapszisok szerepepéről közvetlen, elektronmikroszkópos vizsgálattal megerősített ismeretünk nincsen. A meghajtó afferensekre a 10 Hz-nél nagyobb elektromos stimulálásra adott nagy amplitudójú, *mindent vagy semmit* típusú válaszok jellemzőek. A célneuron ionotróp glutamáterg receptoraihoz kötődnek e rostokból felszabaduló glutaminsavak (Li és mtsai, 2003; Reichova és Sherman, 2004). Funkcionális tanulmányokból ismert ugyan, hogy driver típusú pályák megtalálhatóak valamennyi interáreális corticocorticalis (Covic és Sherman, 2011; DePasquale és Sherman, 2011), valamint néhány lokális corticalis kapcsolati hálózatban is (DePasquale és Sherman, 2012). Ugyanakkor ezen belül is eltérő tulajdonságokkal jellemezhetőek a perifériás információt közvetítő thalamicus afferensek és a lokális kérgi kapcsolatok. Lemniscalis thalamocorticalis driver bemenetek *(1A)* olyan válaszokat váltanak ki, amelyek többnyire a küszöb feletti stimulus intenzitás további növelésére érzéketlenek (mindent vagy semmit válasz). Ez azt mutatja, hogy kevés a konvergencia, vagy egyáltalán nincs (*1A* osztály, Lee és Sherman, 2008; Viaene és mtsai, 2011a, b, c). Valamennyi driver corticocorticalis kapcsolat *(1B)* ugyanakkor jelentős konvergenciát mutat (8. ábra, Covic és Sherman, 2011; DePasquale és Sherman, 2011). A feltételezések alapja az, hogy a stimulus intenzitásának növelésére megnövekszik az EPSP (excitatory postsinaptic

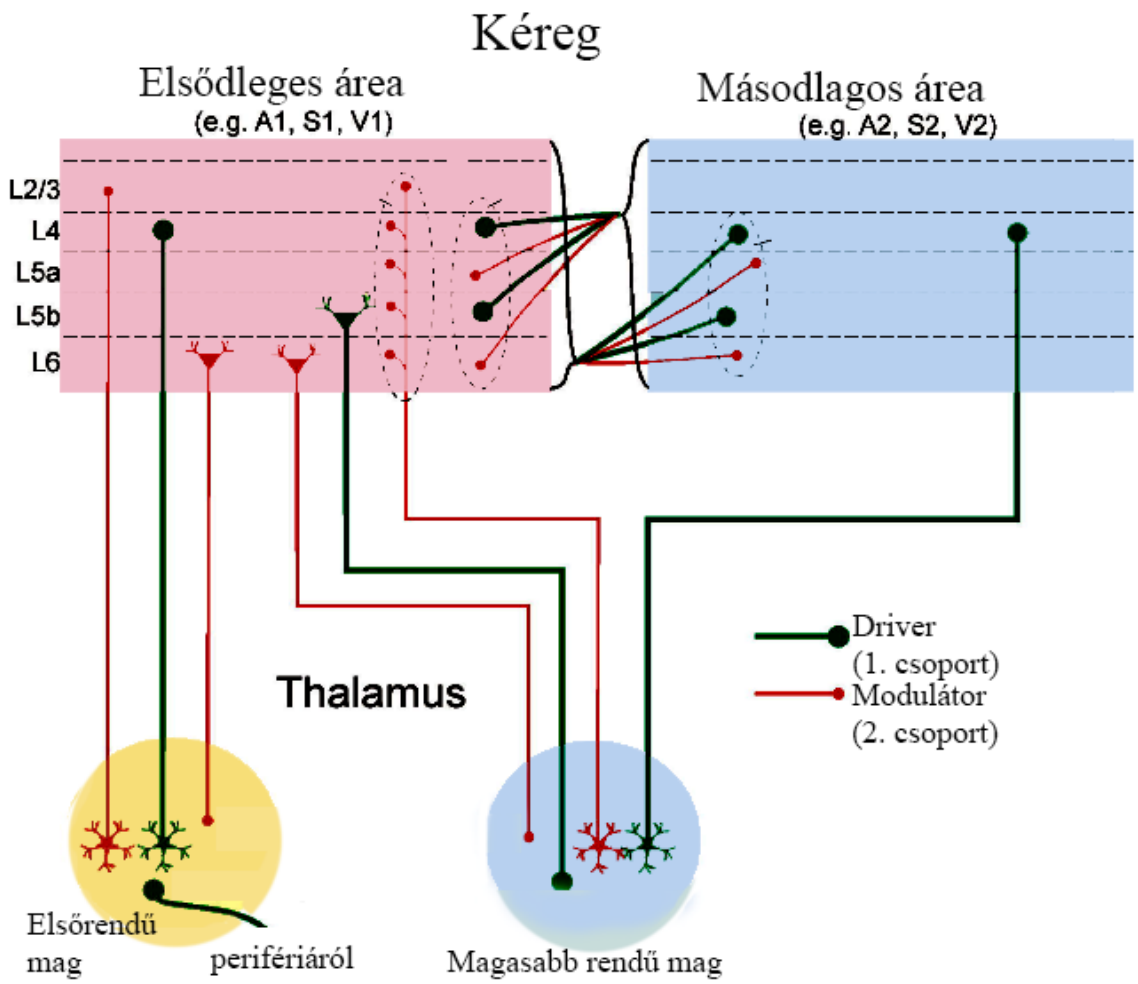
potential) amplitudója. A meghajtó típusú terminálisok a posztszinaptikus membrán depolarizációhoz vezetnek (Reichova és Sherman, 2004; Lee és Sherman, 2008; Covic és Sherman, 2011; Viaene és mtsai, 2011). A modulátor bemenetek szinaptikus sajátosságai eltérnek a nagy terminálisokétól. A 6. rétegből a 4. rétegbe vetítő afferensek elektromos stimulálása például a somatosensoros kéregben relatív kis EPSP-ket, párosított pulzusfacilitációkat eredményez (Lee és Sherman, 2008). Rövid idejű szinaptikus plaszticitás jellemzi ezt a csoportot (Bartlett és Smith, 2002; Li és mtsai, 2003; Viaene és mtsai, 2011a, c; Covic és Sherman, 2011; DePasquale és Sherman, 2011; Lee és Sherman, 2008, 2009; DePasquale és Sherman, 2012). A modulátor kis terminálisok az ionotróp glutamát receptorok mellett metabotróp glutamáterg II receptorokat is aktiválnak, ezáltal vezethetnek a célsejt hiperpolarizációjához is (Lee és Sherman, 2008, Depasquale és Sherman, 2011). A magasabbrendű agykérgi területekre nagyobb integráció jellemző, mely adódhat a modulátor útvonalak konvergenciájából, mely kifejezettebb, mint a meghajtó típusú projekciók esetén.

Összefoglalva a legtöbb tanulmány több moduláló hatású bemenetről számolt be az asszociációs thalamusmagokból induló útvonalak esetében, mint a thalamus sensoros magjaiból felszálló afferenseknél (Darian-Smith és mtsai, 1999; Van Horn és Sherman, 2004, 2007; Lee és Sherman, 2008; Sherman és mtsai, 2011). A modulátor jellegű visszacsatolt és a „meghajtó" jellegű előrecsatolt kapcsolatok neuronális összefüggései (Crick és Koch, 1998) ugyanakkor nem egyértelműek és a egy bonyolultabb rendszerben, ami az agyi hálózatokra elmondható, a kapcsolatokat ily módon nem lehet csupán az előre- és a visszacsatolt kapcsolatok klaszterében osztályozni. Erre utal, hogy patkányban más jellegű eloszlást találtak erre vonatkozóan, mivel a kis terminálisokkal végződő corticothalamicus projekciókat nagyobb arányban a thalamus alacsonyabb rendű magjaiban, a ventrobasalis complexumban (VPL és VPM), míg a nagyobbakat a thalamus posterior magjaiban írták le (Hoogland és mtsai, 1991). Ennek funkcionális jelentősége lehet a térbeli és az időbeli felbontás megnövelésében (Hoogland és mtsai, 1991).

A somatosensoros kéreg szinaptikus tulajdonságai főemlősök esetén kevéssé ismert és corticocorticalis nagy terminálisok ultrastruktúrájáról nem született tanulmány. Kísérleteinkben így fontosnak és érdekesnek találtuk megvizsgálni Br3b-ben és Br1-ben a szinaptikus szerveződést a jelölt axonvégződések esetén.

2. táblázat. *A glutamáterg pályák két csoportjának anatómiai és szinaptikus tulajdonságaik összefoglalása. Vieane és mtsai (2011) nyomán.*

	Első csoport (driver)	Második csoport (modulátor)
Anatómiai jellegek	Nagy vagy kis terminálisok Proximális dendritekkel képzett kapcsolat Vastag axonok	Kis terminálisok Distalis dendritekkel képzett kapcsolat Vékony axonok
Szinaptikus jellegek	Nagy EPSP Párosított pulzusú depresszió Ionotróp glutamáterg receptorokat aktivál	Kis EPSP Párosított pulzusú facilitáció Ionotróp és/vagy metabotróp glutamáterg receptorokat aktivál



8. ábra. *Az ismert terminális anatómiával (bouton nagyság) és szinaptikus jellegekkel rendelkező glutamáterg útvonalak a thalamusban és a kérgi hálózatokban (Liu és mtsai nyomán, 2014).*

3. Célkitűzések

Br3b és Br1 receptívmező tulajdonságai alapját képező anatómiai mikrohálózatokat korábban nem vizsgálták és kevés a somatosensoros kérgen belüli lokális hálózatokról szóló munka (Juliano és mtsai, 1990; Burton és Fabri, 1995). Így kísérleteink között szerepelt Br3b és Br1 lokális **intraáreális** kapcsolatainak vizsgálata. Az **interáreális** kapcsolatokat illetően habár ismert, hogy Br3b és Br1 között erős, topografikusan rendezett reciprok és foltszerű kapcsolat van (Burton és Fabri, 1995; Manger és mtsai, 1997), ezeknek a kapcsolatoknak a nagy felbontású funkcionális térképekhez viszonyított eloszlási mintázatát eddig nem vizsgálták. Kísérleteinkben kétirányú neuronális pályajelölő anyag (BDA) segítségével vizsgáltuk Br3b és Br1 horizontális, áreán belüli és áreák közötti funkcionális reprezentációkhoz (elektrofiziológia és optical imaging segítségével azonosított kéz reprezentációs térképéhez) illesztett összeköttetéseit. A tapintásban fő szerepet vivő ujjbegy kérgi reprezentációs területeire fókuszáltunk, amelyet funkcionális térképek alapján határoztunk meg. Fénymikroszkópos szinten a kapcsolati mintázatokat térképeztük, majd tovább karakterizáltuk a kapcsolatokat: a jelölt afferensek szinaptikus kapcsolatait vizsgáltuk elektronmikroszkóppal.

1. Az intra- és az interáreális összeköttetések bemeneti és a cél preferenciáját kívántuk meghatározni Br3b-ben és Br1-ben somatotop reprezentációk alapján.
   i. A funkcionális somatotop térképekhez illesztett retrográd jelölt neuronok mintázatát összehasonlítottuk a kétdimenziós sűrűség térképeken.
   ii. Az anterográd jelölt axonnyúlványok beadási helyhez viszonyított irányát elemeztük. Kíváncsiak voltunk arra, hogy az általunk feltérképezett terminális axonarborizációkon lokalizálódik-e a boutonszerű struktúrák többsége. A gazdag axonelágazódással jellemezhető terminális-szerű foltok méretét, lokalizációját és eloszlását, továbbá a funkcionálisan meghatározott területeken mintavételezett boutonszerű struktúrák sűrűségét meghatároztuk.
2. Vizsgáltuk a két ráea közötti hierarchikus kapcsolat lehetséges anatómiai vonatkozásait.
   i. Megvizsgáltuk a retrográd jelölt neuronok doménképző tulajdonságát (modularitását); a távolság függvényében mért neuronsűrűséget

összehasonlítottuk a két áreában. Így kívántuk megvizsgálni Br1 és Br3b receptívmező tulajdonságai közötti fiziológiai különbségek (szeparált szubmodalitás domének) hátterében álló kapcsolati mintákat.

ii. A horizontálils metszéssík miatt a rétegeloszlás nem pontos. Ennek figyelembevételével megközelítő jelleggel tipizáltuk a feedforward és feedback útvonalakat a retrográd és anterográd jel rétegeloszlása alapján. Összehasonlítottuk a két beadás esetén a supragranularis neuronok (SLN), valamint a supragranularis terminális arborizációk (SLP) arányát.

iii. A már publikációkban leírt kérgi nagyítási faktorból (CMF) kiszámoltuk a jelölt kérgi struktúra által reprezentált bőrfelületet Br3b és Br1 beadások esetén és összehasonlítottuk őket.

iv. Célunk volt a jelölt intra- és interáreális afferensek különböző méretű terminálisainak azonosítása, horizontális és lamináris eloszlásuk feltérképezése, valamint ultrastruktúrális tulajdonságaik kvantitatív jellemzése háromdimenziós szerkezetük alapján. A fénymikroszkóposan feltérképezett óriás terminálisszerű struktúrákat elektronmikroszkóp alatt azonosítottuk ultrastruktúrális tulajdonságaik alapján. A meghatározott paraméterek: posztszinaptikus struktúra típusa, a jelölt terminális mérete, a benne levő mitokondriumok száma, a szinaptikus membrán specializáció száma, hossza. A vizsgálatokat azon állatokon végeztük, amelyekben az intra- és interáreális kapcsolatokat feltérképeztük.

4. Módszerek

4.1 Állatok és tartási körülmények

A kísérlet során vizsgált állatok 600-800 g súlyú, 2-9 éves hím (Mc, Mo és P) és nőstény (J, M és V) mókusmajmok (Saimiri sciureus) voltak.
Az állatházban 22±2 °C hőmérséklet, valamint 50-60%-os páratartalom volt biztosítva. Az kísérleti állatok a korábbiakban semmilyen kezelésben vagy vizsgálatban nem vettek részt.

A tartási és műtéti eljárások az IACUC (Institutional Animal Care and Use Committee) valamint a NIH (National Institutes of Health) előírásainak megfelelően történtek. A kísérletek a Vanderbilt Egyetem Pszichológia Tanszékének (USA, Nashville, TN) együttműködésével valósultak meg.

4.2 Műtét

Az állatok kezdeti altatása ketamin-hidrokloriddal (10 mg/kg) történt. Az intubálás miatt bekövetkezett nyáktermelés csökkentésére atropint (0,05 mg / kg) kaptak. Sztereotaxikus készülékbe helyezésük után az anesztéziát izoflurán (0,9-1,3%) inhalációval tartottuk fent. Az életjelek (vér oxigén-telítettsége (SpO_2), pulzusszám, EKG, EEG, kilégzésvégi CO_2, (ET-CO_2), légzés, hőmérséklet) folyamatos megfigyelés alatt álltak. A testhőmérsékletet 37,0-38,5 ^{o}C között tartottuk keringő víztakaró segítségével (Gaymar Industries, Orchard Park, NY, USA). Intravénásán hidratációs Ringer-laktát (2,5%-os dextróz) oldatot kaptak a műtét folyamán (3ml/kg/h).

A craniotomia (Bregmától anteroposterior irányba 6 mm és mediolateralisan 15 mm) és a durotómia a postcentralis somatosensoros kéreg területén történt. További tájékozódási pontként a pia mater vererei szolgáltak. A neuronális jelölőanyag beinjektálása után a feltárt terület védelmére mesterséges durát helyeztünk el, majd a leválasztott koponyacsontdarabot cementtel rögzítettük. A bőr összevarrása és az állatok felébresztése után a posztoperatív fájdalom kezelésére érzéstelenítőt adtunk nekik.

4.3 Funkcionális térképezés

A szakirodalomban kevés a kombinált anatómiai és funkcionális vizsgálat a postcentralis somatosensoros kéregben. A tapintási funkció és a struktúra illesztése nem

tökéletes e munkákban, mivel többségük koronális metszéssíkot alkalmazott, ami megnehezítette a funkcionális térképekkel való összefüggések megértését. Az anatómiai jelölőanyag beadási helyét elektrofiziológiai mérésekkel azonosították. A kérgi áreák és nagyobb testrészek egymás közötti kapcsolatait, és összefüggéseit vizsgálták (Burton és Fabri, 1995; Krubitzer és Kaas, 1990; Coq és mtsai, 2004; Fang és mtsai, 2002). A funkció és a struktúra illesztését Fang és mtsai (2002) végezték a legprecízebben, aminek a horizontális metszéssík volt köszönhető.

4.3.1 Az área határok és az ujjreprezentációk meghatározása

A patkány somatosensoros kérgének barreljei (Wong-Rilev és Welt, 1980) magas citokróm-oxidáz aktivitásuk segítségével azonosíthatók. Ezzel szemben a főemlősök somatosensoros kérgében nem találtak szomatotópiához köthető vagy modalitásspecifikus neurokémiai markert. Habár a myelinfestés lehetővé teszi a nagyobb testrészek reprezentációs területeinek elkülönítését, mint a kéz és az arc reprezentációit, az egyedi ujjreprezentációk és a proximodistalis részek azonosítására nem alkalmas (Jain és mtsai, 1998). Az optikai képalkotó- ("intrinsic optical imaging signals", IOS) és/vagy elektrofiziológiai módszerek segítségével lehetséges a kéz szomatotóp reprezentációs régióinak feltérképezése a postcentralis somatosensoros kéregben (PS). Ezek a technikák kiegészítik egymást: az elektrofiziológiai lehetővé teszi az egysejtaktivitás mérését; míg az IOS módszer metabolikus jelet mér (mely a populációs aktivitással korrelál) és magas térbeli felbontású funkcionális térképeket eredményez. Ez utóbbi megközelítés nagyszámú ismételt stimulálást igényel, viszont jól illeszkedik az elektrofiziológiai módszerekkel nyert térképekhez (pl. Chen és mtsai, 2001, 2003; Friedman és mtsai, 2008).

Tanulmányaink során optical imaging és elektrofiziológiai technikákat is használtunk. A receptív mezők részletes elektrofiziológiai térképezése (lásd később) számos elektróda penetrációt eredményez, amely esetleges szöveti károsodás révén akadályozhatja a tracer transzportját. Ennek elkerülése végett igyekeztünk a minimálisan szükséges penetrációt alkalmazni (200-500 μm mélyen) a hat esetben: részletes térkép Mc-ben (42 penetráció), M-ben (44 penetráció), csak néhány penetráció V (4) és korlátozott számú J (8) Mo (22) és P (27) esetén.

A kéz és az ujjbegy reprezentáció területeinek elektrofiziológiai feltérképezése után Br3b és Br1-ben optical imaging segítségével határoztuk meg a D2-D4 ujjak reprezentációs területeit (Chen és mtsai, 2001, 2003, Friedman és mtsai, 2004). A durva térképezéshez, az ujjak pozíciójának megállapításához hurkapálcikával ingerelt aktivációnak a mérése elektrofiziológiával történt. A neuronális jelölőanyagokat ezután injektáltuk be a meghatározott distalis ujjbegyek reprezentációs területeibe Br3b és Br1-ben.

4.3.2 Ujjbegy stimulálása

Grass 88 ingerlővel (Grass-Telefactor, West Warwick, RI, USA) hajtott piezokerámiásan működő szerkezethez kapcsolt (Noliac, Kvistgaard, Denmark) 2 mm-es átmérőjű rúdhoz rögzítettük gyurmával az ujjakat (D2-D4). Az ujjak a körmök felőli oldalukon voltak rögzítve, így az ujjbegyek taktilis stimulálásához a csupasz felületek szabadon maradtak (13B. ábra).

A taktilis ingert egy 3 másodpercenkénti 8 Hz-es négyszögimpulzus-sorozattal képeztük (impulzus időtartama 30 ms, amplitúdója 0,48 mm). A szünetben, illetve az ingerlés nélküli (vak) állapotban a szonda finoman érintkezett a bőrrel.

4.3.3 Mikroelektródás elektrofiziológiai térképezés

Anatómiai tájékozódás alapjaként a sulcus centralis lateralis vége szolgált: ahogy általában megfigyelték mókusmajmokban, a Br3b a sulcus centralistól rostrolateralisan, Br1 caudolateralisan helyezkedik el. A superficialis corticalis rétegekbe behelyezett volfrám mikroelektródok segítségével történt a postcentralis somatosensoros kéreg térképezése. Az egy sejt aktivitásért felelős bőrterület azonosítása az ellenoldali kéz ingerlésével történt, míg audio erősítő segítségével lehetett azonosítani a tüzelő neuronokat.

A Br3b neuronokat a Br1 idegsejtjeihez képest kisebb receptív mezőtulajdonsággal rendelkező egyszeri- és többszörös- valamint finom érintésekre adott válaszok határozták meg. Br1 Br3b-től caudalis irányba található; míg Br3a Br3b-től rostralis irányba (Chen és mtsai, 2001, Friedman és mtsai, 2004, 2008; Sur és mtsai, 1982). Br2 rostralis határa Br1 distalis ujj reprezentációs területének caudalis régiója.

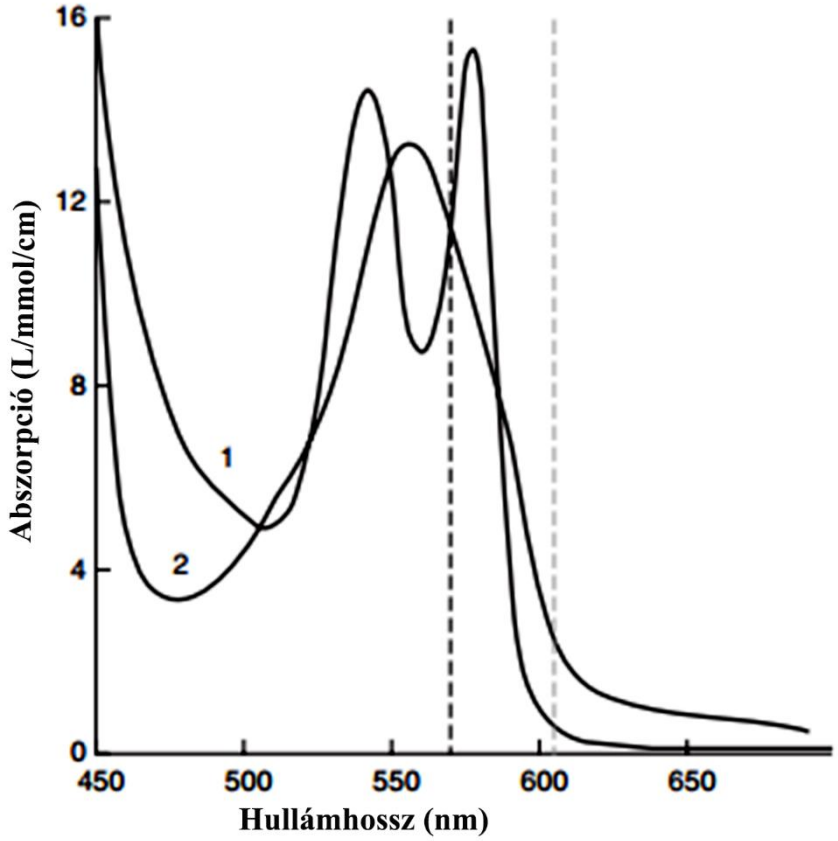
4.3.4 Képalkotás és képanalízis

Az „intrinsic optical imaging signals” (IOS) egy olyan képalkotó eljárás, amely az agykérgi aktivitással összefüggő metabolikus jelet mér az fMRI-hoz hasonlóan, de annál jobb térbeli és időbeli (fMRI: 1-4 mm, 100-1000 ms; IOS: 10 µm, 100 µs) felbontással rendelkezik. Sejtpopulációs aktivitással összefüggő reflektancia változásokat mér, melyek a dezoxihemoglobin-koncentráció megváltozásával összefüggő oxi- (HbO_2) és dezoxihemoglobin (Hbr) arány eltéréséből adódnak. Az 570-630 nm-es (vörös) hullámhosszon a rendszer Hbr változásokra a legszenzitívebb, mivel Hbr erősebben abszorbeál ezen a hullámhosszon, mint a HbO_2 (9. ábra). A válasz ezen a hullámhosszon kétfázisú: az elsőben csökken a reflektancia a megnőtt Hbr koncentárió és fényelnyelése következtében, melyet reflektancianövekedés követ. Az első metabolikus aktivitással függ össze, a második pedig a vérátáramlás megnövekedésével. A CCD kamerafelvételeken az aktiválódott terület sötétebb lesz (10D ábra).

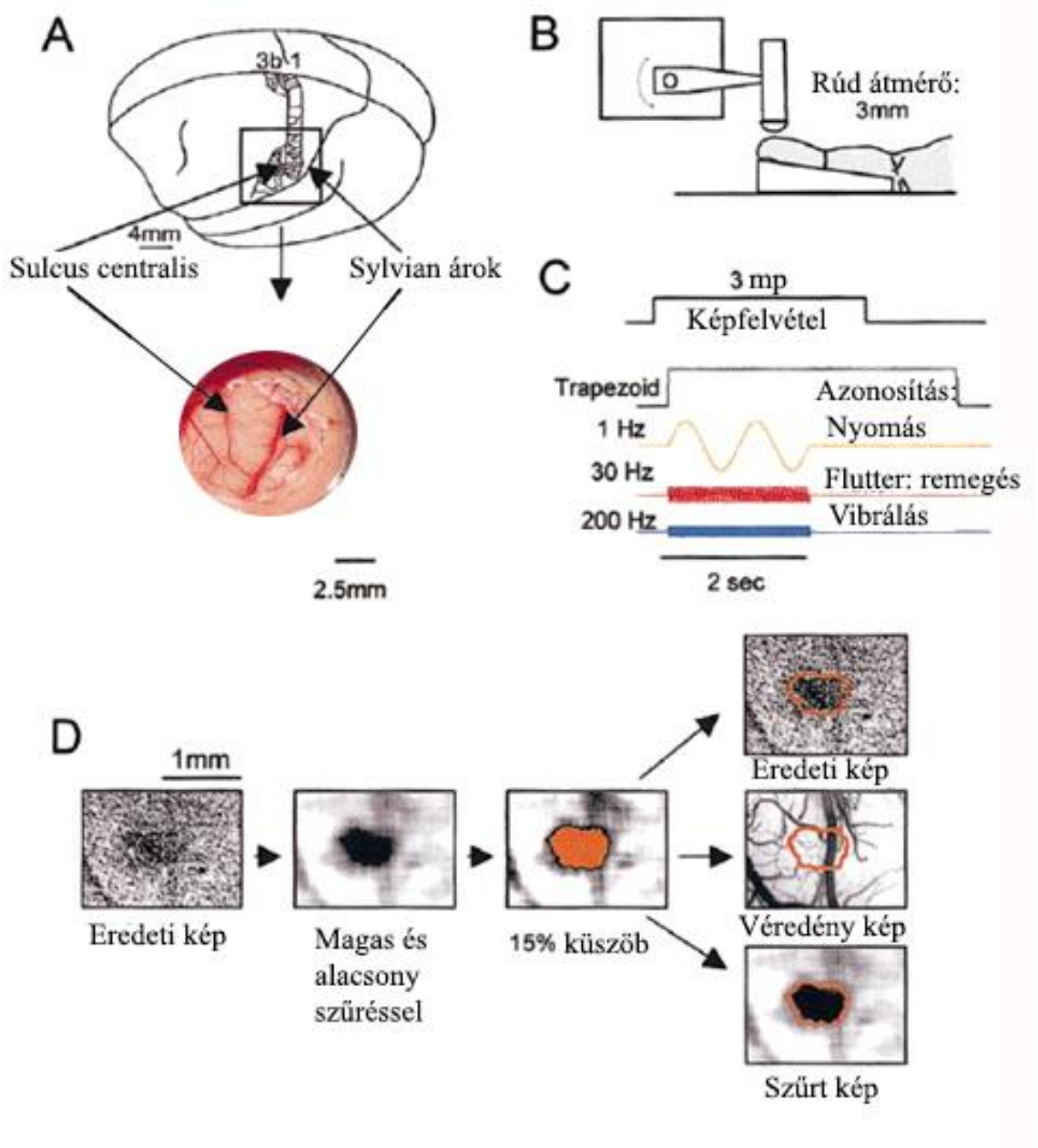
A képek 630 nm hullámhosszúságú megvilágítással CCD kamerával és CortiPlex szoftverrel (Redshirt Imaging, Decatur, GA, USA) készültek. A makrotandem lencse kombinációjának segítségével lett begyűjtve a visszavert fény, melynek többsége a kéreg felső 500 µm-ről származott (Grinvald, 1999). A viszonyítási alapként szolgáló felszíni horizontális véredénytérkép 570 nm-es megvilágítás alatt készült (a dezoxi és oxihemoglobin abszorpciója ezen a hullámhosszon egyenlő; 9. ábra).

A taktilis ingerek véletlenszerűen átlagolt módon 4 kondíciót tartalmazó blokkokban lettek alkalmazva (pl. proximális, középső, distalis oldalak egyetlen ujjon és egy vak, stimulus nélküli kondíció vagy D2-, D3-, D4-es distalis ujjpárna és vak). A stiumulust követő intrinsic jel 3 secundumig tartott (reflektanciacsökkenés). Egy képkocka 200 ms-t jelentett. Egy próbához/kondícióhoz (pl. D2 ingerlése) tartozó IOS képsorozat 15 képkockából állt (5Hz). Ilyen 30-50 próba lett átlagolva, a jel/zaj arány megnövelése érdekében. Egyezményesen 6-15 képkocka került átlagolásra. Ezek a stimulus nélküli kondícióval (első képkocka) össze lettek hasonlítva. Ez segített maximalizálini a jel/zaj arányt. A vérerekből adódó melléktermék csökkentése érdekében az első képkockát kivontuk (3 secundumig tartó stimulus nélküli képfelvétel). Az inter-stimulus intervallum 8-10 szekundum volt. A legerősebb aktivációs területek azonosítása végett a képek 4 pixeles szűrővel lettek szűrve és a küszöb a szürkeárnyalatos pixeleloszlás felső 15%-a értékénél lett meghatározva (Chen és mtsai, 2001; Friedman és

mtsai, 2004). A jel megbízhatóságának és sűrűségének igazolására az optikai képek képkockáról képkockára (frame-to-frame) történő időbeli lefutása lett értékelve és a próbák különböző blokkjainak összegzésével kapott képek lettek összehasonlítva (Chen és mtsai, 2001; Friedman és mtsai, 2004)



9. ábra. *Az oxi- (1) és dezoxihemoglobin (2) abszorpciós görbéje. A baloldali vertikális, szaggatott vonal egy izobesztikus hullámhosszt jelöl (570 nm), ahol az oxi- és deoxihemoglobin abszorpciója egyenlő. A jobb oldali, halványabb vertikális szaggatott vonal a leggyakrabban használt 605 nm-es hullámhosszt jelöli (Hallum és mtsai nyomán, 2006).*



10. ábra. *Az Intrinsic Optical Imaging Signals (IOS) és a taktilis stimuláció módszere.* ***A:*** *A felvételre kerülő área felülnézete. Az agykoponya felnyitása (craniotomia) az elülső parietalis kéreg felett történt, a sulcus centralis és a Sylvius árok által körbezárt területen, a kézreprezentációhoz közel. Az optikai kamra a feltárt terület felett. Ez a kép Br3b ujjbegyrégiójáról készült.* ***B:*** *Az ingerlő felszerelés. Az ujjbegyet 3 mm átmérőjű teflonrúd segítségével ingerelték.* ***C:*** *stimulus hullámalakok. Trapezoid alakú feszültséget (lila vonal, 150 g/s, amplitudo: 30 g. Kb. 0,79 mm, teljes időtartam 4s) alkalmaztak a somatosensoros kérgi struktúra feltérképezéséhez. A nyomás érzetét kelti emberben az 1 Hz-es vibrotaktilis stimulus (sárga, 1 Hz, 20 g erősségű, 0,45 mm), a remegés („flutter”,*

piros, 30 Hz, 6 g, 65 mm) és a vibráció (kék, 200 Hz, 1,6 g, 12 mm). A stimulus 2 sec-ig tartott. A kép felvétele a stimulus előtt 200 milliszekundummal kezdődött és 3 szekundumig tartott. ***D:*** *standard képanalízis. 15 %-os küszöbérték feletti aktív zóna kiszűrése (narancssárga). A határ a narancsszínű área, az összehasonlításhoz a feldolgozatlan képpel lett összeillesztve a véredénytérkép (Chen és mtsai nyomán, 2001).*

A Br3a/Br3b área határ a Br3b-ben reprezentált ujjbegy rostralis szélére lokalizálódott. A Br3b/Br1 área határ az ujjbegy aktivációk között kb. középen, a tenyér reprezentációjánál helyezkedett el az Br3b és Br1 között. Ezek a mérések egybeesnek az elektrofiziológiai térképekkel (lásd alább).

4.4 Pályajelölőanyag beadása

Az IOS és elektrofiziológia segítségével azonosított distalis ujjbegy reprezentációs területeire 3K és 10K molekulasúlyú biotinilált-dextrán-amin (BDA) 1:1 arányú keverékét injektáltuk be iontoforézissel, melyet 0,01M foszfát pufferben oldottunk fel előzőleg (PB, pH 7.4) (10% 10K és 10 % 3K molekulasúlyú BDA, Molecular Probes, Inc, Eugene, OR, USA; végső koncentráció 5% mindkettőre). Az iontoforézis 20 percen át tartott 3 µA árammal, 5-7 másodperces on/off ciklussal. Br3b esetén a kéreg felszín alatt 400 µm-re, Br1-ben 750 és 350 µm mélyre adtunk be. A beadást a 2-es (D2t; Mc, J, V, M, P) és a 4-es (D4t; Mo) ujjbegy reprezentációjának helyén végeztük (PS SAI szenzitív régiói).

A pályajelölő anyagok felszívása a beadás előtt közvetlenül történt. Frontfield és backfield módon, azaz elölről és hátulról töltöttük fel a kapillárist, sztereomikroszkóp alatt ellenőrizve a buborékmentes feltöltődést. A beadás paramétereit és jellemzőit a 3. táblázatban foglaltuk össze.

4.5 *Perfúzió és metszés*

10-20 napos túlélés (J:10 nap, Mc:14 nap, V:20 nap, M: 14 nap, Mo: 16, P: 10 nap) után transcardialis perfúziót végeztünk. Ez az intervallum lehetővé teszi a neuronális jelölőanyag (BDA) megfelelő transzportját a sejttestekbe és az axonterminálisokba egyaránt. Az állatok altatása nátrium-pentobarbitállal (Nembutal, Sanofi, 50 mg/kg intraperitonealisan) történt. A mellüreg megnyitása és a szív szabaddá tétele után a szív bal kamrájának csúcsi részénél kisebb vágás után behelyeztük a perfúziós oldatot továbbító kanült, melyet a felszálló aorta szájához vezettünk. A leszálló aorta törzsi részét elszorítva biztosítottuk a felső testrész hatékony perfúzióját. A perfúzió 300 ml 4°C-os fiziológiás sóoldattal (0,9 %-os NaCl desztillált vízben) kezdődött, mely után 1000 ml 4%-os paraformaldehidet (PFA), 0,1%-os glutáraldehidet és 0,2%-os pikrinsavat tartalmazó (0,1 M PB-ben, pH 7,3) fixálót áramoltattunk át az állaton. Az agyakból, a koponyából való eltávolításuk után a vizsgálni kívánt régiókat (Br3b, Br1, Br2 és Br3a) tartalmazó részt kivágtuk, enyhe nyomással kiegyenesítettük és 4%-os paraformaldehidben (0,1 M PB-ben, pH 7,3) egy éjszakán át utófixáltuk. Az agyakból ezután sorra kétszer 50 µm és háromszor 20 µm vastagságú ismétlődéssel tangenciális metszetsorozatot készítettünk. Az agyfelszíntől számított 2 x 100 µm vastag metszet után következtek a vizsgált sorozat metszetei. A blokk tetejéről levágott 100 µm vastag metszetek az arachnoideális (1. metszet) és részben a neurális szövet tetejéről (2. metszet) származtak. Ezekben a metszetekben a vérerek többsége párhuzamosan fut az agyfelszínnel, amely jellegzetes mintázattal rendelkezik minden egyes állatra nézve. A véredénytérkép nyújtott segítséget a funkcionális térképek anatómiai térképekhez való illesztéséhez (lásd alább). A mélyebb metszetekben (4. metszettől) a függőleges irányba futó nagyobb erek hosszan követhetőek a sorozatmetszeteken, amely ezek pontos összeillesztésében adott támpontot.

4.6 *Szövettani eljárás*

A BDA jelölés láthatóvá tételére standard ABC protokollt (Avidin és Biotinilált peroxidáz komplex, Elite kit, Vector Laboratories, Inc. Burlingame, CA, USA) használtunk nikkel-intenzifikált diaminobenzidin (NiDAB) (Sigma-Aldrich Kft, Budapest) kromogén segítségével.

Az ultrastruktúra megőrzése (elektronmikroszkópos vizsgálatok) és penetráció egyidejű elősegítése érdekében nem detergenst alkalmaztunk, hanem annál kíméletesebb fagyasztás-felengedés technikának vetettük alá a krioprotektáns oldattal (30%-os cukoroldat, PB-ben; a jégkristályképződés gátlásához) kezelt metszeteket. Borohidrid oldatban inkubáltuk (1 % NaBH4 PB-ben) 30 percig szobahőmérsékleten a szabad aldehid csoportok semlegesítésére és 1%-os H_2O_2 oldatban (PB-ben) 30 percig az endogén peroxidáz aktivitás blokkolására. A metszeteket egy éjszakán át tartottuk 4 ˚C-on avidin-biotin-peroxidáz komplex (ABC) oldatában (1:200 PB-ben, 0,1 M, pH 7,4). A peroxidáz reakció Tris pufferben oldott nikkel-diaminobenzidin tetrahidroklorid (0,4 % Ni, 0,025 % 0,05 M-os DAB) és hidrogén-peroxid (0,0015%) jelenlétében zajlott. A NiDAB reakció során pH8-on sötétkék csapadék képződött. Tris-el való mosásokat követően a metszeteket ozmiumtetrakloriddal kezeltük (1% OsO4 és 5% szacharóz PB-ben) 60 percen keresztül. Ennél a lépésnél fokozottan ügyeltünk már a metszetek egyenletes kiterítésére az üvegek alján. (Az ozmiumtól a metszetek keménnyé és törékennyé váltak). A felszálló alkoholsorral történő dehidratálás (minden lépés 10 percig tartott, kivéve a 70%-os etanolt és abszolút alkoholt, ahol 2x10 percet alkalmaztunk) után a metszeteket 2x3 percig propilénoxidban inkubáltuk, ügyelve az időkeret pontos betartására, majd propilénoxid és gyanta (Durcupan, Sigma-Aldrich Kft, Budapest) 1:1 arányú keverékében 30 percig hagytuk állni. Ezt követte újabb 30 perces gyantában való infiltrálás 60 ºC-on mártott tárgylemezeken (liquid release agent, Electron Microscopy sciences, Hatfield, PA, USA). A gyantába ágyazás további elektronmikroszkópos vizsgálatok végzéséhez és a szöveti torzulások csökkentése végett történt (lásd alább).

A fénymikroszkópos értékelés után, a szövetből elektronmikroszkópos vizsgálatra kiválasztott régiókat vágtunk ki és gyantablokkokra ragasztva ultravékony metszet-sorozatot készítettünk a nagyobb boutonszerű struktúrákról, valamint a környező kis boutonszerű képletekről. A sorozat ultravékony, 60 nm-es vastagságban lett összegyűjtve hártyás gridekre. Az ultravékony metszetek utókontrasztozása ólomnitrát oldattal történt: 133 mg ólmot 4,2 ml desztillált vízben oldottunk fel. 176 mg trinátrium-citrát hozzáadása után a tejszínű oldatot 0,8 ml 1N NaOH-val (30 %) újra átlátszóvá tettük. Az ultravékony metszeteken az ólomreakció 2 percig tartott, mely után ultratiszta desztillált vizes mosást alkalmaztunk.

4.7 Adatelemzés

4.7.1 BDA jelölés térképezése

A BDA jelölés feltérképezését Neurolucida programmal (MicroBrightField Europe, E. K. Magdeburg, Germany) és Olympus mikroszkóppal végeztük, amely motorizált tárgyasztallal van felszerelve (MultiControl 2000, Marzhauser Wetzlar GmbH&Co.KG, Wetzlar, Germany). A sejttestek által preferáltan felvett 10K BDA anterográd transzport segítségével az axonokat valamint az axonvégződéseket tette láthatóvá, a neuronok axonterminálisaik által felvett jelölőanyagot (preferáltan a 3K BDA) retrográd módon a sejttestbe transzportálták. A retrográd jelölt neuronokat 10x-es és 20x-os objektív segítségével térképeztük fel.

Kétféle anterográd jelet azonosítottunk: az egyiket a hosszan követhető rostok adják (rostos területek), a másikat a foltokat alkotó terminális arborizációk által képzett célterületek, ahol az axonok finom ágakra bomlanak és számos boutonszerű struktúrát képeznek.

A terminális arborizációk foltos elhelyezkedése már régebbi somatosensoros kéregjelölés-vizsgálatok óta ismert; (Kubitzer és Kaas, 1990; Lund és mtsai. 1993; Manger és mtsai. 1997). Lund és munkatársai (1993) megállapították, hogy az anterográd jelölődött terminális arborizációk a somatosensoros kéregben kevésbé szembetűnők, mint a látókéregben. Ezek ellenére a terminális arborizációk térképezése kis nagyításon is elvégezhető nagy sűrűségük miatt. Jelen esetben körülhatárolásukat kézzel végeztük. A neuronális rostokat 20x-os és 40x-es objektív nagyításon rekonstruáltuk, míg a terminális arborizációk (lásd Eredmények) vizsgálata és körberajzolása minden egyes metszeten 10x-es és 20x-os nagyításon történt. Az egyedi terminális foltok megmérése a Neurolucida Explorerben történt a Feret maximum és Feret minimum paraméterfunkciók használatával (Négyessy és Goldman Rakic, 2005). A Feret az érintők közötti átmérő, mely jól alkalmazható szabálytalan alakok méretének meghatározására. A Feret maximum és minimum átlagát számoltuk az összehasonlító elemzésekhez.

A boutonszerű struktúrák eloszlássűrűségének kvantitatív analízisével a corticalis kapcsolatok specifitásának funkcionális feltárása lehetővé válik (Kisvárday és mtsai, 1997; Buzás és mtsai, 2006). Kisvárday (1997) és Buzás (2006) boutonszerű struktúrák teljes mennyiségével számol a lokális és a horizontális kapcsolatok mentén. Ugyanakkor

jelen tanulmányunkban, ahol nagyobb áreák vizsgálatát tűztük ki célul, ez a megközelítés nem megvalósítható. Hogy kiküszöböljük ezt a nehézséget, a boutonszerű struktúrák számolását szelektált régiókon belül végeztük: a lehetséges célterületen, illetve a BDA jelölődést nem tartalmazó részeken. Az axon terminális-szerű struktúrák sűrűségének mintavételezése 100x-os objektívvel történt a metszet teljes mélységében három szomszédos 50 µm-es kockában (50^3 μm^3) minden metszeten meghatározott régiókon: a terminális arborizációkat (F: foltos), hosszú axonokat tartalmazó (R: rostos), illetve BDA jelölés-mentes (SM: sejtmentes) területeken. Az egymást követő metszeteken olykor különbözőképpen kellett elhelyezni az 125000 μm^3 térfogatú kockákat, hogy elkerüljük egy szelektált régión (pl. rostos) belülre más struktúra (sejtmentes) is kerüljön. A három mintakocka relatív helyzete nem változott egy metszeten belül. Boutonszerű képleteket minden áreában (Br3b, Br3a, Br1 és Br2) számoltunk az egyes kategóriában (SM, R, F). A Br3b beadás esetén összesen 18624 boutonszerű struktúrát számoltunk 49 régióban (18 F, 16 R, 15 SM területen). Br1 beadás után pedig 3712 boutonszerű struktúrát 37 régióban (19 F, 14 R, 4 SM területen).

A mintavételezett áreák száma a terminális arborizációkon kívül majdnem kétszer annyi volt, mint a terminális folton belül. A különböző régiókban és metszetekben való boutonsűrűségek összehasonlításához átlagot és szórást számoltunk.

Az óriás boutonszerű struktúrákat (> 2 µm) 20x-os objektívvel detektáltuk és 40x-es, valamint 100x-os objektívvel győződtünk meg nagyobb biztonsággal eredetükről. Ezekről fényképek készültek.

A Neurolucidával készített térképeket Neurolucida Explorer programmal szerkesztettük. A retrográd jelölés sűrűségét Voronoi-diagram segítségével határoztuk meg a sorozatmetszetek kétdimenziós térképein. Ennek során a metszeteket erek, az elektródák szúrt csatornájának és a metszet vágott széleinek segítségével, a metszetek közti távolságot figyelmen kívül hagyva összeillesztettük (ld. alább). A Voronoi-áreák mérete fordítottan arányos a BDA jelölt neuronok sűrűségével. A Voronoi cellák méretét a sorozatban kapott legnagyobb értékkel osztva normalizáltuk, majd kiszámoltuk az átlagot és a szórást a logaritmizált cellaértékekből. A sűrűség megjelenítésére az eredeti Voronoi cellák méretének logaritmusát szürke skálán kódoltuk. A beadási hely körül lévő 250-300 µm-es területet („uptake zone”) kihagytuk az analízisből, mivel itt a jelölőanyag beadása miatt keletkezett sérülések helyén a neuronok direkt módon is felvehették a

jelölőanyagot. Végül szórástérképet készítettünk. Az átlagtól való szórást színskála jelölte. A digitális mikroszkópos képeket Photoshoppal illesztettük össze a Neurolucida-térképekkel.

4.7.2 Rétegeloszlás számítása

A Neuroexplorer program segítségével a térképezés grafikai és kvantitatív adatait kigyűjtöttük. Ez a retrográd jelölt neuronok és az anterográd jelölt terminális arborizációk mennyiségi jellemzőit is tartalmazta.

A supragranularis rétegek (1-3. réteg) és a 4. réteg jelölődött struktúráit használtuk fel az értékek számolásához. A supra- és infragranularis rétegek elkülönítését fénymikroszkóp alatti vizsgálattal végeztük az eltérő méretű piramissejtek és a lateralis kapcsolatok (horizontális axonok) eltérő vertikális megoszlása alapján. Az 1.-3. rétegben kisebb, az 5. rétegben nagyobb méretű piramissejtek találhatók. A 2-3. rétegre jellemző, hogy igen sűrű a retrográd és az anterográd jelölődés és itt található a lateralis kapcsolatok nagy része, míg a 4. rétegben kevés a lateralis kapcsolat.

Ebben a tanulmányban csak megközelítőleg tudtuk megbecsülni a réteghatárokat, mivel a metszés során egyéb vizsgálatokhoz felhasznált metszetek hiányoznak a sorozatból (3x20 µm-es fluoreszcens jelölésekhez és minden második 50 µm PhaL immunreakcióhoz) és a horizontális metszéssík sem ideális a rétegek áttekinthetősége szempontjából. Az áreákhoz tartozó neuron- és terminális folt-szám az áreahatárok körbehatárolásával, a Neurolucida program segítségével lett meghatározva.

4.7.3 SLN és SLP értékek meghatározása

A feltérképezett retrográd neuronok és az anterográd terminális arborizációk számával dolgoztunk tovább az SLN és az SLP értékek kiszámolásához. Az agykérgi áreák anatómiai kapcsolatának leírására alkalmaztuk Barone és mtsai (2000) által bevezetett paramétert, amely a supragranularis rétegekben jelölődött neuronok és terminális arborizációk arányát adja meg. Az SLN és az SLP értékeket a metszetek agyfelszíntől becsült távolságának ismeretében a következő módon számítottuk ki:

SLN=1.-4. réteg neuronjainak száma/összes neuron

SLP=1.-4. réteg terminális arborizációinak a száma/összes terminális arborizáció

4.7.4 Agykérgi nagyítási faktor (CMF) meghatározása

Az agykérgi nagyítási faktort a következőképpen számíthatjuk ki:

CMF= *kérgi felület (mm^2)/reprezentált bőrfelület (mm^2)*

A testfelszín területe az ujjbegy ingerelt területét, az agykérgi terület az ujjbegy ingerelt területének reprezentációs területét jelenti. Jelen vizsgálatunkban az Br3b és Br1 beadásokat hasonlítottuk össze. A Br3b-ben és a Br1-ben retrográd módon legsűrűbben jelölődött területeket kiválasztásuk után lemértük, majd a hozzájuk tartozó bőrfelületet már publikált agykérgi nagyítási faktorérték alapján számoltuk ki (Friedman és mtsai, 2008).

Az optical imaging mérések során alkalmazott ingerlő átmérője (pl. Friedman és mtsai, 2004) d= 3 mm; az ingerelt bőrfelület nagysága T= r2π= 3,14x (1,5 mm) 2= 7,1 mm^2. Az aktív kérgi terület mérete az Br3b-ben= 1,12 mm, míg az Br1-ben= 0,45 mm. Ezek alapján Br3b CMF=1,12/7,1= 0,16; Br1 CMF= 0,45/7,1= 0,06

4.7.5 A fénymikroszkópos sorozatmetszetek illesztése a funkcionális térképekkel

A BDA-jelölt struktúrák feltérképezését a Neurolucida sorozatmetszet rekonstruáló funkciójával végeztük, amely egy illesztett digitális rekonstrukciósorozatot eredményez. Az egyes metszeteket beszkenneltük, hogy a horizontálisan futó felszíni erezet (első két metszet) és vertikális vererek keresztmetszetei segítségével a lehető legpontosabban összeilleszthessük. A két legfelső metszet horizontális érmintázatát összeillesztettük az optical imaging és az elektrofiziológiás mérések alatt az ép agyfelszínről készült digitális fényképekkel. Az egymást követő metszetek összeillesztésénél a beadási hely körüli érmintázatot és a metszetek vágott sarkait, valamint az elektródák szúrt csatornáit használtuk referenciapontként.

4.7.6 Elektronmikroszkópos elemzés és háromdimenziós rekonstrukció

A jelölt nagy és kis boutonokat elektronmikroszkóppal 20 000, 30 000 és 50 000x-es nagyítással fényképeztük le. Szinapszisok és asszociált struktúrák konvencionális kritériumok alapján lettek osztályozva (Peters és mtsai, 1991). A három dimenziós rekonstrukció és mérés a Reconstruct programmal történt. A rekonstruált ultrastruktúrális elemek: A bouton mitokondriumai, célelem posztszinaptikus sűrűsége és a célelemek

(dendrit, dendrittüske). A mért paraméterek: a jelölt bouton átlagos átmérője, térfogata, a mitokondriumainak a száma, azok átlagos átmérője, valamint a szinapszisok száma és posztszinaptikus sűrűsége vastagsága. A végső háromdimenziós képeket a Blender programmal készítettük el.

5. Eredmények

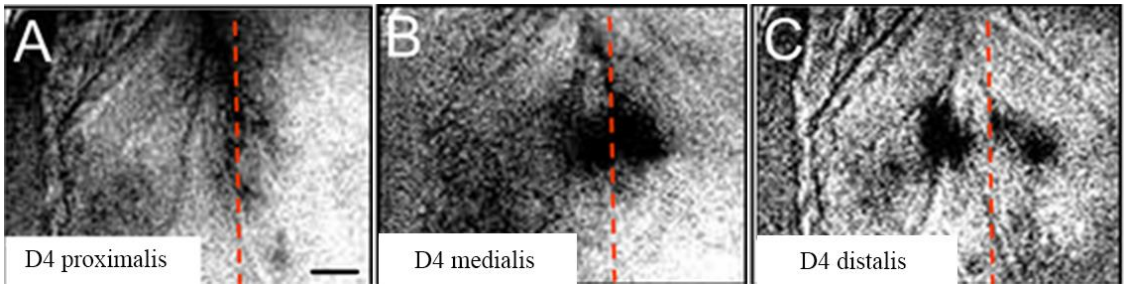
A kéz reprezentációját, a BDA beadások lokalizációját, méretét és a jelölődés általános eloszlását és lokalizációját ismertetem első körben a hat állatban. Majd az área 3b és 1 egymással és a szomszédos áreákkal (Br3a, Br2) alkotott horizontális kapcsolatát, valamint kvantitatív jellemzőit részletezem.

5.1 A pályajelölő anyagok beinjektálásának funkcionális lokalizációja

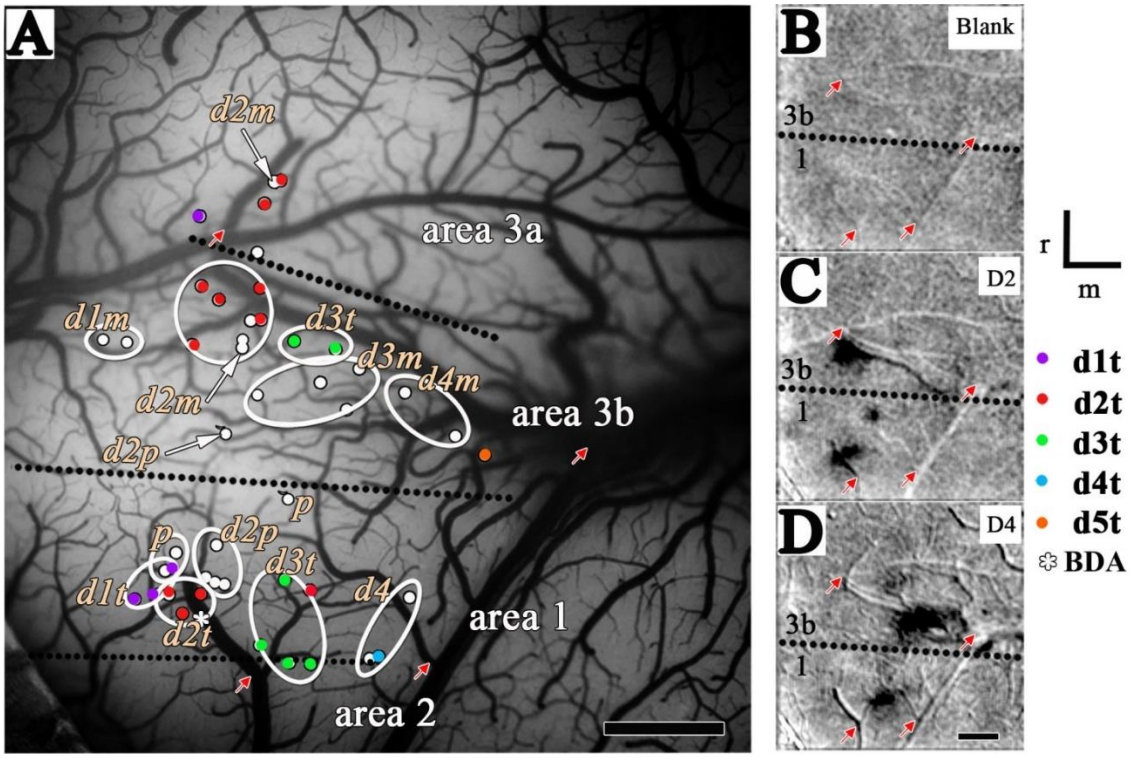
A Br3b és Br1 ujjreprezentációs területei elektrofiziológiai és IOS módszerrel lettek feltérképezve (pl. Chen és mtsai, 2001, 2003; Friedman és mtsai, 2008). A 2-4 ujj (D2, D3 és D4) corticalis reprezentációit lateromedialis irányban térképeztük fel (11. ábra). Emellett proximodistalis topográfia segítségével azonosítottuk a Br3b/Br1 áreahatárt (szaggatott piros vonal; 11A-C). Az IOS mellett elektrofiziológiai térképezéssel azonosítottuk az ingerelt ujjbegyek-reprezentációs területeit (12A ábra). Ez nem csak az optical imaging térképek alátámasztására szolgált, hanem az áreák azonosítására a funkcionális válasz típusának meghatározásával és a receptívmező méret segítségével. A 12A ábra demonstrálja egy példán keresztül (Br1 beadás, M) a Br3b-ben és Br1-ben készült elektrofiziológiai térképet. A receptív mező a két áreában világosan megmutatja a topografikus kiterjedéseket és a taktilis stimulációkra adott válaszokat (12A ábra).

Br3b és Br1 receptívmező tulajdonságai eltérnek (lásd Irodalmi háttér, 6. ábra): Br3b kisebb területre terjed ki egy idegsejt receptív mezeje, Br1-ben a receptív mezők nagyobbak, s több ujjra terjednek ki (Friedman és mtsai, 2008). A Br3b és Br1 határrégió több olyan területet tartalmaz, melyben a receptívmező a tenyérre lokalizálódik, míg Br3b/Br3a határra főleg az ujjbegy régiók esnek (D2t, D3t, D4t, 12B-D ábra). Bőringerléssel Br3a-ból nehéz elektromosan kiváltott választ elvezetni, neuronjai gyakran hosszú stimulációra és csuklómozgásra aktiválódnak (Huffman és Krubitzer, 2001; Krubitzer és mtsai, 2004). Br3a egyes neuronjai hő hatására is ingerületbe hozhatóak (Tommerdahl és mtsai, 1996). Ami a Br1 és Br2 közötti határt illeti, nehezen lehet pontosan meghatározni. Br2 idegsejtjei Br3b és Br1 neuronjainak receptívmezeinél nagyobbal rendelkeznek és Br2-ből jelentősen nehezebb választ kiváltani bőringerléssel, mert neuronjai kevert válaszokat adnak: Br2-ban a receptívmezők D2 ujj alapjára is kiterjednek, amit a csukló mozgására adott válaszban mutatnak az idegsejtek. Ezen kívül a D3 ujj mély receptorainak ingerlésére a tenyér is aktiválódik. Nem részletes a

szomatotópia Br2-ben: D2 ujj felületes bőrreceptorainak az ingerlésére a tenyér reprezentációs területén jelenik meg aktiváció Br2-ben. Pontos határokat állapítottunk meg Br3b/Br3a és Br3b/Br1 között, de az előbb említett okok miatt kevésbé biztosat Br1/Br2, valamint Br3a/Br4 (M1) között. Az iontoforetikus injektálások Br3b és Br1 kérgi területek egy-egy kiválasztott distalis ujjbegy reprezentációs területére történtek (12A, 13, 14 ábra).



11. ábra. *A postcentralis somatosensoros kéreg ujjreprezentációjának IOS képei.*
***A**: D4 proximális, **B**: medialis és **C**: distalis ujjbegyrégiói. A somatosensoros topográfiával megfeleltethető, a proximodistalis aktiváció a Br3b (balra) és Br1 (jobbra) határán mozog (piros szaggatott vonal). Méretarány=1 mm.*



12. ábra. *A somatosensoros kéreg ujjbegy reprezentációjának feltérképezése IOS-al és elektrofiziológiával (M majom).*

A: *A pontok az elektrofiziológiailag azonosított regisztrációs helyeket jelölik. A fehér ellipszisek a hasonló szomatotóp válaszpreferenciával rendelkező funkcionális régiókat fedik le: d1-d5: 1-5 ujjak; d1t-d5t:1-5 ujjbegyek; d2m-d4m: 2-4 ujjak medialis ujjpercei; d2p: 2. ujj proximalis része; p: tenyér. A BDA beadást csillag jelöli a d2t régióban.* ***B:*** *A somatosensoros kéreg IOS képe stimuláció nélkül.* ***C, D:*** *D2 (C) és D4 (D) distalis ujjbegyek stimulálásakor kapott IOS képek. A piros nyilak a viszonyítási pontként felhasznált véredényeket jelölik a képeken. Megjegyzendő, hogy a D2 aktiváció helye más helyen jelent meg a D4-hez képest Br1-ben és Br3b-ben. A szaggatott vonalak a becsült áreahatárokat jelölik. r: rostralis, m: medialis, aránymérték=1 mm.*

5.2 BDA lokalizációja

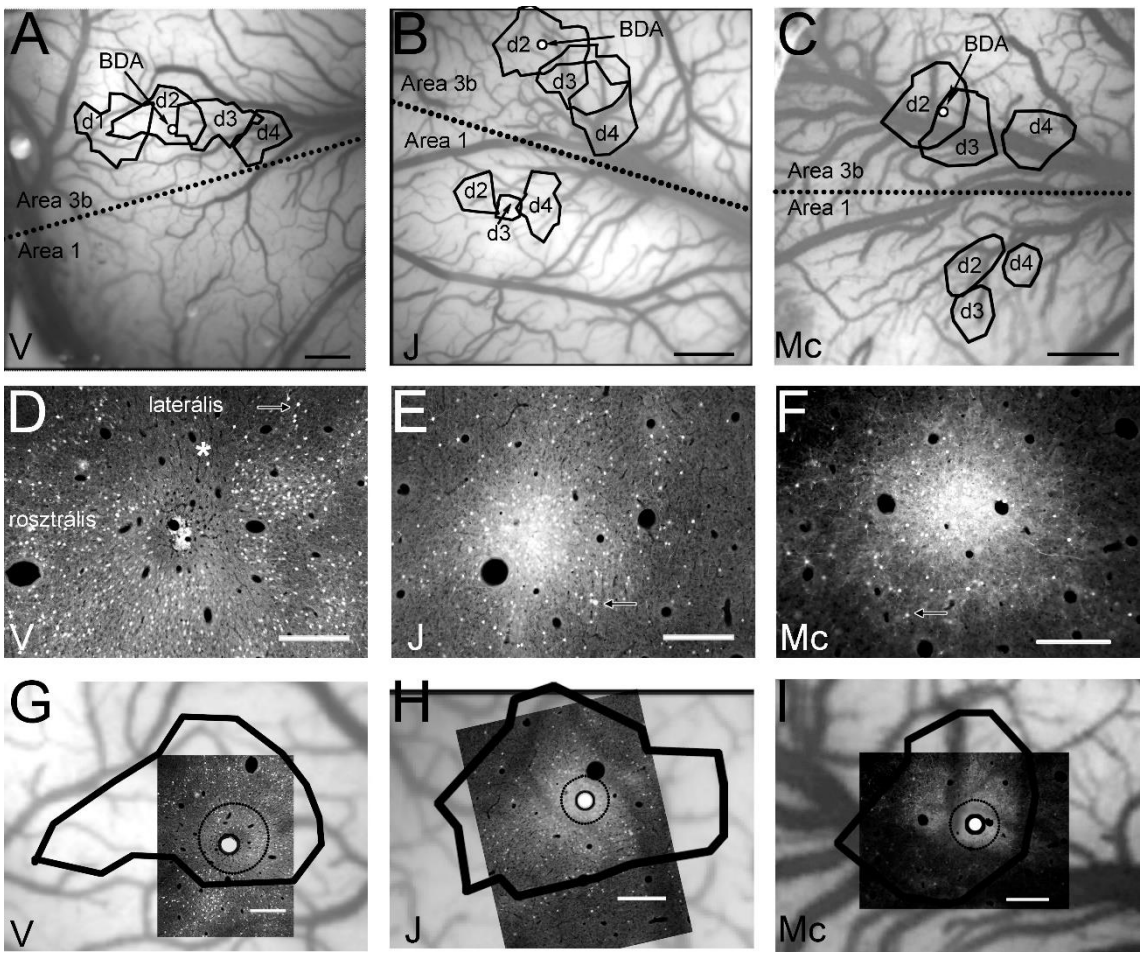
A BDA beadási helyek intenzív, sűrű és diffúz NiDAB jelölődést mutattak mind a hat állatban, s több rétegre kiterjedtek 300-400 µm horizontális terjedelemmel (3. táblázat, 13A-C,14D-F ábra). Ahogy a supragranularis rétegről készült fénykép is mutatja, a beadási hely mérete és lokalizációja hasonló volt, néhány különbséggel az állatok között (13, 14. ábra). A beadást követően J (13B) és Mc (13C) 10 és 14 napos túlélési idő után lettek perfundálva, illetve a 250-300 µm átmérőjű szúrt csatornát egy halványabban jelölt holdudvarszerű gyűrű vette körül, mely neuronális nyúlványok sűrű plexusából épül fel. Mindegyik régió tartalmazott BDA jelölt perykariont. A szúrt csatornán belül a perikaryonok BDA jelölése a közvetlenül a neuronális jelölőanyag felvételéből is adódhattak (pl. sérülés), kikerülve a retrográd transzportot; ezáltal ezeket a jelölt sejttesteket kihagytuk az analízisből. V esetén a szúrt csatorna és az azt gyűrűszerűen körülhatároló régiók kisebb sűrűséget mutattak, mely a hosszabb, 20 napos túlélési idő eredménye lehet (13A). M és P esetében a beinjektált területek homogénebbek voltak, kevésbé elkülönülő szúrt csatorna körüli gyűrűvel. Itt a BDA injekció magját jelöltük meg (14D, F ábra). Elektrofiziológiai elvezetések alapján azonosított D4 distalis ujjbegy reprezentációs területére adtunk be Mo esetén (14B ábra). M és P esetén a beadások kétségtelenül a D1 ujjbegy és a D2 ujj középső részébe is kiterjedtek, illetve a D2 ujjbegy régióba (14A, C ábra). Mo és P esetén az injektálások az IOS térképeken szereplő ingerelt ujjbegyrégió peremére vagy élére kerültek (14H, I ábra).

A beadási hely mérete hasonló vagy kisebb volt, mint az aktiválódott área mérete a hat esetben (13, 14G-I ábra). Ez világosan látszik M esetén, ahol a BDA beadás az ingerelt distalis ujjbegy régión belülre lokalizálódik (14A, G ábra). A szúrt csatorna vertikális kiterjedését a 3. táblázatban tüntettük fel. A beadási helyek magja (szúrt csatorna) a supragranularis rétegre korlátozódtak négy esetben és infragranularis rétegre Mo és P esetében.

3.Táblázat. *A BDA beadásoknak jellemzői.*

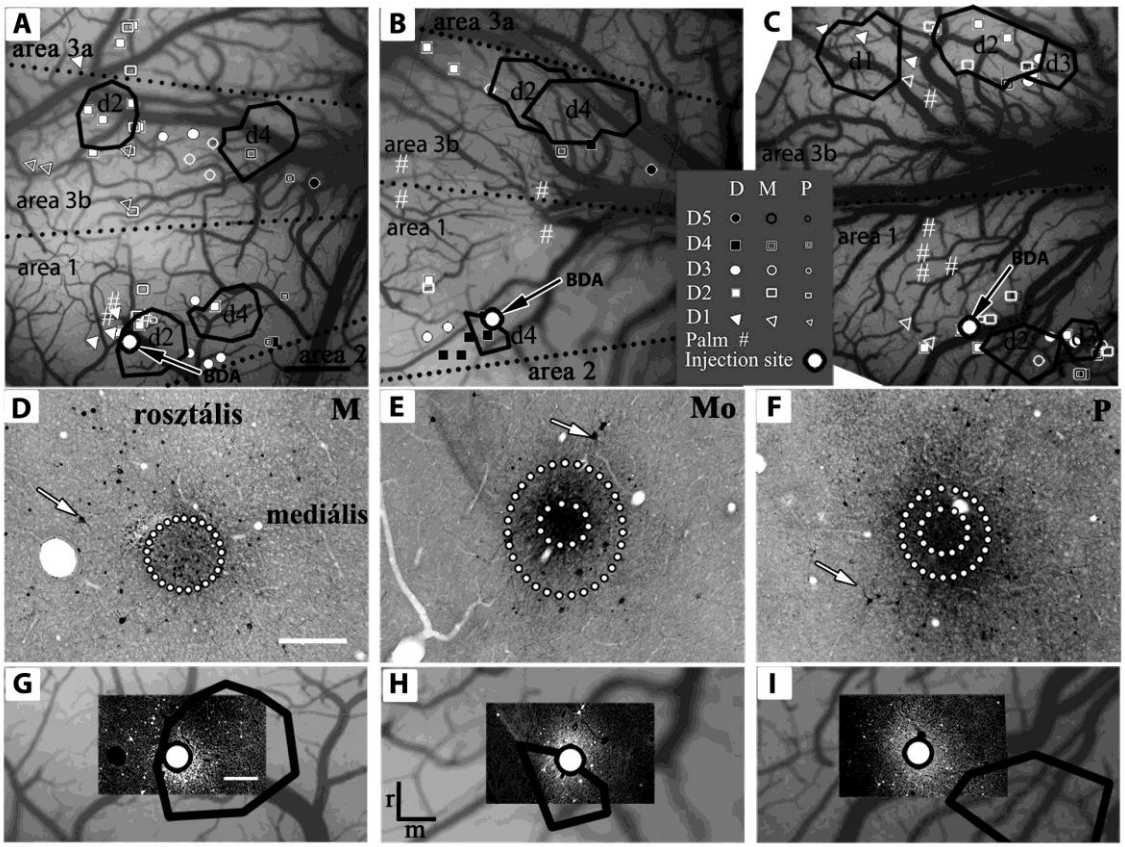
Az értékek µm-ben vannak megadva. Az üvegkapilláris átmérője a beadás után lett lemérve. A végének az átmérője a belső átmérőt jelenti. A beadási mélység a piális felszíntől mért távolságot jelenti, melyet mikromanipulátorral mértünk. A szúrt csatorna átmérőjét a sorozat azon metszetein mértünk, ahol a legsűrűbb és legnagyobb kiterjedésű volt a jel. A szúrt csatorna mélysége megközelítőleges és a legnagyobb értéket mutatja. A beadási és a szúrt csatorna-mélység közötti különbség adódhatott abból, hogy a beadás során az agy pulzált és duzzadt. Mo és P esetén a szúrt csatorna bilaminaris megjelenésű, mivel a szúrt csatornaátmérő kisebb volt 640 µm mélyen, mint a felette és alatta levő metszetek esetén (320 és 800 µm).

	Üvegkapilláris végének a belső átmérő	**Beadás mélysége**	**Szúrt csatorna átmérő**	**Szúrt csatorna mélysége**	**Metszetek száma**	**Granularis réteg mélysége**
Mc	12	350	260	260	5	520
V	20	350	380	390	9	520
J	15-17	350	330	390	10	520
M	30	350, 750	313	320	9	480
Mo	10	350, 750	295	160-800	16	640
P	10	350, 750	403	160-800	10	650



13. ábra. *A beadási helyek, az ujjreprezentációk és az áreahatárok a postcentralis somatosensoros kéregben Br3b beadás esetén.*

A-C**: A fekete körvonalak az ujjbegyrégiókat jelölik, amit intrinsic optical imaging (IOS) térképek segítségével nyertünk. A pöttyözött vonalak az áreahatárokat jelölik.* ***D-F: *Inverz képek a beadási helyek fényképeiről.* ***G-H:*** *Beadási hely (kis kör a fehér körrel) a d2 ujjbegy reprezentációjával (fekete kontúr). A beadási hely méretét a pontozott vonal jelöli. Méretarány=1 mm A-C, és 250 µm D-F-en.*



14. ábra. *Az elektrofiziológiai és az intrinsic optical imaging (IOS) módszerekkel meghatározott BDA beadás helye és annak mérete a Br1 beadások esetén (M, Mo, P).* ***A-C:*** *Az említett funkcionális módszerekkel feltérképezett kéregfelszín reprezentatív képe a három esetben. A jelölések a 13. ábrával megegyeznek. Elektrofiziológiai regisztrációs helyeket különböző szimbólumokkal jelöltük.* ***D-F****: A beadási helyek fénymikroszkópos képei a supragranularis rétegből készültek: a kéreg felszínétől 320 µm (M, Mo) és 450 µm (P) távolságra. A BDA beadási helyek szúrt csatorna és az azt körülvevő gyűrűre (ahol kevesebb jel) különülnek, melyek Mo esetén a szembetűnőbbek. A belső fehér pöttyözött karika a szúrt csatorna kiterjedését jelöli, míg a külső kör a szúrt csatorna körüli gyűrű határát. A szúrt csatorna és a kevésbé sűrűn jelölt környező terület nem teljesen egyértelmű M és P esetén, ahol a legnagyobb sűrűségű területet határoltuk a körrel. A fehér lyukak a véredények keresztmetszeti képei. A nyilak a BDA jelölt sejttesteket mutatják* ***G-I****: beadásokról készült képek agyfelszínhez illesztve.*

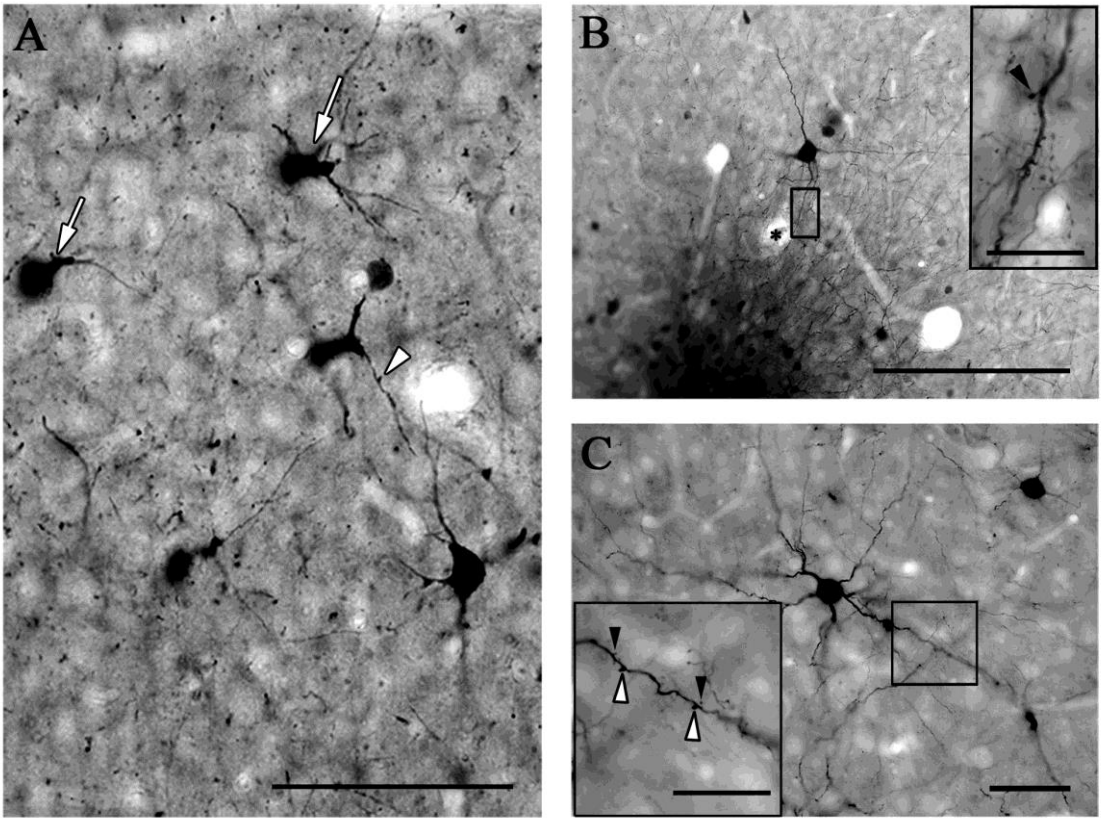
Méretarány=1 mm.

5.3 Kétirányú pályajelölés BDA-val

A retrográd jel jelenti a bemeneti, az anterográd jelölt neuronrészek a cél kapcsolati preferenciákat. Mindkét irányú transzport révén a neuronális elemek részletekbe menően feltárultak (15. 16. ábra). A jelölt neuronok többsége piramissejt, melyek sűrűn elágazó dendritfával, számos dendrittüskével, valamint apikális dendrittel rendelkeznek (15. ábra). Habár néhány sima dendritű neuront is találtunk a beadási hely közelében, melyek nagyobb sejttesttel rendelkeznek. Ezeket a neuronokat nem különítettük el az analízisek során kis számukra való tekintettel.

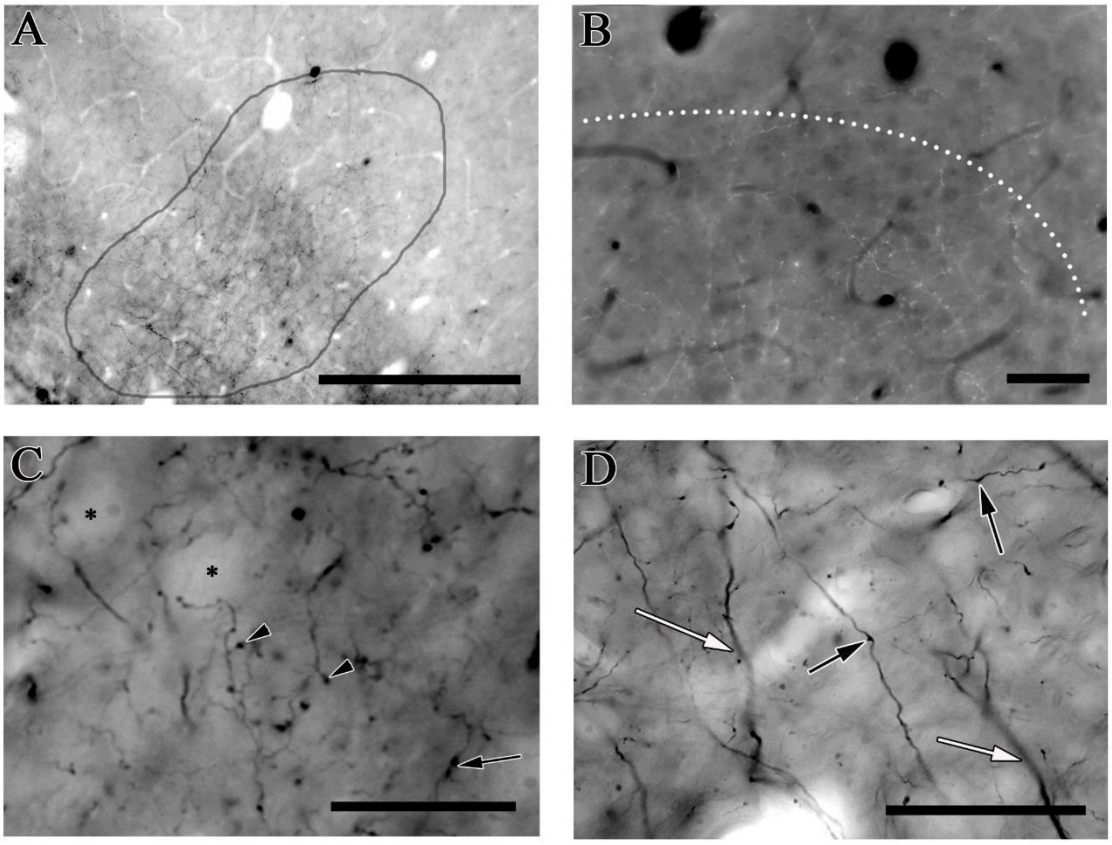
Az anterográd axonális jelölődés szintén számos elágazó mintázatot és terminálisszerű struktúrákat tett láthatóvá, mint en-passant boutonszerű struktúrák (varikozitások) (16C). Az anterográd jelölt rostok több csoportba oszthatóak:

1) terminális arborizációk, foltok, melyet vékony axonok sűrű hálózata és sok boutonszerű struktúra alkot; a foltok körülhatárolható elágazódó corticalis lokalizációval rendelkeznek (16A-C).
2) relatív vékony, horizontálisan orientált hosszú rostok, sok boutonszerű struktúrával (16. ábra)
3) sima, hosszú kiterjedésű rostok, melyekről hiányoznak a boutonszerű képletek (16D).



15. ábra. *Retrográd jel.*

A: *Piramissejt. A fehér nyilak az apikális dendritek keresztmetszetét mutatják. A nyílhegy jelöli az egyik horizontálisan elágazódó apikális dendrit varikozitását.* ***B:*** *Egy nagy piramissejt a beadási hely szomszédságában (lent a sötét folt). A csillagok az elektróda nyomait indikálják, melyek az elektrofiziológiai térképezés során képződtek. Keretezett rész: serkentő sejt dendritjéről egy nagyobb nagyítással készült kép, melyre jellemzők a dendritikus tüskék (nyílhegy).* ***C:*** *A 3/4. rétegből származó piramissejtek gazdagon elágazó bazális dendtrittel. Dendrittüskék (fekete nyilak) és protrusiok (fehér nyilak) váltak láthatóvá nagyobb nagyítással a keretezett részben. Aránymérték: 100 µm A-n, 250 µm on B-n, 50 µm C-n és 25 µm a keretezett részben.*



16. ábra. *Anterográd jel.*

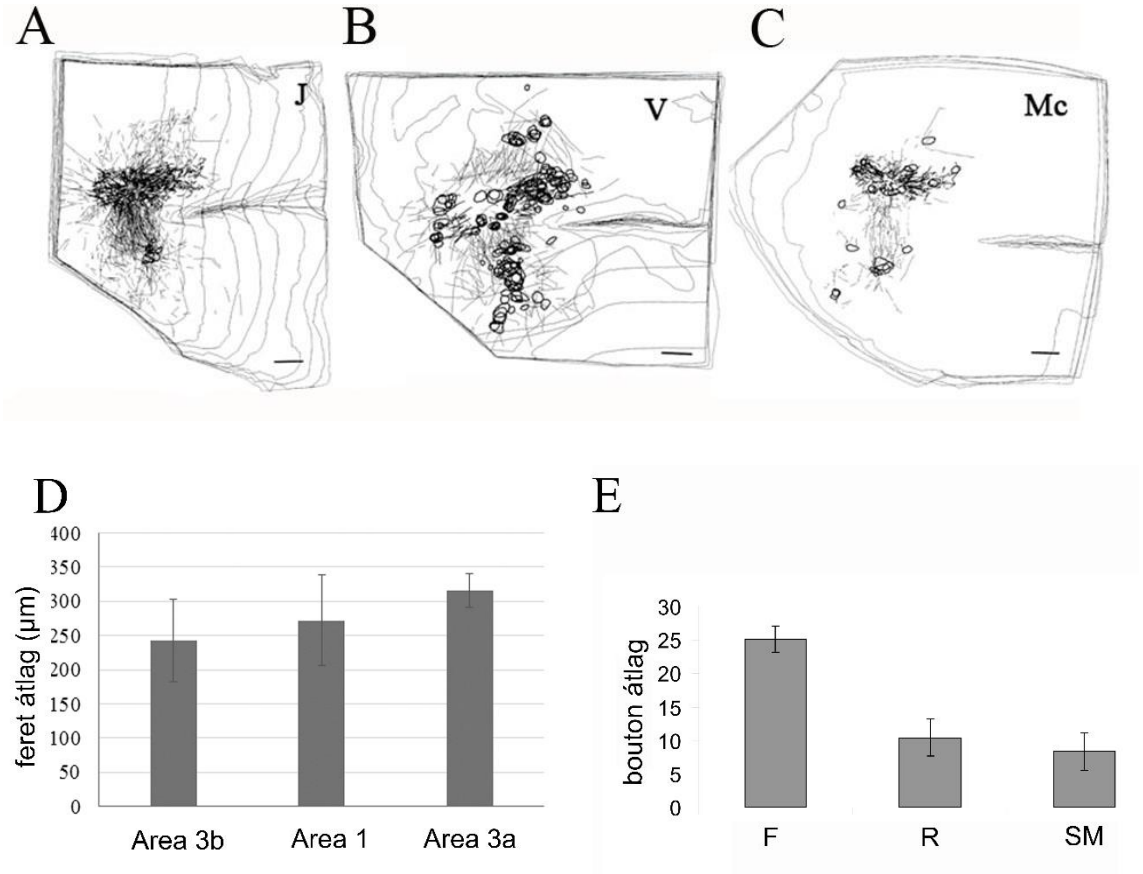
A: *Az axonarborizáció foltja, melyet egy körvonallal jelöltünk.* ***B:*** *Inverz kép, a terminális folt határvonalának egy részét tüntettük fel.* ***C:*** *Számos rost és boutonszerű struktúra nagyobb nagyításon válik láthatóvá. A nyílhegyek terminálisszerű struktúrára mutatnak, a nyilak a varikozitásokat jelölik. A csillag jelöletlen sejttestet mutatja, melyet vékony, kosársejt-szerű axon követ. A hosszú rostok a beadási helytől indulnak (fentről).* ***D:*** *A fekete nyilak a boutonszerű axonmegvastagodásokra mutatnak, melyek nem mielinhüvelyes rostokra fűződnek fel. A fehér nyilak: terminális-szerű végződést jelölnek a vékony roston Br1-ben. Aránymérték: 250 µm (A) és 50 µm (B-D) µm*

5.4 Célterületek: terminális axonarborizációk és boutonszerű struktúrák

A foltszerűen megjelenő terminális axonarborizációk legnagyobb valószínűséggel a beadások célterületein fordulnak elő. Miután körberajzoltuk őket, a foltok méretét meghatároztuk (lásd Módszerek) és összehasonlítottuk a foltokban és azokon kívül eső boutonszerű struktúrák sűrűségét (17. 18. ábra).

A terminális foltok átlagos mérete nem különbözött egyik beadás esetén sem (17A, 18A, 4B táblázat) szignifikánsan az áreákra, illetve az egyes állatokra nézve ($p > 0,05$). A Feret átlag és szórás a 4. táblázatban van feltüntetve.

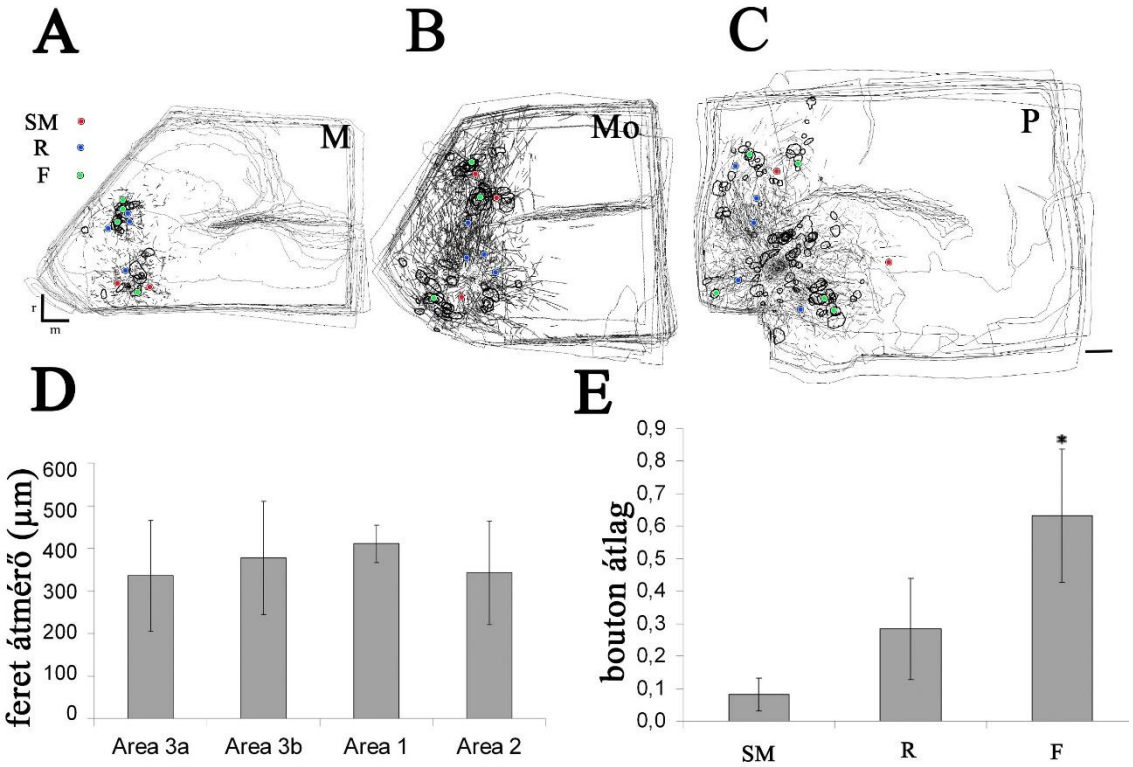
A terminális foltok a szinaptikus integrációk régiójához tartoznak, így azt vártuk, hogy ezek területén több boutonszerű struktúrát találunk, mint a foltokon kívül. 17E, 18E ábra a boutonszerű struktúrák sűrűségét és szórását mutatja minden régióban az állatokra átlagolva. Mindkét állatcsoport (Br3b és 1 beadás) esetén a foltok (F) többszörösen nagyobb sűrűségben tartalmaztak boutonszerű struktúrákat, mint a rostos (R) vagy a sejt- és rostmentes (SM) területeken (17E, 18E ábra, 4A táblázat). Ezt a megfigyelést Br3b beadás esetén egyértelműen lehetett bizonyítani az egyedi esetekre párosított student próbával (4A táblázat). V esetében viszont nem mutatkozott F és R között statisztikai különbség. Az egyes áreák között (Br3b/Br1/Br2/Br3a) egyik beadás esetén sem volt különbség a boutonszerű struktúrák sűrűségét illetően (ábráinkon nem szerepel). Br1 beadások eseteiben az egyes állatokra vonatkozó student próba nem mutatott mindig szignifikáns különbséget SM és F valamint F és R közötti boutonszerű struktúrák sűrűségére. A három régióban (F, R, SM) levő boutonszerű struktúrák arányát így összehasonlítottuk egy-utas ANOVA segítségével, mely szignifikáns különbséget mutatott ($p=0,01$). Post hoc összehasonlítás során szignifikáns különbséget találtunk F és R, valamint F és SM között (Fisher LSD teszt, $p=0,03$ és $0,04$). A boutonszerű struktúrák sűrűsége F és SM között nem különbözött szignifikánsan.



17. ábra. *A terminális elágazódási foltok számának analízise Br3b beadás esetén.*

A-C: *A három állat kétdimenziós retrográd és anterográd jel térképe (J, V, Mc). A rostokat a szürke egyenesek, a foltokat fekete körvonalak jelölik. A fekete pontok a retrográd jelölt idegsejtek.*

D: *Egyes terminális foltok átlagos mérete a kérgi áreákban (Br3b, Br1, Br3a).* ***E****: A boutonszerű struktúrák sűrűségének regionális eloszlása F (folt), R (rost) és SM (sejt- és rostmentes) régiókban. A boutonszerű struktúrák átlagos sűrűségét mutatja az y tengely. Az oszlopok a három eset átlagértékét mutatják. A hibasávok a szórásértékeket jelölik. Aránymérték=1mm.*



18. ábra. *A terminális arborizációk mérete és a boutonszerű struktúrák sűrűsége Br1 beadás esetén.*

A-C: *A boutonsűrűség-analízishez a mintavételezett régiók különböző színekkel vannak jelölve a retrográd és az anterográd jelölést tartalmazó kétdimenziós térképen a három esetben (M, Mo, P). A rostokat a szürke egyenesek, a foltokat fekete körvonalak jelölik. A fekete pontok a retrográd jelölt idegsejtek. SM: sejtmentes, R: rostos, F: terminális foltokat tartalmazó területek.* ***D:*** *A különböző kérgi áreákban (Br1, Br3b, Br3a és Br2) a foltok átlagmérete.* ***E:*** *A boutonszerű struktúrák átlagos számának aránya (a teljes mennyiséghez viszonyítva minden esetre vonatkozóan) a három régióban (SM, R, F). A csillagok a szignifikáns különbséget mutatják SM és F között. A hibasávok a szórást jelentik. Aránymérték=1mm.*

4. táblázat. ***A:*** *A boutonszerű struktúrák sűrűségének statisztikai összehasonlítása Br3b és Br1 beadás esetén. A Student t-teszt statisztika p értékei vannak feltüntetve. Szignifikáns különbségek dőlt betűvel szerepelnek. F: terminális folt, R: rost, SM: sejt- és rostmentes régiók.* ***B:*** *A terminális foltok mérete (átlag±szórás) a négy corticalis áreában az egyes esetekben µm-ben kifejezve. Br3b beadásoknál Br2-ben nem jelentek meg terminális foltok. J és M esetén nem volt terminális folt Br3a-ban és csak kettő volt Br2-ben.*

A

	F és SM	F és R	R és SM
Mc	*0,002*	*0,0033*	0,42
V	*0,03*	0,13	0,35
J	*2,8E-*	*0,0001*	0,16
M	0,312	0,412	0,212
Mo	0,06	0,095	0,913
P	*0,040*	*0,043*	0,06

B

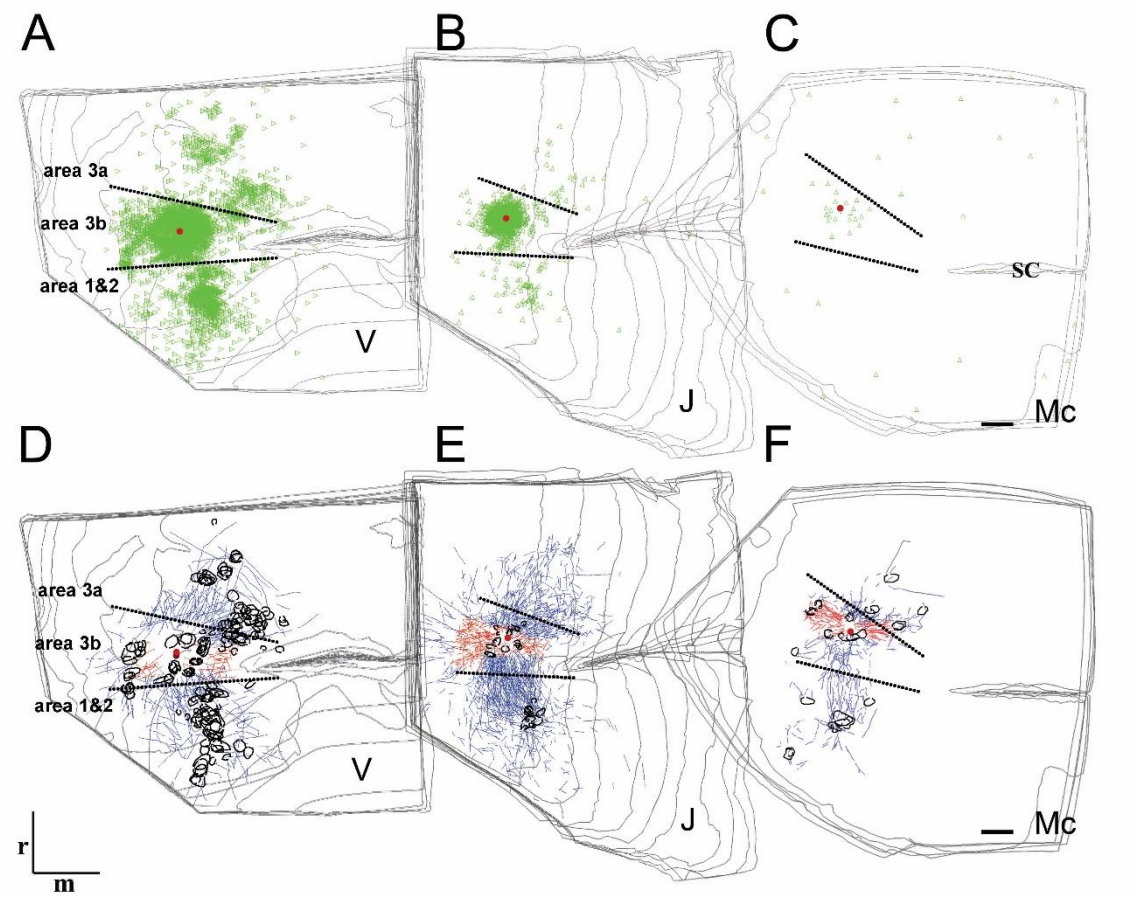
	Br3a	Br3b	Br1	Br2
Mc	298±18	257±15	278±6	-
V	333±17	294±52	335±63	-
J	-	176±66	204±68	-
M	-	301±143	394±161	230± 256
Mo	428±94	478±159	392±172	381±172
P	233±88	299±128	340±173	305±145

Először a retrográd és az anterográd jel eloszlásának mintázatát írom le Br3b és Br1 beadást követően. Majd a feltérképezett ujjak reprezentációjának bemeneti és célpreferenciáját részletezem a két (Br3b és Br1) beadás esetén és az egyes állatokra nézve a funkciótérképek alapján.

5.5 Retrográd jel eloszlása

A Voronoi-diagramok a jelölt idegsejtek sűrűségét tükrözik. A Voronioi-sűrűségtérképek nem torzított, topografikusan pontos és nagy felbontású sűrűségeloszlásokat adnak. A Voronoi cellák mérete a retrográd jelölt neuronok legközelebbi szomszédtól mért távolságával arányos. Minél kisebb egy cella, annál nagyobb a sűrűség. Mivel a cellák mérete nagy variabilitást mutatott, ezért a Voronoi cellák méretének – állatonkénti normalizálást, logaritmizálást követően – átlaga és szórása ki lett számolva, majd az átlagtól való szórás színkódok segítségével lett ábrázolva (21-23. ábra).

Mind a hat esetben hasonló retrográd jelmintázatot figyeltünk meg (19A-C, 20A-C ábra). A beadási hely körül 1-2 mm átmérőjű körben volt a legerősebb a jelölődés (19A-CF, 20A-C ábra). A beadási helytől távolodva bár csökkent a sűrűség, neuronok csoportosultak még medialisan, lateralisan, rostralisan és caudalisan (19A-F, 20A-C ábrák). A beadási áreán belül a színkódolt (különböző sűrűségű, lásd előbb) régiók egész skálája (-1 SD) megtalálható a sűrűségtérképeken a hat esetben (21. 22. ábra). A beadási hely körül, a sárga régió jelöli az átlagtól 1 szórásértékkel (SD) való eltérést, mely 1 mm-es átmérőjű területet foglal el mindegyik állatban (21A-C, 22A-C ábra). A sűrűségtérképeken is jól látható, ahogy a retrográd jel fokozatosan csökken a beadási helytől távolodva (21A-C, 22A-C, 23. ábra).



19. ábra. *Retrográd és anterográd jelölés az área 3b beadások esetén (V, J és Mc).* ***A-C:*** *A retrográd jel eloszlása. Zöld háromszögek: retrográd módon jelölt neuronok. A beadási helyet a piros pontok jelentik.* ***D-F****: Az anterográd jel eloszlása. Fekete körvonalak a terminális axonarborizációt jelölik. Piros vonalak: intrinszik kapcsolatok, kék: interáreális kapcsolatok SC: sulcus centralis. Aránymérték=1 mm. r: rostralis; m: medialis.*

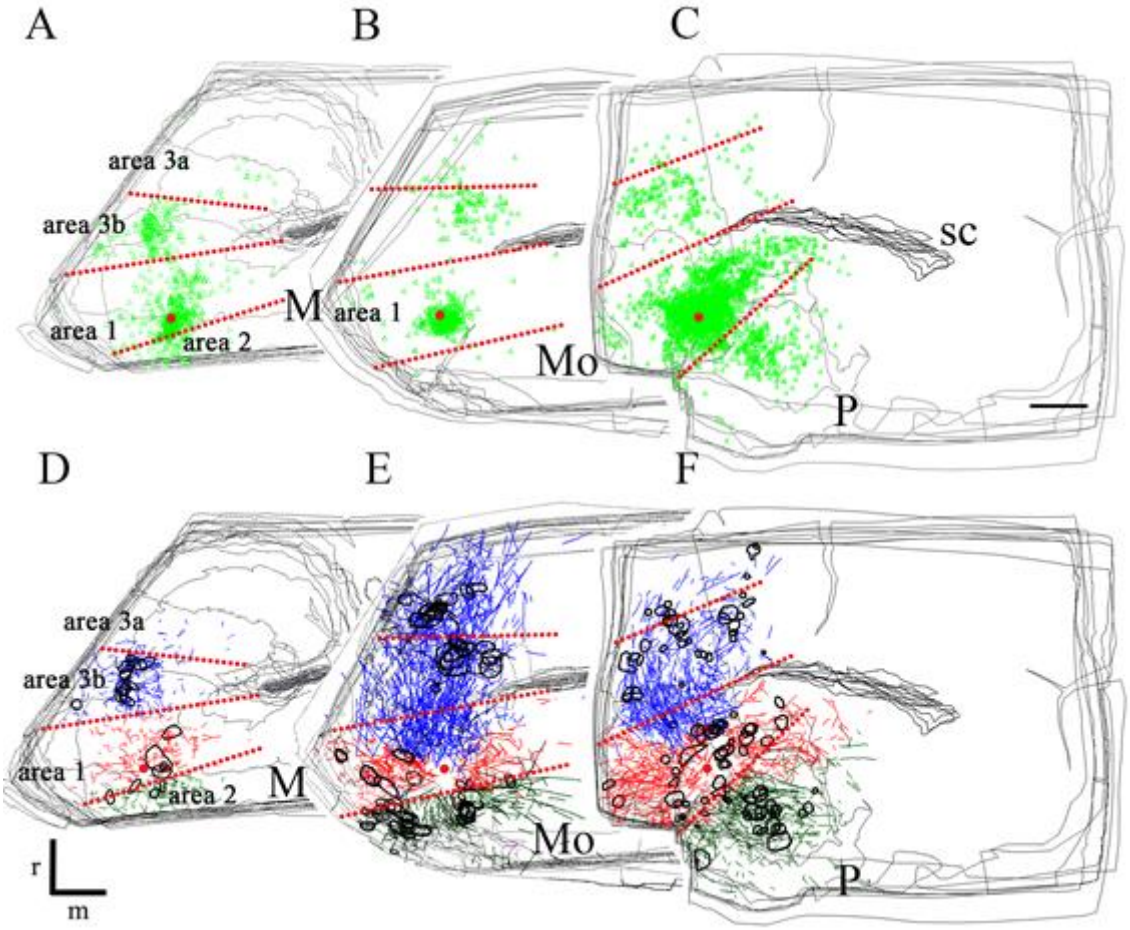
5.6 Anterográd jel eloszlása

Összességében, a később tárgyalt különbségek ellenére az anterográd transzport alapvetően hasonló eloszlási mintázatot eredményezett a hat esetben. Mediolateralis és rostrocaudalis irányba haladó jelölt rostok és terminális axonarborizációk voltak jellemzőek az eloszlásokra (19D-E: kék és piros vonalak; 20D-E: kék, piros, zöld vonalak). A terminális arborizációk (J kivételével, ahol hosszú volt a túlélési idő) hosszú kötegbe rendeződött rostok végén lokalizálódtak; s ez a mintázat leginkább Mc-re volt

jellemző (19F). Az IOS alapján meghatározott ujjbegy reprezentáció területére lokalizálódtak a terminális axonhálózatok (21, 22 D-F).

A különböző túlélési idő hatása Br3b beadásoknál jelentősebbnek tűnt, mint a retrográd jel esetén (19D-E). A beadást követő egyes állatokra nézve különböző ideig tartó anterográd transzport befolyásolta a terminális foltok megjelenését (körvonalak a 19A-C ábrán). Sok BDA jelölt hosszú rostot figyelhettünk meg a három esetben (vonalak, 19D-E). Mc és J hosszú rostjai a beadási helytől transzportálták a BDA-t; de érdekes, hogy V-ben hosszabb horizontális rostok mutatkoztak meg. Mc-ben intermedier mintázat jelent meg az anterográd jelben, mely számos terminálist és horizontális rostot tartalmazott. Ezek a beadási hely közeléből indultak (19D-F).

Br1-ba való injektálás során a Br3b-be lépő hosszú rostok továbbhaladtak Br3a irányába és az esetleges Br4 motoros kérgi áreába (M1) Mo és P esetén (kék színnel jelölve a 20E, F ábrán). Hasonló sűrű rostnyalábok húzódtak a beadási helytől caudalisan Br2 felé Mo és P majmokban (zölddel jelölve a 20E, F ábrákon). Ez a caudalis köteg rövidebbnek bizonyult, mint a rostralis. További rostkötegek főleg Br1 területén belül haladtak mediolateralisan, intrinszik kapcsolatokat formálva (piros vonalak 20E, F ábrán). M esetén valószínűleg a ferde metszés miatt maradtak rövid szegmentumok a horizontálisan futó rostokból (20D ábra).



20. ábra. *Retrográd és anterográd jelölés az área 1 beadások esetén (M, Mo és P).* ***A-C:*** *A retrográd jel eloszlása. Zöld háromszögek: retrográd módon jelölt neuronok. A beadási helyet a piros pontok jelentik.* ***D-F****: Az anterográd jel eloszlása. Fekete körvonalak a terminális axonarborizációt jelölik. Piros vonalak: intrinszik kapcsolatok, zöld vonalak: área 2-vel való kapcsolatok, a kék área 3b és 3a-val esetleg M1-el való kapcsolatok. SC: sulcus centralis. Aránymérték=1 mm*

5.7 A beadási hely áreán belüli bemeneti neuronális összeköttetései

Mind a 6 állatban jellegzetes, hogy a legnagyobb sűrűségben (1-3 SD az átlag felett, sárga- narancs-piros) a beadási hely szoros környezetében jelent meg a retrográd jel (21A-C, 22A-C). Mindegyik állat esetében a neuronok sűrűsége az injektált ujjtól távolodva csökkent, de mediolateralisan a szomszédos ujjak régiójában ugyancsak sűrű jelölődés jelent meg. A jelsűrűség általában 2-3 SD-vel nagyobb volt a szomszédos ujjak területén, mint a nem-szomszédos ujj reprezentációjában. Tehát elmondható, hogy a beinjektált ujjreprezentáció bemenetét legnagyobb számban a szomszédos ujjbegyek területéről

kapja. Ami egy ujj proximális és distalis részei közötti kapcsolatot illeti, az injektált ujjreprezentáció proximális részén jelent meg újabb neuroncsoportosulás (21A-C, 22A-C). Az intradigitalis proximodistalis kiterjedés Br1 beadások esetén kifejezettebb (22A-C).

Az egyes esetek kissé eltértek a fent leírt eloszlástól. V majomban (21A) a legnagyobb sűrűségű jel nem az injektált ujjbegy reprezentációjára (D2t), hanem attól medialis és caudalis irányban, a szomszédos ujjak területére esett**.** Mo és P állatokban a legsűrűbb jel (+1 és 2 SD) az injektált ujjbegy területén kívül a szomszédos ujjbegyekre is kiterjedt (22A-C ábrán). Ahogy az első bekezdésben említettem, Br1 beadásoknál kiterjedtebb a proximalis ujjreprezentációkból érkező bemenet, amire az utal, hogy a distalis ujjbegyektől rostralisan részben elkülönülten megjelent egy lateromedialisan megnyúlt zöld terebélyes terület (-1SD) (22A-C ábra). M esetén az injektált ujj (D2) proximális részéből igen sűrű bemenet érkezik (+1SD, sárga d2p-ben 22C ábrán). Mo-ban határozottabb volt a jelsűrűség-csökkenés a szomszédos ujjak reprezentációs területén (-2SD és -3SD, 22A, B), ugyanakkor a D4t reprezentáció injektálása csak a D3t régióban eredményezett sűrű jelölődést (+1SD, 22B ábra). P állatban a kapcsolatok főleg az injektált ujj proximális ujjreprezentációjából erednek (22C ábra).

5.8 A beadási hely interáreális bemeneti neuronális összeköttetései

A szomszédos áreákban minden esetben jelölt sejtek csoportosultak mindkét beadás esetén (21A-C, 22A-C). Az interáreálisan megjelent retrográd jelsűrűség összességében az injektált áreánál kisebb, jól körülhatárolható területre szorítkozott (21, 22A-C ábra). E lokalizáció jelzi, hogy az injektált ujjbegy reprezentációk legtöbb bemenete a homotóp ujjreprezentációkból ered (21A-C, 22A-C).

Br3b injektálás esetén a három állatban kisebb sűrűségárnyalati eltérések adódtak, de ami mindegyikre egyértelműen igaz, hogy a Br1-en kívül Br3a és M1 területéről kap még bemenetet (19A-C). Amíg Br3a és M1 területek jeleloszlásnak a topográfiához való viszonyáról nem tudunk nyilatkozni a topográfiájuk nehézkes feltárása miatt (lásd Irodalmi háttér), Br1-ben homotóp ujjbegyrégiók határain belül jelentek meg nagy számban retrográd jelölt neuronok (19A-C). Érdekes, hogy Mc-ben nem homológ, hanem a szomszédos (D3t, azaz D3) ujjbegy reprezentációjában volt sűrűbb jel (zöld, -1SD, 21C). V esetén a Br1 topográfiai adatai hiányában csak feltételezhető, hogy a homotóp

ujjbegy reprezentációjában mutatkozott a legerősebben a jel (sárga és zöld, +1 és -1SD, 21A). J-ben (21B) csak a homotóp ujjbegyrégióval jelenik meg sűrűbb BDA retrográd jel.

Br1 beadások egyes eseteiben is megjelentek kis eltérések. M és Mo majmokban tisztán körvonalazódott interáreálisan a legsűrűbb terület a sűrűségtérképen (sárga és zöld áreák,+1 és -1 SD; 22A, B ábra). P esetén, a retrográd neuronok csoportjai jobban láthatóak az alap adatokban (22C ábra), mivel Br3b-ben az átlag sűrűségtől való eltérés nem érte el a +1SD (sárga) értéket. Ennek az oka a beadási hely közelében megjelent nagyon erős jelölődés (22. 23. ábra). Ebben az állatban a legsűrűbb bemenet nem homotóp régióból (D2t) ered Br3b-ben, hanem a szomszédos ujjból (D1t) (zöld, 22C). M-ben is d1t reprezentációjában jelent meg sűrű jel (zöld, -1SD d1m-ben, 22A). M és P esetén az injektált ujjbeggyel homológ területtől mediolateralisan lecsökken a jel intenzitása Br3b-ben (kék és rózsaszín, -2 és -3SD). Br3b-ben relatív sűrű retrográd jel terjed ki caudalisan, az ujjak proximális részeibe (D2 M, P-ben, D4 Mo-ban) (22A-C). Br2-ben is megjelent egy kisebb csoport: P esetén kiemelten és M esetében valamennyivel kisebb kiterjedésben (22A, C; 23A, C ábra). A sűrűségelemzés Br2-ben mutatott ki erősebb jelölődést Mo esetében is (22B, 23B ábra). A mintázat kevésbé volt követhető M-ben és Mo-ban (Br2-nek csak egy része lett megőrizve ezekben az esetekben). A caudalisan relatív magas sűrűség az ujjbegyek reprezentációját rajzolják ki Br1-ben, ami megerősíti Br2-vel képzett határvonalát.

5.9 A beadási hely áreán belüli célterületei

Általánosan elmondható, hogy a terminális axonarborizációk lateromedialis és proximodistalis kiterjedésűek (21D-F, 22D-F). Ez azt jelenti, hogy a vizsgált áreák neuronjai áreán belül a szomszédos ujjak reprezentációjára projektál, valamint az injektált ujjbegy proximalis részeivel képez kapcsolatot. Látszólag Br1 beadás esetén kifejezettebb a proximalis irányba való kiterjedés (22D-F).

Br3b beadásoknál D2t (D2 ujjbegy) célterülete D2t és D3t (J és Mc esetében, 21E, F). V esetén (21D), amelyben az anterográd jel volt legerősebb, a terminális foltok a D3t és D1t reprezentációiban lokalizálódtak. A nem szomszédos D4t régiót az axonarborizációk mindhárom esetben elkerülték. V állatban (21D) hasonlóan a bemeneti preferenciához, a terminális foltok az ujjbegyen kívül is megjelentek még caudalisabban,

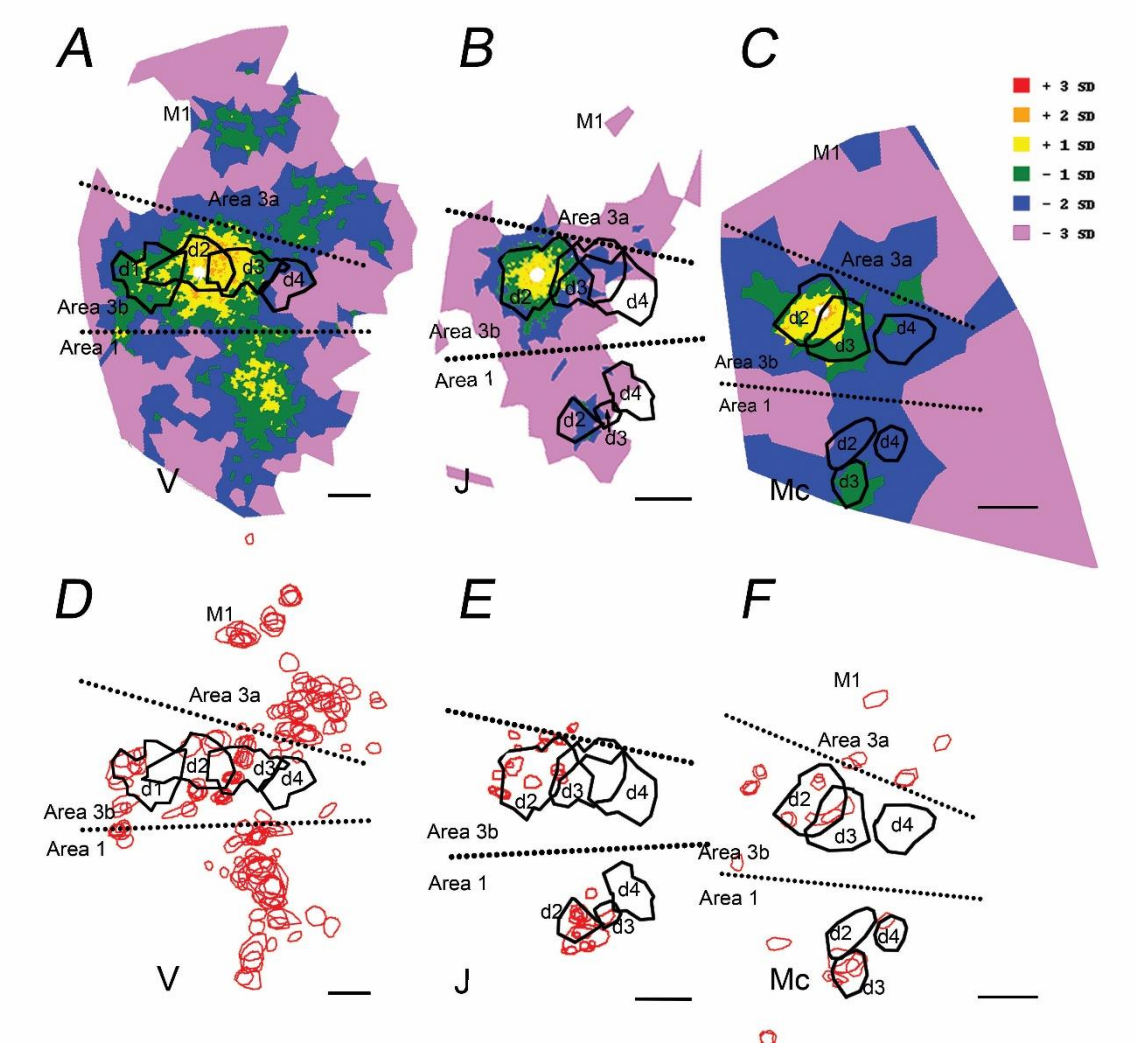
az injektált ujjreprezentáció feltételezett proximális részeinek területeit is beleértve (21D-F).

Br1-ben a beadási hely közelében jelentek meg a terminális foltok nagyobb sűrűségben (22D-F). A terminális foltok P esetén nagyobb mértékben terjedtek ki lateralis irányban (22F). A jelölt terminálisok divergenciája a különböző ujjak proximalis részeire korlátozódott (22F). Mo-ban D4t injektálása a terminálisok lateralis megjelenését eredményezte D3t és D2t részeken (22E).

5.10 A beadási hely interáreális célterületei

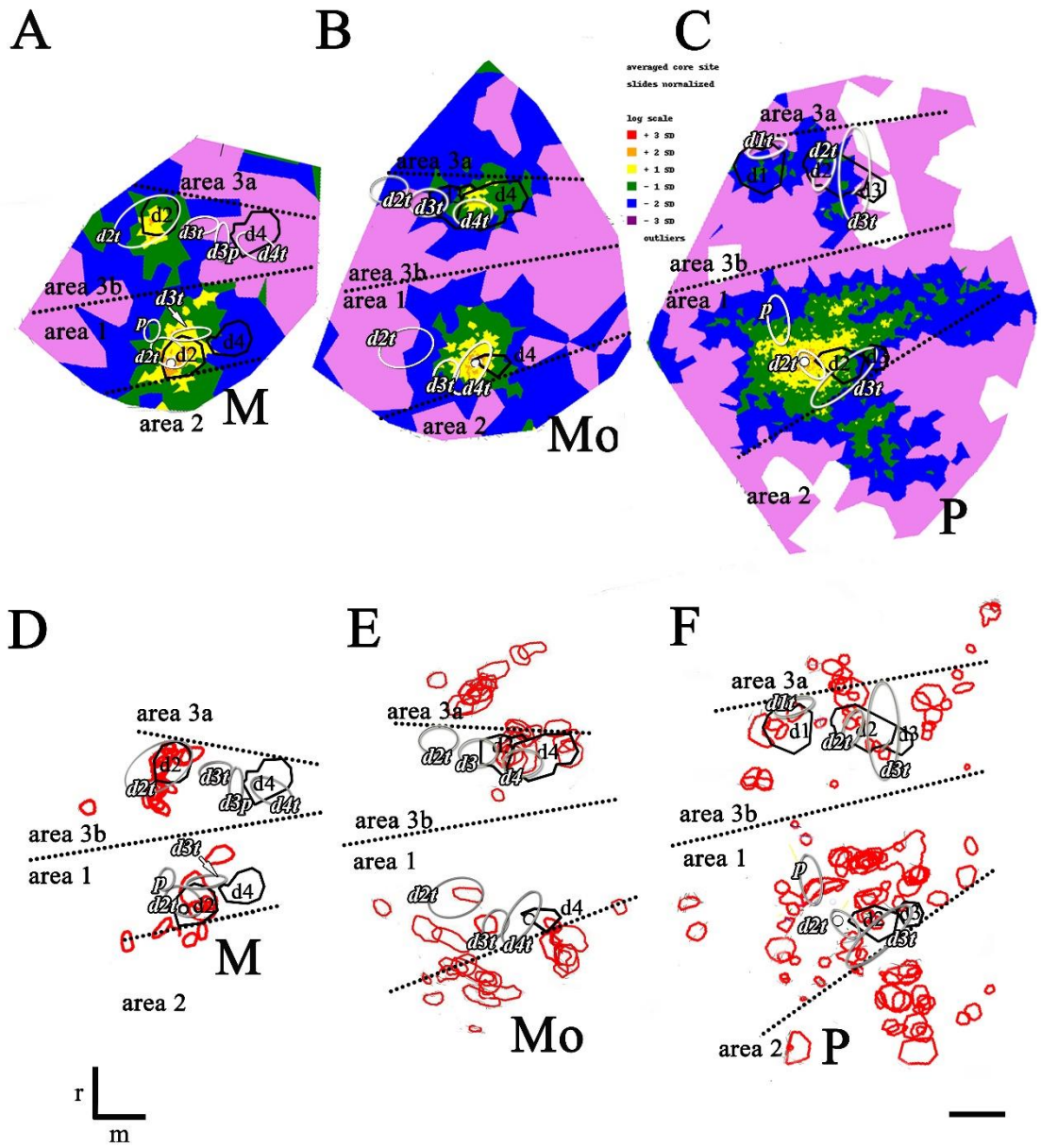
Br3b interáreális projekcióit illetően a homotóp ujjbegyrégión kívül elszórtan jelentek meg terminális arborizációk J esetén (21E). V-nél Br1-ben hiányzó elektrofiziológiai térkép miatt csak feltételezhetjük ezt a tényállást (21D). Ami Mc-t illeti, a retrográd eloszláshoz hasonlóan itt is a szomszédos ujjra esett (többség D3-ban, D4-ben) a jelölt terminálisok nagyobb része, s D2/D3 határán jelent meg egy terminális (21F). A proximális ujjrészekre való interáreális kiterjedés csak V-re volt jellemző a Br3b beadásokat követően.

Br1 beadást követően a terminális arborizációk mediolateralis irányban elszórtan jelentek meg Br1-ben, míg inkább csoportokba rendeződtek Br3b-ben (fekete kontúrok 20D-F, 21B ábra). Kivétel P esete, ahol hasonlóan elnyúlt mediolateralis eloszlás volt Br3b és Br1-ben is (20F ábra). Br1-ben a foltok a caudalis határhoz szorosan csoportosultak (21D-F ábra). Br3b-ben a terminális foltok rostrocaudalisan, főleg az elülső határhoz helyezkedtek közelebb mindhárom esetben (20, 22D-F ábra). A terminális foltok Br3a-ban is felhalmozódtak és Br1-től caudalisan, Br2-ben, ahol az eloszlás behatárolható volt (20F, 22D-F ábra). P esetén viszont a foltok rostrocaudalis eloszlást mutattak Br2-ben (20F, 22F ábra). Lateralisan is megjelentek terminális foltok Mo estén Br2-ben (20E, 22E ábra). Minden esetben a terminális axonarborizációk a BDA jelölt rostok mentén szóródtak szét.



21. ábra. *Az anatómiai és a funkcionális térképek illesztésének Br3b beadások esetén (V, J, Mc).*

A-B: *A kétdimenziós sűrűségtérképek IOS (fekete körvonalak) térképekhez illesztve mutatják az input preferenciát.* ***C-F:*** *A terminális arborizációk (piros körvonalak) a funkcionális térképekkel illesztve jelentik a cél preferenciát. Aránymérték=1 mm*



22. ábra. *Az anatómiai és a funkcionális térképek illesztése Br1 beadások esetén (M, Mo, P).* ***A-B:*** *A kétdimenziós sűrűségtérképek elektrofiziológiai (fehér ellipszisek) és IOS (fekete körvonalak) térképekhez illesztve mutatják az input preferenciát.* ***C-F:*** *A terminális arborizációk (piros körvonalak) a funkcionális térképekkel illesztve jelentik a cél preferenciát. Aránymérték=1 mm*

5.11 Reciprocitás

A reciprocitás azt mutatja, hogy a terminális axonarborizációk és a magas sűrűségű retrográd jel (sejttestek) fedik egymást, azaz illeszkednek (23. ábra). A reciprok kapcsolatokat az azonosított szomatotóp kérgi területeken vizsgáltuk meg. Ezt az anterográd és retrográd jel horizontális eloszlásának egymásra illesztésével könnyen meg lehetett tenni. Viszont adataink nem felelnek meg a sejtek közötti reciprocitás vizsgálatára, mivel sorozatmetszéskor metszeteket vettünk ki más kísérletekre szánva, ami miatt a sejtek közötti kapcsolatok kontinuitása többször megszakad és nem követhető.

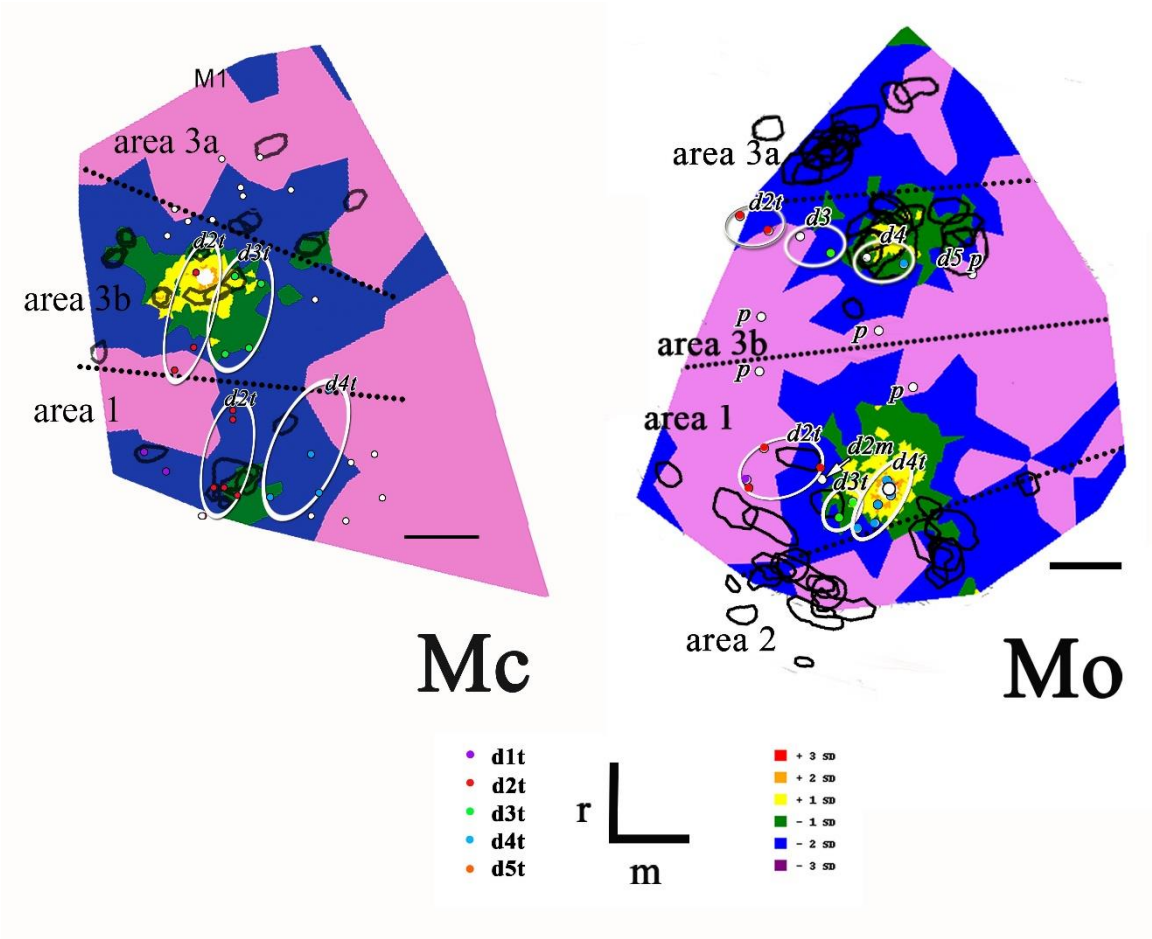
5.11.1 Br3b reciprok kapcsolatai

Br3b reciprok kapcsolatai inkább lokálisabb megjelenést mutattak és a beinjektált területre szorítkozott, de a szomszédos ujjakra is kiterjedt (23A). A legtöbb retrográd jel a terminális arborizációk területével nagy átfedést mutatott; ugyanakkor a gyenge retrográd jelölődés a hosszú axonális rostkötegekkel illeszkedett inkább (19.21. ábra). Az alacsony sűrűségű retrográd jelölés területén kevés volt a terminális foltok száma is (23A). Ezek a régiók azokon a területeken fordultak elő, ahol az intrinszik horizontális rostok a beadási helyből kiindulva keresztülhaladtak.

5.11.2 Br1 reciprok kapcsolatai

A beinjektált területeken magas fokú az átfedés a retrográd neuronok és az anterográd terminális foltok között (22, 23B). M esetén (22A, D) az átfedés a beinjektált ujj homotóp területére (Br3b-ben) lokalizálódott. Előfordulnak olyan részek, ahol a retrográd és anterográd jel nem fedett át (pl. Mo esetén Br2-ben (közel az área 1 határhoz) a terminális foltok nem illeszkedtek a retrográd sűrűségű csúcsértékekhez (23B ábra). A reciprocitás hiányát a metszetek mintavételezése okozhatta.

Összességében elmondható, hogy Br3b és Br1 distalis ujjbegy kapcsolatai leginkább reciprok módon szerveződtek áreákon belül mediolaterális irányban és áreák között anteroposterior tengely mentén homotóp ujjbegyreprezentációkban.

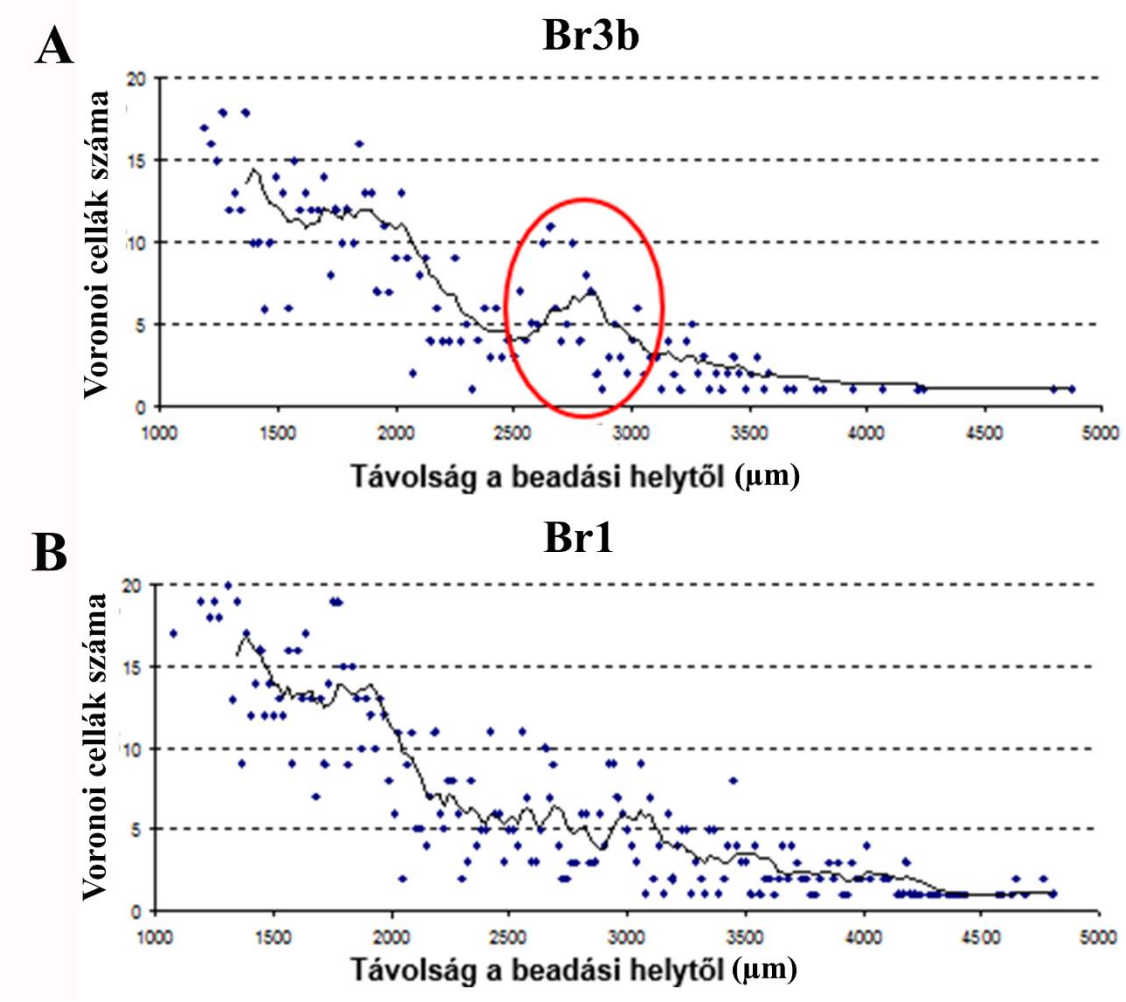


23. ábra. *Br3b és Br1 beadás (Mc: Br3b, Mo: Br1 beadás) egy-egy reprezentatív példája a terminális axonarborizációk a retrográd sűrűségtérképekhez és a funkcionális elektrofiziológiai térképekhez való illesztésére. A színkód a retrográd jel sűrűségét adja meg, mely az átlagtól való eltérések egységeiben lettek megadva (lásd Módszerek). A pontozott vonalak a becsült áreahatárokat jelölik. A színes pontok az elektrofiziológiailag azonosított helyeket jelentik. A fehér ellipszisek a funkcionálisan meghatározott hasonló szomatotóp választulajdonságú helyeket foglalják magukba. d2-d5: 2-5 ujjak, d1t-d5t: 1-5 ujjbegy; d2m, 2. ujj középső része, p, tenyér. Nagy fehér pöttyök fekete határvonallal a beadási helyet jelölik. M1: elsődleges mozgató kéreg. A beadási hely körüli fehér régiót az analízisből kihagytuk (250-350 µm). r, rostralis; m, medialis. Aránymérték=1mm.*

5.12 Kvantitatív eredmények

5.12.1 Moduláris szerveződés

A távolsághoz tartozó legsűrűbben jelölt retrográd területeket jelentő Voronoi cellák (az átlag felett 2 és 3 SD) számát ábrázoltuk a beinjektált területtől való távolság függvényében (24A, B).

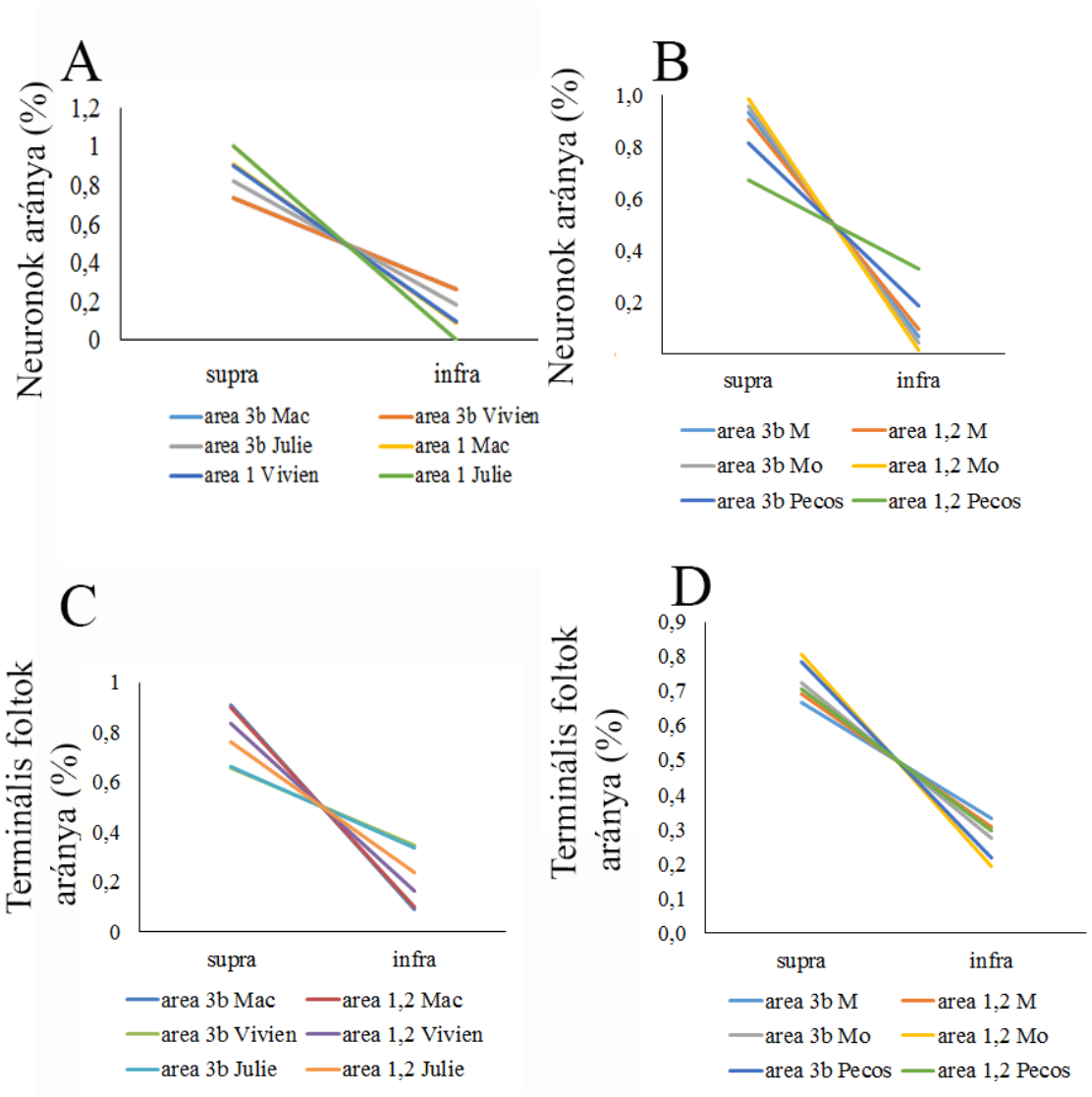


24. ábra. *A beadási helytől távolodva a jelölés sűrűsége nem egyenletesen csökken és modulárisan oszlik meg Br3b-ben, azaz a beadási helytől távolodva 3000 µm-re neuronok sűrű csoportját találjuk (piros kör jelöli ezt), míg Br1-ben nem jelenik meg csoportosulás.*

Mindkét beadás esetén a Voronoi cellák száma csökken a beadási helytől távolodva. 2500-3000 µm távolságra a beadási helytől Br3b-ben megszakad az az egyenletes csökkenés és a környező területekhez képest több Voronoi cella jelenik meg egy csúcs formájában (24A). Ez a növekedés nem éri el a beadási helyen mért neuronsűrűséget, de határozottan elkülönül a környezetétől. 3000 µm-nél távolabb további csökkenést figyeltünk meg (24A). Br1 beadás esetén nem láthatunk csoportosulást (24B).

5.12.2 Rétegeloszlás

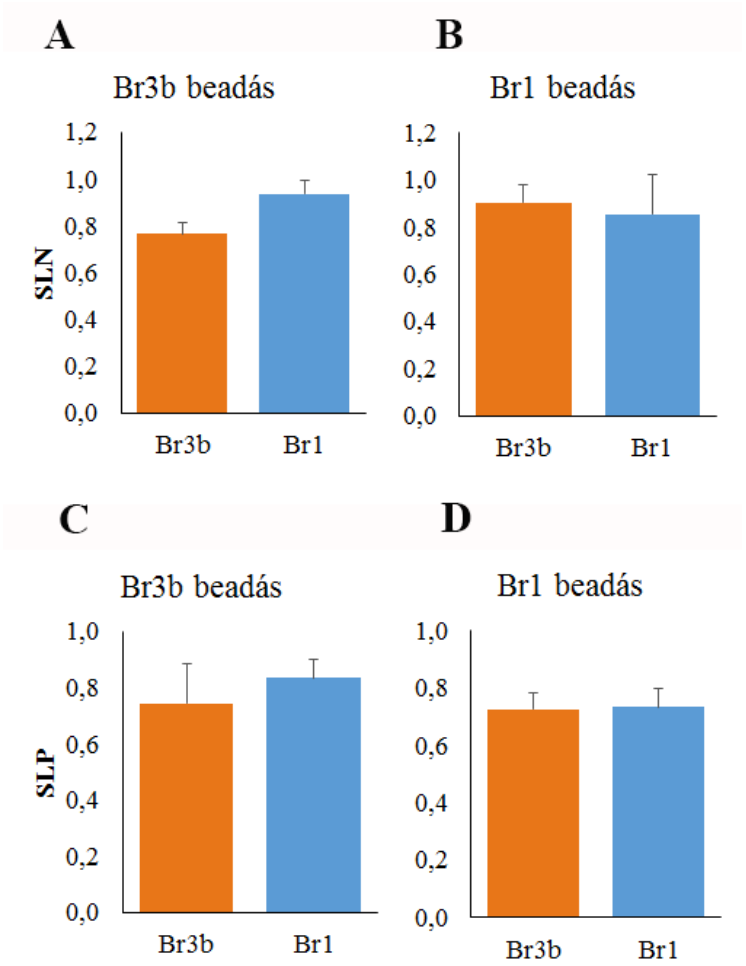
Jelen tanulmányunkban mind a neuronok, mind a terminális arborizációk supragranularis dominanciát mutattak a két beadás esetén (25. A-D ábra). Fontos megjegyezni, hogy jelen munkában használt pályajelölés leginkább a serkentő, glutamáterg neuronokat jelöli meg. Eredményeink szerint Br3b és Br1 közötti lateralis, asszociációs kapcsolat a két área közötti szoros és reciprok kapcsolatot támasztja alá. Az egyes áreák között szignifikáns különbség nem mutatkozott az egyes értékek között (25. ábra).



25. ábra. *A neuronális sejttestek és terminális arborizációk rétegbeli eloszlása a két beadás esetén az egyes áreákra és állatokra bontva.*

5.12.3 SLN és SLP értékek

Szignifikáns különbség nem volt sem az SLN, sem az SLP értékekben az áreák között a két beadás esetén (26A-D). Ugyanakkor a beadási hely a supragranularis retrográd jeleloszlás esetén hatással van a mért értékekre (Br1-re és Br3b-re számolt kétutas, ismétléses ANOVA; p=0,001).



26. ábra. *A supragranularis rétegekben jelölődött neuronok (SLN,* ***A-B****) és terminális arborizációk (SLP,* ***C-D****) aránya Br1-ben és Br3b-ben.*

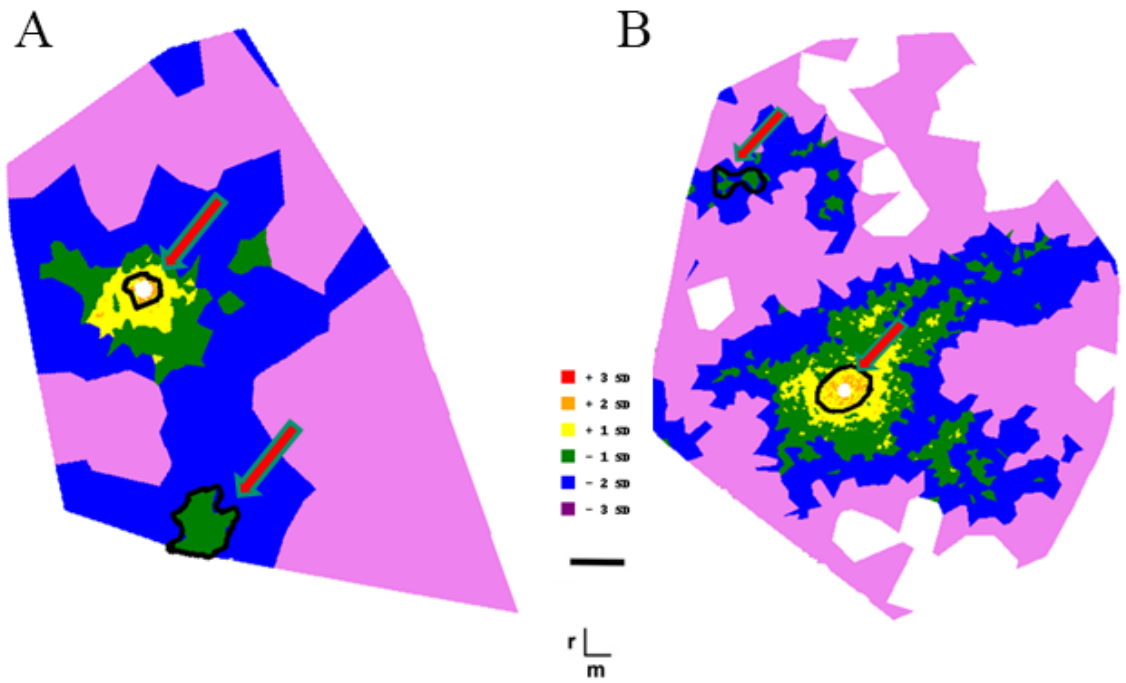
Mind Br1-ben, mind Br3b-ben a Br3b beadás esetén több volt a terminális arborizáció a supragranularis rétegekben (26C, D). Mindkét beadás esetén Br1–ben látszólag nagyobb az SLP érték. Szignifikáns különbséget azonban nem találtunk az áreák között. Br1-re és Br3b-re számolt kétutas, ismétléses ANOVA szerint a beadási hely az anterográdan jelölődött terminális arborizációk esetén nincs hatással a mért értékekre (*p=0,61).*

5.12.4 Kérgi nagyítási faktor (CMF)

A retrográd legsűrűbb területeket körberajzoltuk a retrográd sűrűségtérképeken és átlagoltuk. A két área között a mért értékekben különbséget találtunk (27. ábra). A legsűrűbb lokális kapcsolatok kiterjedése Br3b-ben szignifikánsan nagyobb volt mindkét

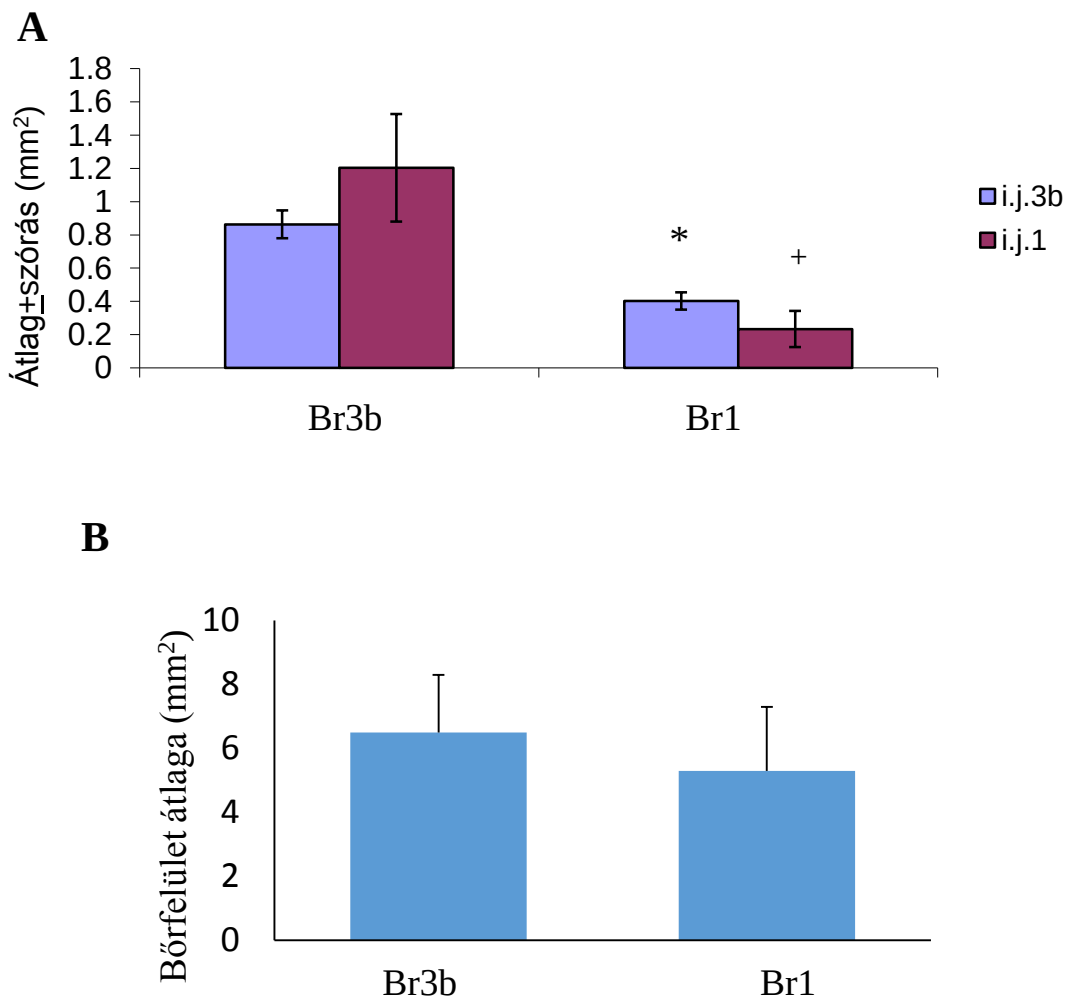
beadás esetén, mint área 1-ben. Az átlag és szórásértékek a következők voltak Br3b beadás esetén: Br3b-ben: 0,86±0,08; Br1-ben: 0,4±0,05; Br1 beadás esetén: Br3b-ben: 1,26±0,6; Br1-ben: 0,4±0,05 (t-test, p<<0.01; 27. ábra). A kérgi nagyítási faktor az adott testrészt reprezentáló agykéreg felületének és az adott testrész bőrfelületének hányadosa. Az áreák közötti konvergenciakülönbségeket adja meg. Friedman és munkatársai (2008) optical imaging módszerrel megállapították, hogy Br1-ben kisebb neuronpopuláció dolgozza fel az ugyanakkora bőrfelületről jövő információmennyiséget Br3b-hez viszonyítva. Sur és mtsai (1980) bebizonyították, hogy a CMF független az área méretétől.

Jelen tanulmányunkban kiszámoltuk a legsűrűbben jelölődött területek által reprezentált bőrfelületeket (ld. Módszerek és 27., 28. ábra).



27. ábra. *A körülhatárolt legsűrűbben jelölt kérgi régiók Br3b (balra) és Br1 esetén (jobbra). A piros nyilak a körbehatárolt területeket jelölik Br3b-ben (rostralisan) és Br1-ben (caudalisan) Br3b (A) és Br1 (B) beadások reprezentatív képein bemutatva. Aránymérték=1mm.*

Amikor a kérgi nagyítási faktorral számoltunk, a legsűrűbben jelölődött terület által reprezentált bőrfelület a két áreában nem különbözött szignifikánsan: Br3b-ben (6.5±1.8 mm^2; átlag±szórás) és Br1-ben (5.3+2 mm^2) (*t*-test, p>> 0.05).



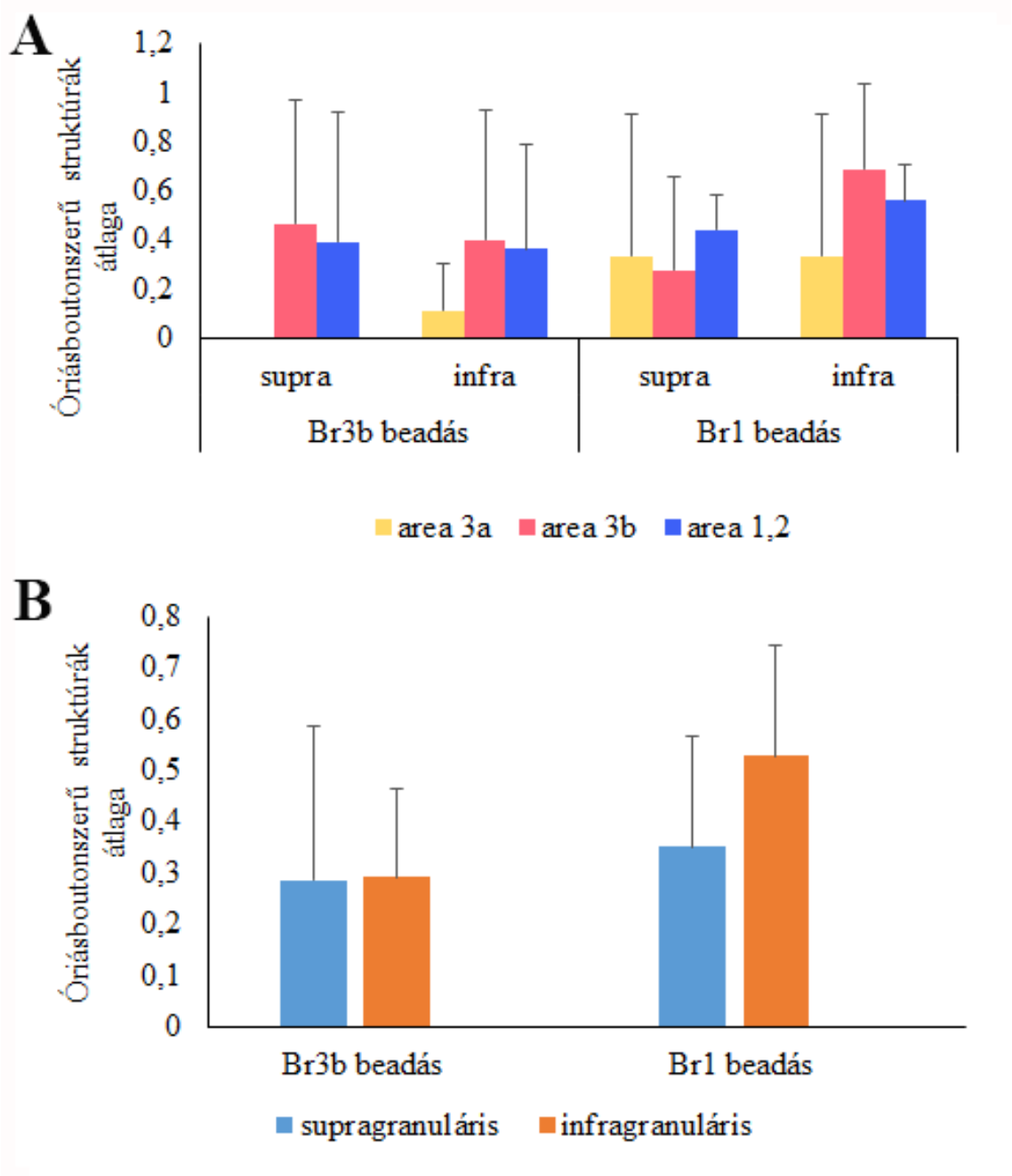
28. ábra. ***A:*** *Az erősen jelölt kérgi régiók (Br3b és Br1-ben) közötti különbség statisztikailag szignifikáns (t-test, p <<0.01). i.j.3b: Br3b beadás, i.j. 1: Br1 beadás. Már ránézésre szembetűnő, hogy a Br3b területek mindkét esetben jelentősen nagyobbak, mint Br1-ben.* ***B:*** *A kérgi nagyítási faktorból kiszámolt,, a legsűrűbben jelölődött terület által reprezentált bőrfelület a két áreában nem különbözött szignifikánsan: Br3b-ben (6.5±1.8 mm^2; átlag±szórás) és Br1-ben (5.3+2 mm^2) (t-test, p>> 0.05).*

5.12.5 Szinaptikus szerveződés

Br3b beadás esetén Br3b-ben, Br1 beadásnál Br1-ben jelent meg a legtöbb óriás boutonszerű képlet (29A, B). Br3b beadásnál Br3a-ban, Br3b-ban és Br1-ben supragranularisan dominálnak a leszámolt óriás boutonszerű struktúrák. Br1 beadás esetén fordulnak a dominanciaviszonyok: Br3b-ben és Br1-ben is tendenciaszerűen infragranularisan nagyobb számban vannak jelen, míg Br3a-ban inkább supragranulárisan (29A, B). A supra- és infragranularis eloszlásokra átlagolt értékek Br3b és Br1 beadás esetén szignifikánsan nem tértek el ($p > 0,05$; 29B; 4. táblázat). Kétutas, ismétléses ANOVA szerint nincs hatással a beadási hely az óriás boutonszerű struktúrák eloszlásértékeire ($p=0,92$).

4. Táblázat Az óriás boutonszerű struktúrák infra- és supragranularis eloszlásának statisztikai összehasonlítása Br3b és Br1 beadás esetén. Student t-teszt statisztika p értékei vannak feltüntetve. Szignifikáns érték nem volt.

	supragranularis	infragranularis
Br3a	0,37	0,56
Br3b	0,63	0,47
Br1	0,88	0,49



29. ábra. *Óriás terminális-szerű struktúrák Br3b és Br1 beadást követően.* ***A:*** *Br3b és Br1 beadás esetén a különböző áreákra (Br3a, Br3b, Br1) vonatkozó supra- és infragranularis eloszlásértékek.* ***B:*** *Supra- és infragranularis értékekre átlagolt eloszlásértékek Br3b és Br1 beadásoknál. Kétutas, ismétléses ANOVA szerint nincs hatással a beadási hely az értékekre (p=0,92).*

A fénymikroszkópban feltérképezett óriás boutonszerű struktúrák egy részét elektronmikroszkóp alatt azonosítottuk ultrastruktúrájuk alapján Br3b-ben és Br1-ben (lsd. 5. táblázat). Az intra- és interáreális afferenseket karakterizáltuk funkcionálisan releváns ultrastruktúrális tulajdonságaik és háromdimenziós szerkezetük alapján. A jelölt terminális méretét, a benne levő mitokondriumok számát, a posztszinaptikus struktúra típusát és a szinaptikus membrán specializáció számát, valamint hosszát határoztuk meg (5. táblázat).

5. Táblázat. *Boutonok (kis:6, nagy:16) kvantitatív jellemzői Br3b és Br1 beadás esetén.* ***A:*** *A bouton mérete, az állatcsoport (Br3b vagy Br1 beadás), a bouton felszíne, térfogata van feltüntetve az egyes esetekben.* ***B:*** *Az állatcsoport, a mitokondriumok száma és átlagos átmérője, valamint a posztszinaptikus struktúra (PSD) száma, átlagos felszíne szerepel a táblázatban. A metszetszám mellett a zárójelben feltüntettem µm-ben mért felszíntől való mélységet. Egy axonon több bouton is előfordult (19.-20. sorszámúak).*

A

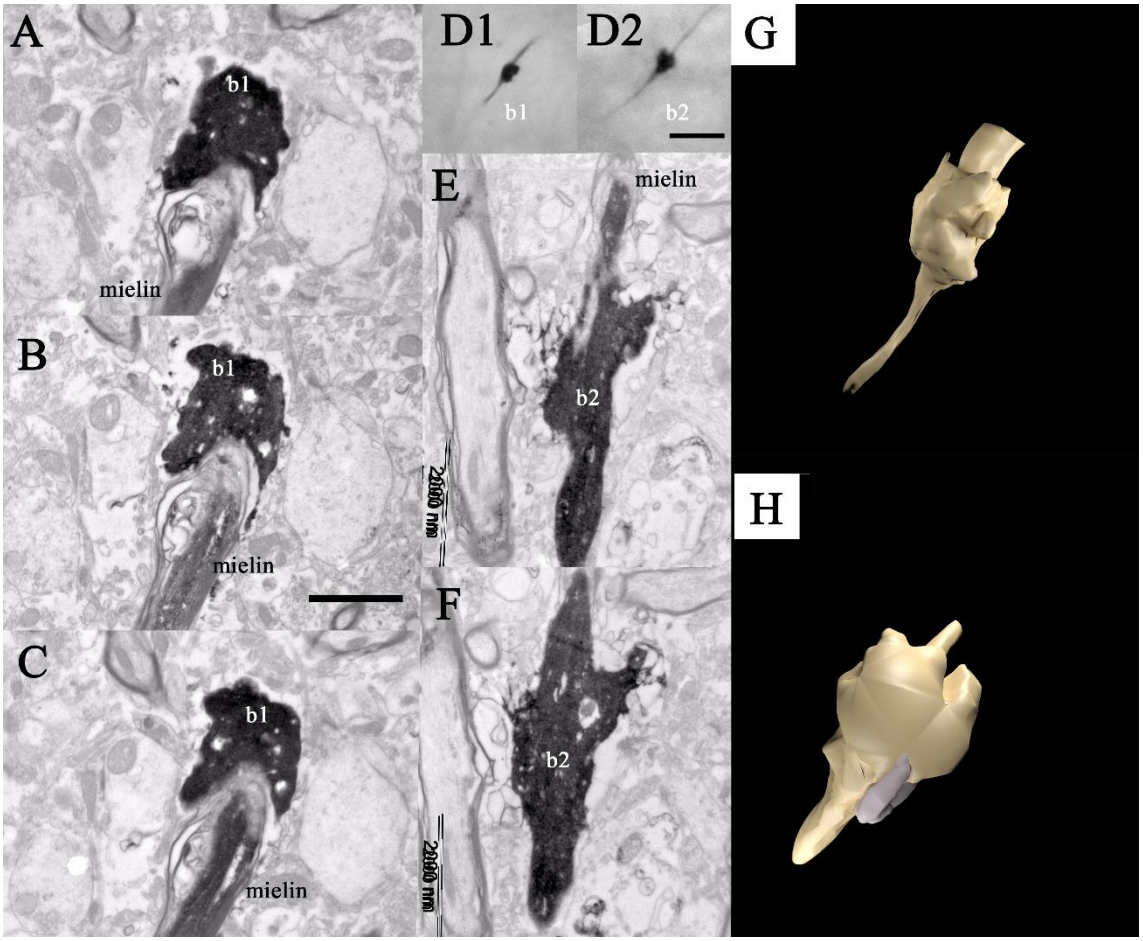
Állat_metszet-szám lokalizáció (área)	**Afferens kapcsolatának típusa**	**Állat-csoport (Br3b/Br 1 beadás**	**Bouton méret**	**Bouton felszín (µm^2)**	**Bouton térfogat (µm^3)**
1. P2_Br3b	Interáreális	Br1	Kicsi	1,2	0,76
2. P2_Br3b	Interáreális	Br1	Kicsi	0,77	0,102
3. P7_Br3b	Intreáreális	Br1	Kicsi	0,77	0,08
4. P2_Br3b	Interáreális	Br3b	Kicsi	1,6	0,24
5. P2_Br3b	Intraáreális	Br3b	Kicsi	0,5	0,04
6. VB6 k_(650)	Inraáreális	Br3b	Kicsi	1,5	0,2
7. P2_Br3b (450)	*Interáreális*	Br1	Nagy	2,2	0,3
8. VB6_Br3a (650)	*Interáreális*	Br3b	Nagy	2,2	0,3
9. P7_Br1 (1300)	Intraáreális	Br1	Nagy	22,5	7,5
10. MB9_Br1 (800)	Intraáreális	Br1	Nagy	18,1	8
11. P7_Br1 (1300)	Intraáreális	Br1	Nagy	20,9	6
12. P2_Br3b (450)	*Interáreális*	Br1	Nagy	5,5	1,4
13. P7_Br1 1. rész	Intraáreális	Br1	Nagy	4,2	1
14. P7_Br1 (1300)	Intraáreális	Br1	Nagy	9,1	2
15. P8_Br1 (1410)	Intraáreális	Br1	Nagy	16,6	6,3
16. P8_Br1 (1410)	Intraáreális	Br1	Nagy	36,3	11,7
17.P8_Br3b 1. rész (1410)	*Interáreális*	Br1	Nagy	5,6	0,7
18. P8_Br3b	*Interáreális*	Br1	Nagy	6,9	1,1
19. P8_Br3b	*Interáreális*	Br1	Nagy	4,8	0,5
20. P7_Br3b	*Interáreális*	Br1	Nagy	8,93	2,04

B

Állat_metszet-szám lokalizáció (área)	Mitokondriumok száma	Mitokondriumok átlagos átmérője (µm)	PSD száma	PSD átlagos felülete (µm^2)
1. .P2_Br3b	2	0,062	1	0,015
2. P2_Br3b	2	0,14	0	0
3. P7_Br3b	1	0,061	0	0
4. P2_Br3b	1	0,077	0	0
5. P2_Br3b	1	0,043	0	0
6. VB6 k_(650)	6	0,6	0	0
7. P2_Br3b (450)	3	0,72	0	0
8. VB6_Br3a (650)	5	1	2	0,55
9. P7_Br1 (1300)	0	0	0	0
10. MB9_Br1 (800)	7	0	0	0
11. P7_Br1 (1300)	0	0	0	0
12. P2_Br3b (450)	2	0,85	1	0,2
13. P7_Br1 1. rész	0	0	0	0,07
14. P7_Br1 (1300)	0	0	0	0
15. P8_Br1 (1410)	4	2,1	0	0
16. P8_Br1 (1410)	4	1,5	1	0,02
17. P8_Br3b 1. rész (1410)	1	1,7	1	0,8
18. P8_Br3b	2	1	1	0,6
19. P8_Br3b	2	0,8	1	0,2
20. P7_Br3b	2	0,91	0	0

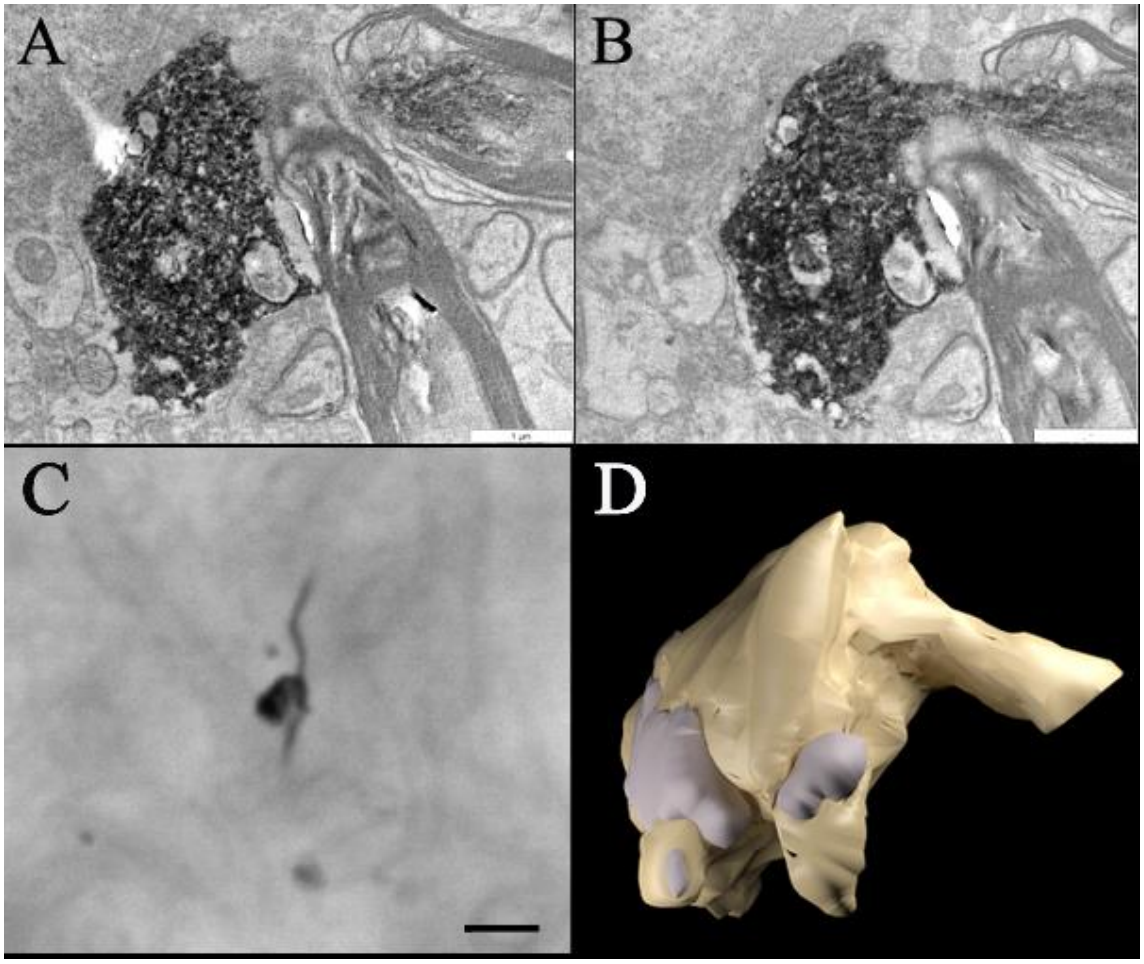
20 lemetszett óriás boutonszerű struktúrából 14 óriás terminálist azonosítottunk elektronmikroszkóp alatt, melyeket rekonstruáltunk. A rekonstruált boutonok közül előfordult néhány esetben, hogy az ultrastruktúra nem volt optimális (pl. szétesett mitokondriumok). Néhány varikozitás axonális eredetét (melyen nem lehetett a szinaptikus denzitást egyértelműen azonosítani) a jelölt tágulatban végződő, myelinhüvelyből kilépő axonnyak együttese bizonyította (30A-C, E-F; 31A, B).

Egy Br3b beadásból jelölődött óriásbouton reprezentatív képe látható a 32. ábrán. (V, Br3a). A bouton a 4. réteg alatt, a kéregfelszínétől 650 µm mélyről való. Az elektronmikroszkópos képen megjelenik két axospinosus serkentő szinapszis és kirajzolódik a varikozitás ultrastruktúrája (33B-D).

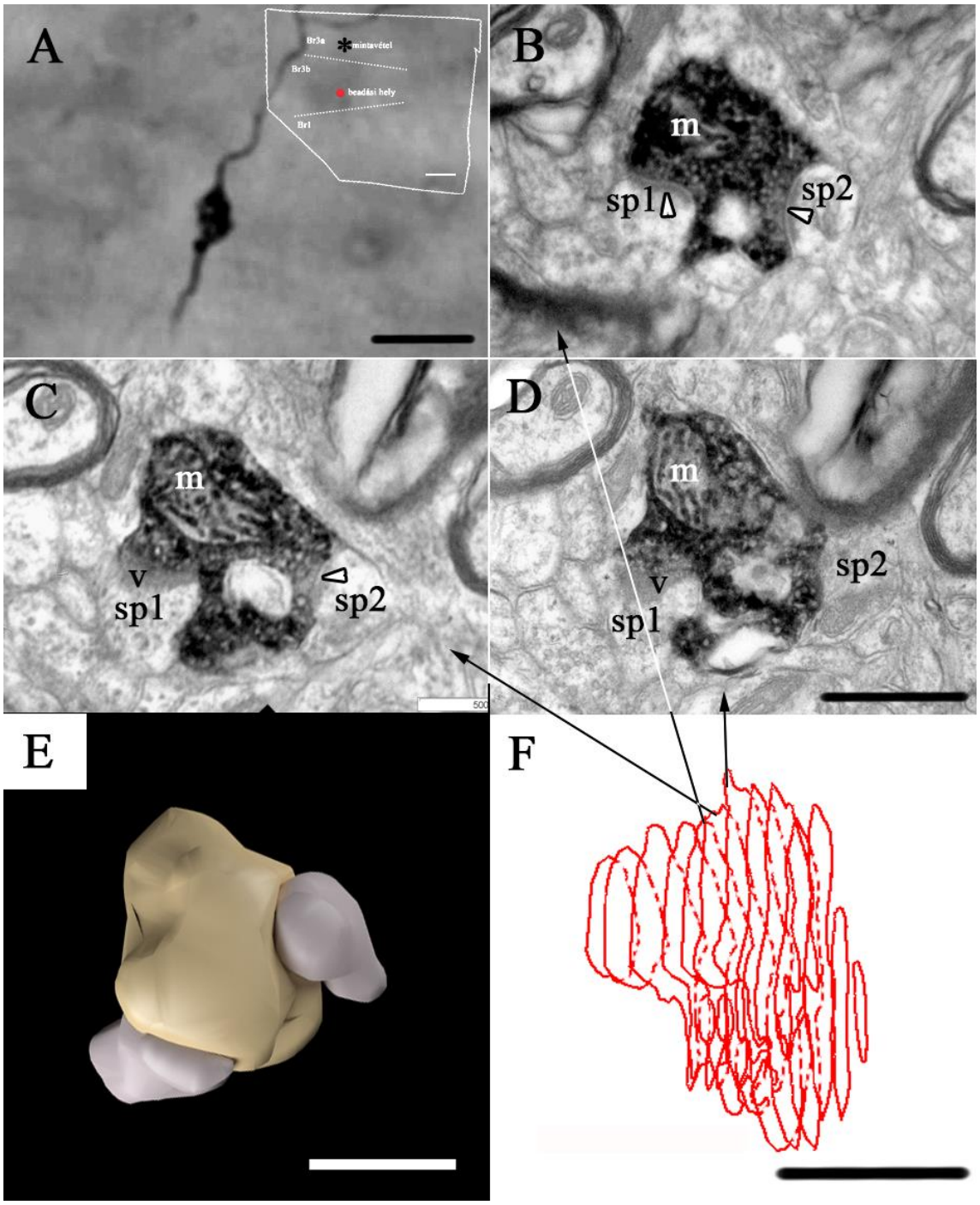


30. ábra. *Varikozitások két óriás példánya (Br1 beadás, P).*

Az óirásboutonok az infragranularis rétegből származnak (1410 µm-re a kérgi felszíntől). ***A-C, E-F****: Elektronmikroszkópos felvételeken jól kivehető az axonális eredet bizonyítéka: a myelinhüvely.* ***D:*** *Fénymikroszkópos felvétel a két boutonról (b1, b2).* ***F:*** *Az óriásboutonokról készített háromdimenziós rekonstrukció hasonló. Felszínük 17 (b1) és 36 µm^2 (b2). Aránymérték: 2 µm (A-C; E-H; B-n feltüntetve), 5 µm (D)*



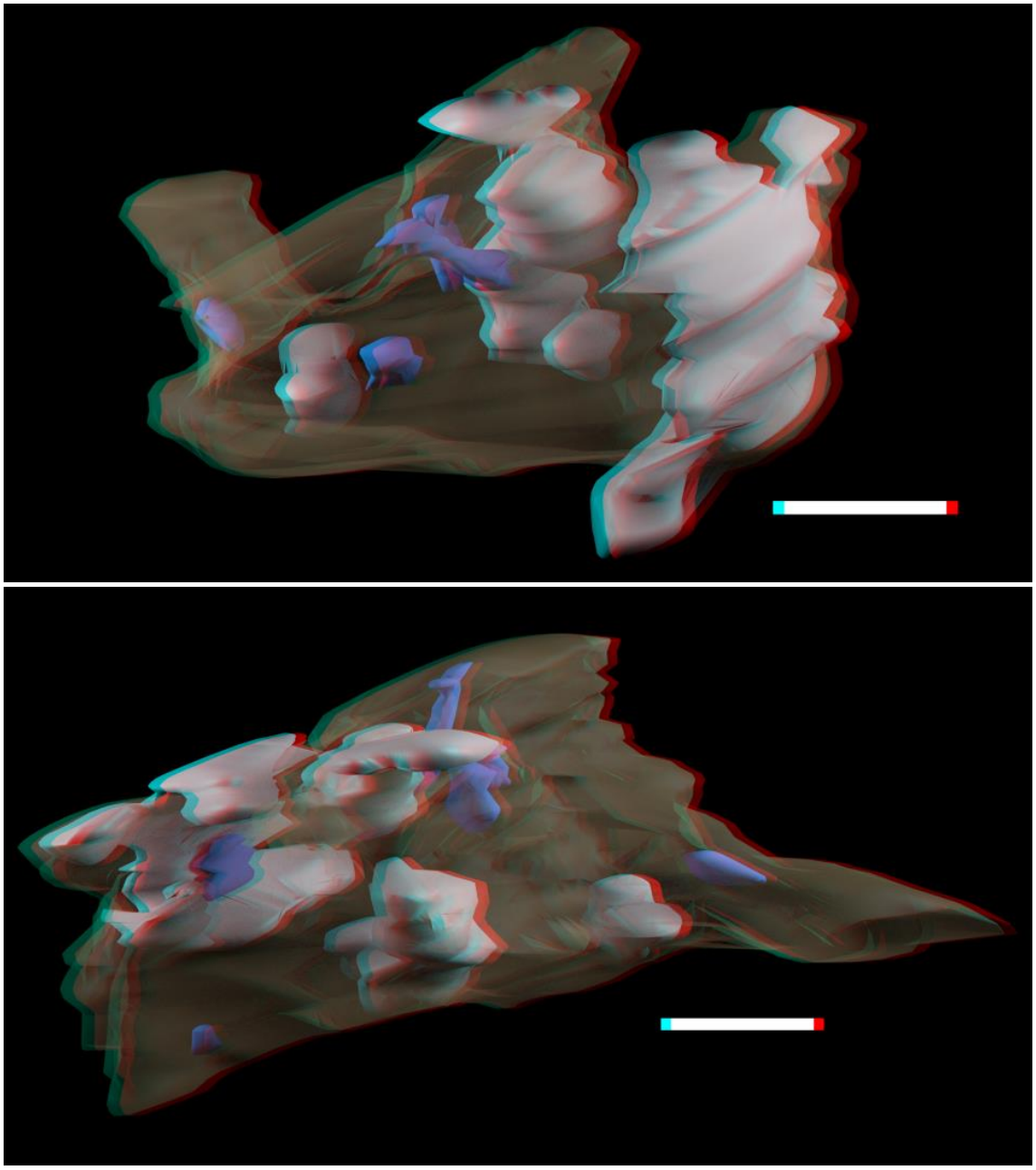
31. ábra. *Nagy, intraáreálisan lokalizálódó terminális (Br1 beadás, M majom). A felszíntől 800 µm mélyen található. A mielynhüvely még jobban kirajzolódik, mint a 31. ábrán levő két boutonnál.* ***A:*** *A bouton feje és a mielynhüvely.* ***B:*** *A bouton feje 60 µm-rel mélyebben és a mielynhüvelyes axon csatlakozása.* ***C:*** *Fénymikroszkópos kép a boutonról.* ***D:*** *Háromdimenziós rekonstrukció. A szürke alapszínű struktúra a szomszédos idegsejtek dendritnyúlványai. Felülete: 18,1 µm^2. Aránymérték: 1 µm (A, B) és 5 µm (C).*



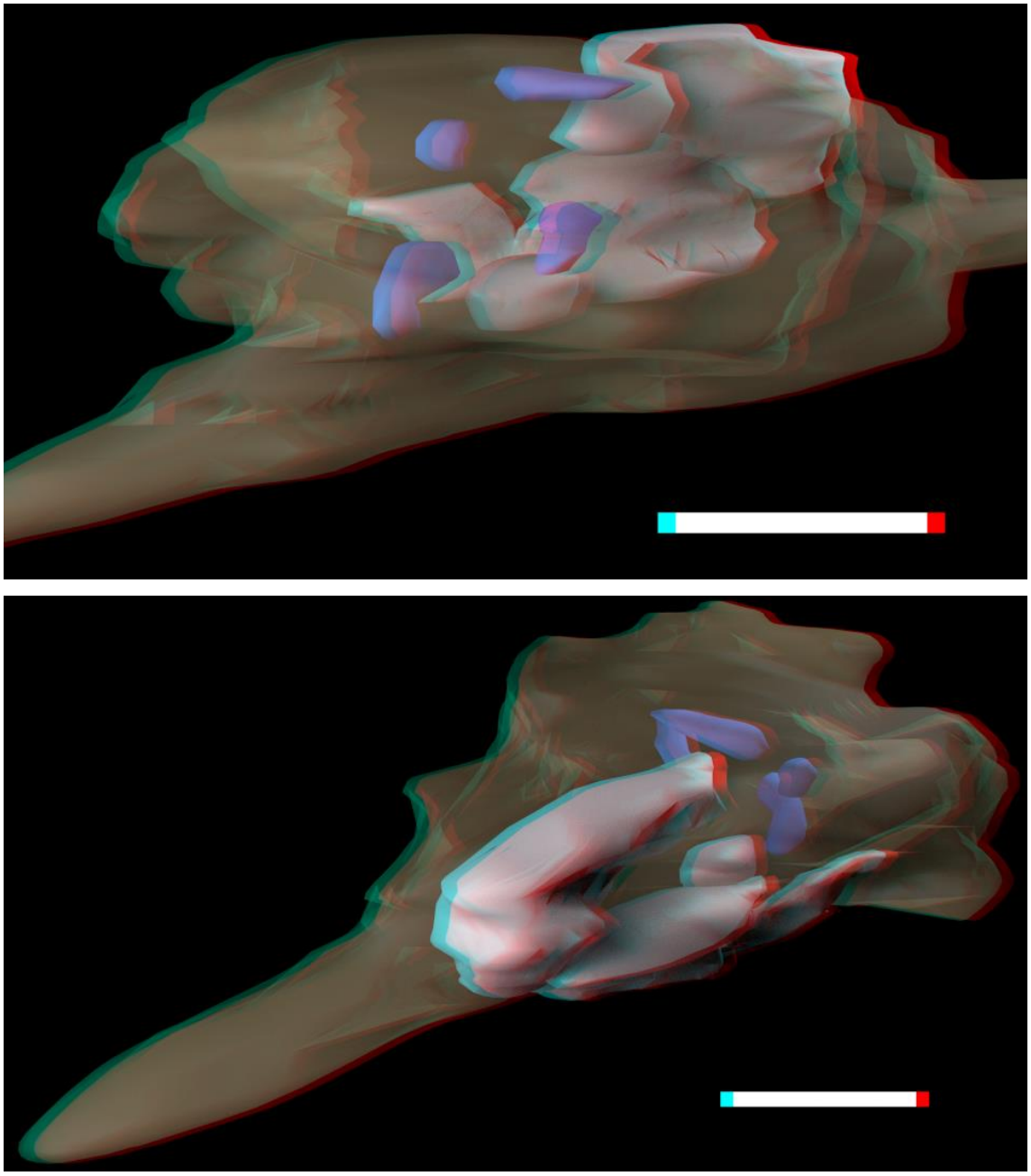
32. ábra. *Egy nagy bouton metszeteinek reprezentatív képei Br3a-ból (Br3b beadás, V majom).*

A: *BDA jelölt axonnak és varikozitásának fénymikroszkópos képe. Beillesztett kis rajz: Br3b beadás során jelölődött nagy bouton lokalizációja a Neurolucidával rekonstruált fénymikroszkópos metszeten (V6). Feltüntettük a beadási helyet (piros pont), a boutonmintavételezés helyét (fekete csillag) és az áreahatárokat (szaggatott vonalak). A*

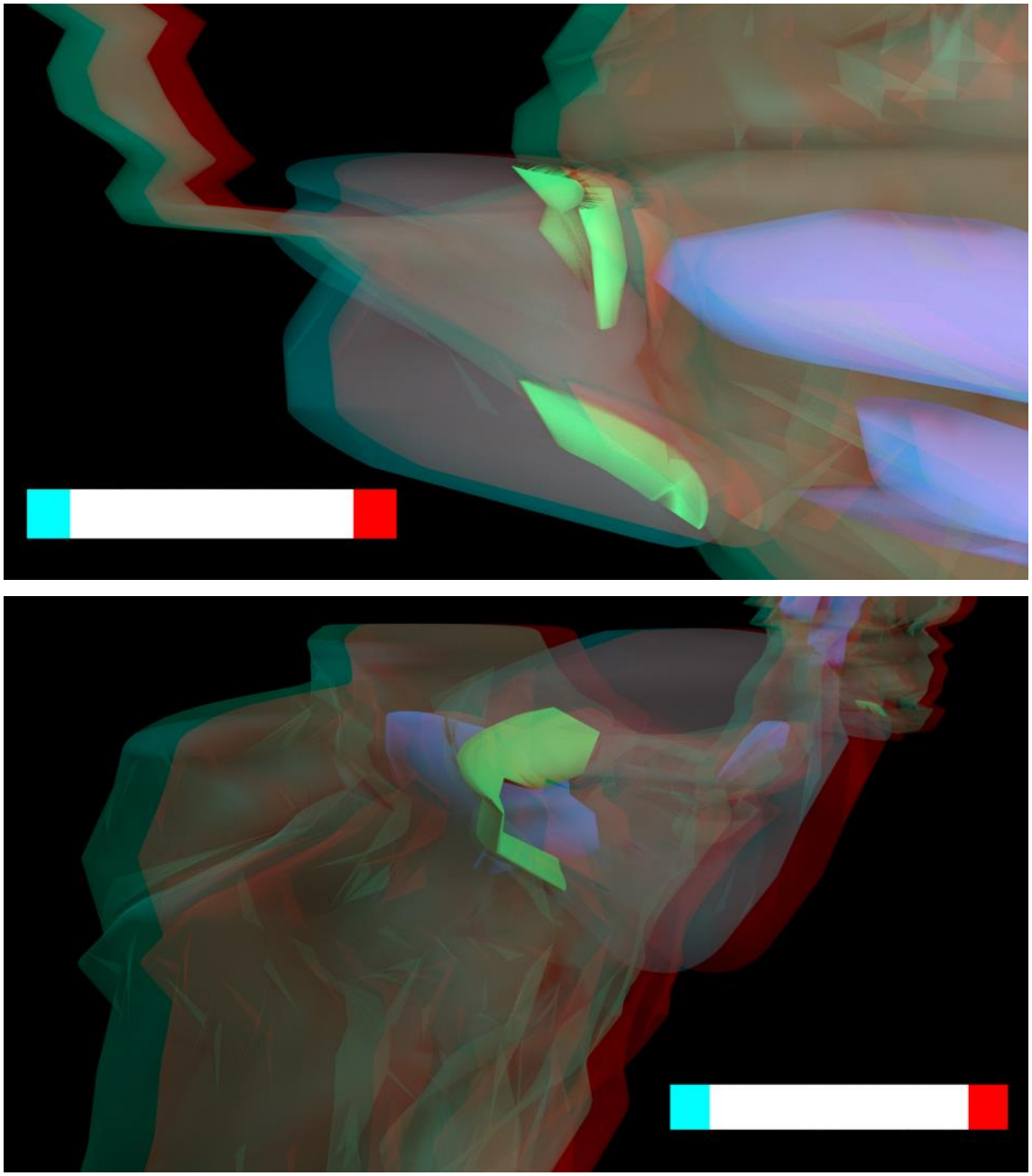
bouton a 4. réteg alatt, a kéregfelszínétől 650 µm mélyről, a Br3a-ból való. ***B-D:*** *Elektronmikroszkópos képek e varikozitásról. Végig követhető a három metszeten, hogy két oldalt két dendrittüske (sp1, sp2) képez axospinosus kapcsolatot. A szinaptikus rés (nyílhegyek), a posztszinaptikus megvastagodás és a szinaptikus kerek vezikulumok (v) arra engednek következtetni, hogy serkentő szinaptikus kapcsolatról van szó. A mitokondrium (m) lamellái leginkább a* ***C*** *és a* ***D*** *képen rajzolódnak ki a leg jobban. A baloldali kapcsolat szinaptikus vezikulumainak nagyobb része látszik az előző képhez képest.* ***E:*** *Reconstruct és Blender programmal készült 3D rekonstrukcióból exportált kép. Térfogata: 0,3 µm^3; felülete: 2,2 µm^2.* ***F:*** *A bouton illesztett metszeteinek határvonalait tüntettem fel. Fekete nyilak jelölik az elektronmikroszkóppal készült képek (C-D) sorozatban elfoglalt helyét. Aránymérték: A: 2 µm, beillesztett rajzon: 1 µm, C-F: 500 nm (D képen feltüntetett C-E-re is érvényes).*



33. ábra. *A 31. ábrán bemutatott nagy terminális (Br1 beadás, M majom) háromdimenziós rekonstrukciójának két oldaláról készült sztereo képe. A kék objektumok a mitokondriumok, a szürkék a szomszédos dendritnyúlványok. Aránymérték: 1 µm.*

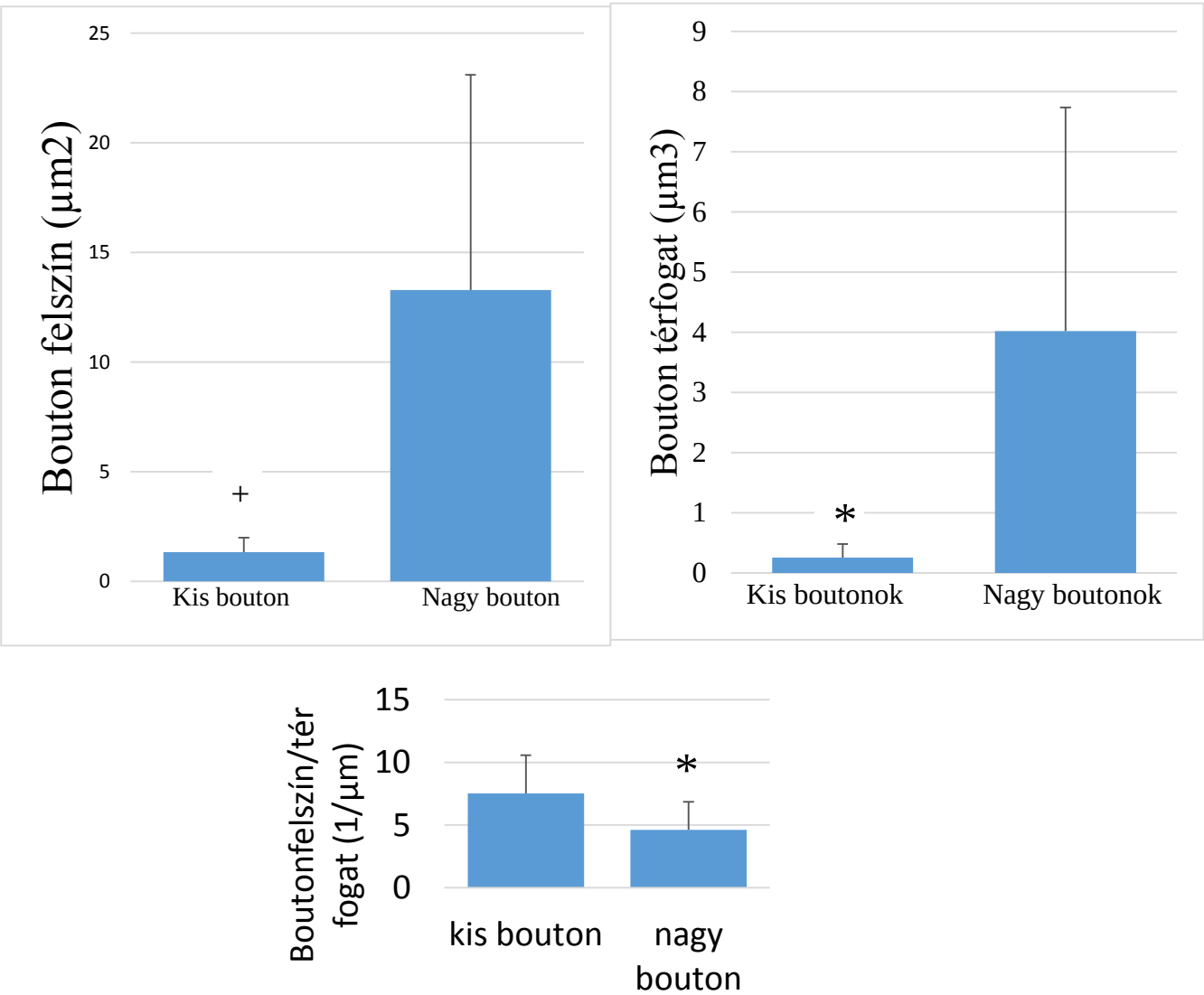


34. ábra. *Egy másik nagy terminális (Br1 beadás, P majom) háromdimenziós rekonstrukciójának két oldaláról készült sztereo képe. A bouton 1410 µm-ről a kéreg felszínétől származik. A jelölés megfelel a 33. ábrán bemutatottaknak. Aránymérték: 1 µm.*

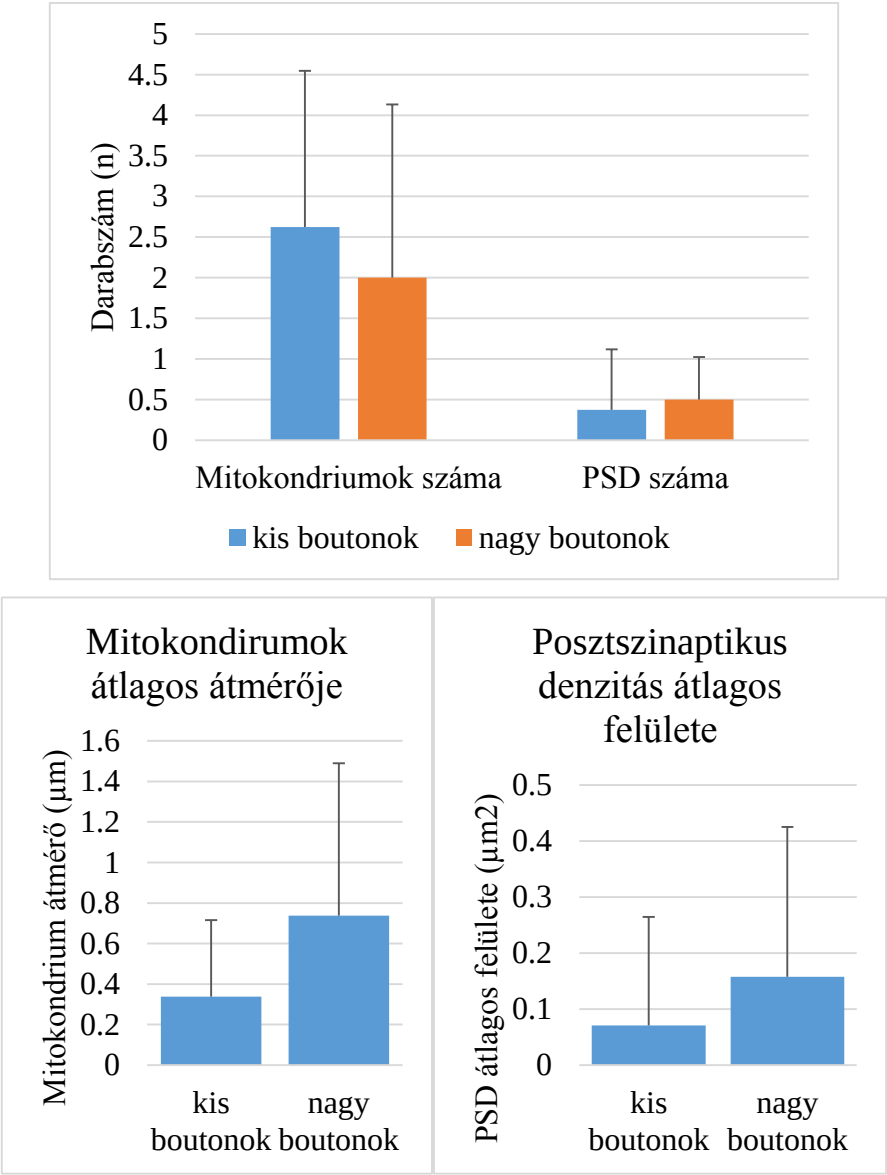


35. ábra. *Az előbbi ábrán (34. ábra) reprezentált nagy boutonnal egy axonról származó másik nagy terminális homdimenziós rekonstrukciójának sztereo képe. A jelölés megfelel a 33. ábrán bemutattaknak. Aránymérték: 1 µm.*

A kis és a nagy boutonok térfogata és felszíne szignifikánsan eltért (36. ábra). Az átlag és szórásértékek a kis boutonok felszínére: 1,34±0,65, térfogatára: 0,25±0,23; nagy bouton felszíne: 13,3±9,8 és térfogata: 4,02+3,7; t-test, $p<0,05$). A nagy boutonok morfológiája nagy komplexitást mutatott (32-35. ábra). Az azonosított boutonok egyéb ultrastruktúrális tulajdonságában nem találtunk eltérést (37. ábra). A nagy boutonok felület/térfogat aránya kisebb volt, mint a kisboutonok esetén ($p<0,05$; 36. ábra).



36. ábra. *A kis és a nagy boutonok felszínének és térfogatának az összehasonlítása (felül). Az alsó diagramon a felszín/térfogat arány van feltüntetve. Az eltérés szignifikáns volt mindegyik esetben (t-test, $p<0,05$).*



37. ábra. *A boutonok ultrastruktúrájából meghatározott paraméterek össszehasonlítása a nagy és kis boutonok esetén: mitokondriumok száma és átlagos átmérője, a poszszinaptikus denzitások száma és átlagos felülete. A t-test nem mutatott szignifikáns eltérést az egyes esetekben (p>0,05).*

6. Megbeszélés

Jelen munkákban optical imaging és elektrofiziológiai azonositott helyre injektáltunk kétirányban transzportálódó pályajelölő anyagot és a transzport somatotop térképhez való viszonyát értelmeztük. Fontos megjegyezni, hogy a distalis ujjbegyreprezentációk kapcsolati összefüggéseit kombinált anatómiai és funkcionális dimenziókban korábban még nem vizsgálták. Lehetőségünk volt ezzel a módszerrel mind a bemeneti (idegsejttestek), mind a célterületek (axonok, terminálisok) áreán belüli és szomszédos áreák közötti kapcsolatainak vizsgálatára. Eredményeinkben beszámoltunk Br3b és Br1 összeköttetéseinek hasonló és különböző tulajdonságairól. Ezek az eredmények egybehangzóak a korábbi munkák eredményeivel (Krubitzer és Kaas, 1990; Burton és Fabri, 1995; Manger és mtsai, 1997; Fang és mtsai, 2002; Coq, 2004, Sur és mtsai, 1980; Iwamura 1998; Liao és mtsai, 2013). A korábbi pályajelölő tanulmányok (Krubitzer és Kaas, 1990, Burton és Fabri, 1995; Manger és mtsai, 1997; Fang és mtsai, 2002) nagyobb kiterjedésű és tömeges jelöléssel dolgoztak és nem adtak pontos anatómiai leírást a lokális hálózatokra. A részleteket a következőkben tárgyalom.

6.1 Metodikai szempontok

6.1.1 Kétirányú pályajelölés

Az alacsony és a magas molekulasúlyú BDA kombinálásával történő kétirányú neuronális pályajelölési technikát korábban használták főemlősök agykérgében már (Rockland és Knutson, 2000, 2001; Li és mtsai, 2003). A kétirányú jelölés lehetséges hátránya az, hogy a beadási helytől distalisan elhelyezkedő neuronok axonjai is jelölődhetnek a transzportidő/távolság függvényében. Ebben az esetben a retrográd jelölt neuron a kapcsolat irányára vonatkozóan megtévesztő képet adhat (ún. „másodlagos”, „hamis anterográd” rostokká és célterületté válik). Habár a „másodlagos” célelemek és rostok kiszelektálására nincs mód, (a részleges mintavételezés miatt a neuronok teljes rekonstrukciója nem lehetséges), mégis elhanyagolhatóak a mi esetünkben. A beadási helytől kifelé irányuló anterográd axonok distalis végeik felé ágaznak el, ami egybeesik a terminális arborizációk helyével. Kísérleteinkben a terminális foltok a sűrű retrográd neuronális helyeken lokalizálódtak (reciprocitás), azonban axonális visszatöltődéssel az arborizációk jelentős retrográd jel nélküli régiókban akkumlálódtak (divergencia).

Más módszertani tényező, ami befolyásolhatta az eredményeinket: a beadást követő *túlélési idő* és *kísérleti különbségek*, melyek az injektálás alatt jelentkeztek. A hosszabb túlélési időnél a túlságosan erősen jelölt terminális foltok megjelenését azzal a kritikával kell fogadni, hogy „másodlagos" anterográd visszajelölődés következménye lehet. A 3K molekulasúlyú BDA-hoz viszonyítva a 10K molekulasúlyú BDA szelektívebb anterográd neuronális jelölőanyag (Rockland és Knutson, 2000) és transzportja lassabb. Egy másik jelentős faktor a beadáshoz használt üvegkapillárisok méretében való különbözőségek. A vékonyabb kapillárisok több tracer kiszivárgását eredményezhetik, amely pedig több anterográd és retrográd jelölt struktúrát jelöl meg. Végül bármilyen kis szöveti károsodás, amelyet a kezdeti elektrofiziológiai térképezés alatti elektród-behatolás, penetráció okozott, befolyásolhatja a BDA transzportját. Fontos megjegyezni, hogy lényegi eltérés nem volt az állatok között az anterográd és a retrográd jeleloszlásban. Ezen felül a kvantitatív megközelítés (beleértve a normalizációt is) nagyrészt csökkenti az agyszövet állapotából adódó egyedi különbségeket (pl. a műtéti beavatkozás alatti duzzadás mértéke).

6.1.2 A funkcionális térkép és az illesztés pontossága

Egy másik fontos technikai tényező, amit a Módszerek részben leírtunk, hogy teljes, részletes elektrofiziológiai térképek nem készültek Br3b beadásoknál; így az áreahatárokat és ujjreprezentációkat csak becsülni tudtuk. Ugyanakkor az optical imaging eljárásból kapott térképek segítségével megbízható következtetéseket vonhatunk le a megfigyelt kapcsolati mintázat specifitására nézve.

Az illesztéseinkre vonatkozóan megjegyezhetjük, hogy eljárásunkban az optikai hibákból (fénymikroszkóp és mikroszkópos fényképezőgép lencserendszere: szférikus/gömbi aberráció), szöveti- és rekonstrukció-módszerből számos lehetséges torzulás adódhatott, s ez oka lehet a nem tökéletes illesztésnek.

Fontos azt is megjegyezni, hogy a látókéregből szerzett hasonló tanulmányokkal összehasonlítva (pl. Ts'o és Gilbert, 1986; Malach és mtsai, 1993; Sincich és Blasdel, 2001; Ts'o és mtsai, 2001; Buzás és mtsai, 2006), viszonylag nagy metszeteket használtunk, melyek illesztése még nehezebb. A beadási helyhez illesztve, attól távolodva a szövettani metszetek közötti eltérés nőtt, de alapvetően nem változtatta meg eredményeinket.

6.1.3 Br3b és Br1 beadások egyedi különbségei

Néhány különbséget figyelhetünk meg Br3b beadások esetén a három eset között. Mc-ben nem homotóp, hanem a szomszédos ujjbegy reprezentációjában jelölődött a legtöbb neuron retrográd és anterográd módon. V esetén Br1-ben hiányzó fiziológiai mérések miatt csak feltételezzük, hogy a legsűrűbb jel a homotóp régióban jelent meg. A megfelelő transzportidő miatt V és Mc esetén Br1-ből a szomszédos ujjak területéről is indulhattak kapcsolatok Br3b-be, ami jelentheti, hogy az ujjak közötti integráció már Br3b-ben elkezdődik. J majom rövid transzportideje miatt kisebb, homotóp területre szorítkozik a legsűrűbb retrográd jel, míg a terminális arborizációk a homotóp ujjbegyrégión kívülre akkumlálódnak.

P esetében a BDA beadás nagyobb kiterjedésű retrográd és anterográd jelet eredményezett és széleskörű eloszlást az intrinszik kapcsolatokban, mint a másik két esetben. Az área rostralis részébe való mediolateralis nagy kiterjedés P-nél felveti azt a lehetőséget, hogy az intrinszik kapcsolatok az ujj proximalis részeibe is kiterjednek Br1-ben. P-ben a beadott ujj centrumának optical imaging-térképén az aktivációs terület peremére sikerült a beadás, melyet a középső ujjrész közelsége jelez az elektrofiziológiai térképen (14C). Mo-ban hasonlóan, a beadás az IOS térképen a distalis ujjbegy reprezentáció perifériájára sikerült, mely eredményezhette, hogy az IOS aktivációs mintázathoz képest kissé elcsúszott az anatómiai jel Br3b-ben is. Mo-ban az elektrofiziológiai térkép szerint a megfelelő helyre adtunk be, Br1 distalis ujjbegy reprezentációs területére.

6.2 A terminális arborizációk jelentősége

Tanulmányunkban a terminális arborizációk foltszerű eloszlását figyeltük meg korábbi tanulmányokhoz hasonlóan (Krubitzer és Kaas, 1990; Lund és mtsai, 1993; Manger és mtsai, 1997). Lund és munkatársai (1993) lejegyezték, hogy főemlősökben az anterográd jel foltos organizációja kevésbé nyilvánvaló a somatosensoros kéregben, mint a látókéregben. Jelen munkánkban a terminális foltok többsége jól látható volt fénymikroszkóppal. Habár a sűrűség és jelerősség a foltokban különbözött, a kisebb sűrűségű axonarborizációkat nehéz volt egyértelműen körbehatárolni és így a kvantitatív eredmények emiatt is megközelítő jellegűek. Néhány kevésbé sűrű terminális folt kimaradhatott az analízisből. Ugyanakkor a sűrű axonhálók körberajzolása egyértelmű

volt. Az azonosított foltok mérete ebben a tanulmányban a korábban leírtakhoz (Lund és mtsai, 1993; Sincich és Blasdel, 2001) hasonló volt. A terminális foltok hasonló méretűek (200-350 μm) a korábban leírt funkcionális doménekkel is, mint az RA, SAI, PC columnák (Chen és mtsai, 2001; Friedman és mtsai, 2004).

A predikciót megerősítve a lehetséges célterületek közül csak a terminális axonarborizációkban jelentek meg nagy sűrűséggel jelölt boutonszerű struktúrák. Analízisünk alátámasztja, hogy a terminális foltok reprezentálják a distalis ujjbegy reprezentáció specifikus célterületeit a postcentralis somatosensoros kéregben. Továbbá eredményeinkben láttuk, hogy leginkább a terminális foltokban nyilvánul meg az, hogy a somatosensoros kéreg különböző területei között mind a lokális, mind a távoli asszociációs kapcsolatok reciprok jellegűek. A jelölt boutonszerű struktúrák a kevésbé sűrű retrográd területeken mindegyik tanulmányozott áreában kevésbé fordultak elő. Az elszórt jelölés végighúzódik a Br3b és Br1 területén és magába foglal sok szomszédos áreát is, ami széleskörűen lehetővé teszi a küszöbalatti interakciókat a gyrus pre- és postcentralisban. Ilyen kapcsolati mintázat képezheti a neuroanatómiai alapját pl. a reprezentációs vagy crossmodalis plaszticitásnak (Pl. Calford, 2002).

6.3 Br3b és Br1 reciprok kapcsolatai

Br3b és Br1 egymással és más áreákkal alkotott kapcsolatai *reciprok* módon szerveződnek. Ezt mutatja az, hogy a terminális foltok és neuronális sejttestek legsűrűbb területei átfedtek egymással. A percepcióban és a sztereognosiában is az áreák összehangolt működése elengedhetetlen. Ugyanakkor Br1 és 3a-vel alkotott kapcsolata egyenlőtlen: Br1 sűrűn projiciál Br3a-ba, de csak kevés bemenetet kap tőle. Ez az eredmény összhangban van a léziós tanulmányok eredményeivel, miszerint Br1-ben történt mikroléziók csak anterográd, és nem retrográd degenerációt okoztak Br3a-ban (Shanks és mtsai, 1985). A mechanikusan kiváltott fájdalom esetén a nocicepció és a nyomás kódolása elkülönül Br3a és Br3b-ben (a fájdalmat Br3a kódolja; Chen és mtsai, 2009). A fájdalom érzékelése és elkerülése életfontosságú funkció lehet, így az ilyen aszimmetrikus kapcsolat kulcsfontosságú lehet a gyors reakcióidőben. Ugyanakkor a tapintási feladatok megoldása összetettebb, több área együttműködését igényli. Feltételezések szerint a fájdalomra való szenzitivitás növeli a predátorral szembeni túlélési esélyeket (Price és Dussor, 2014).

6.4 *Br 3b és Br1 összeköttetései*

Két área közti hasonlóságok. Korábbi kombinált intrinsic optical imaging és elektrofiziológiai kutatások kimutatták, hogy Br3b és Br1 intrinsic kapcsolatai **szomszédos ujjbegyek** reprezentációs területeivel valósul meg nem-humán főemlősökben (Chen és mtsai, 2003; Friedman és mtsai, 2008; Reed és mtsai, 2010, 2012; Thakur és mtsai, 2012). A jeleloszlás *mediolateralis* irányát és a *lokális* kapcsolatokat illetően funkcionális térképek alapján megállapítottuk, hogy mind Br3b-ben és mind Br1-ben a szomszédos ujjak distalis ujjbegy reprezentációi kapcsolódnak a legerősebben egymáshoz. A kapcsolatok a szomszédos ujjak között voltak a legerősebbek korábbi optical imaging és elektrofiziológiai kutatásokkal egybehangzóan (Chen és mtsai, 2003; Friedman és mtsai, 2008; Reed és mtsai, 2010, 2012; Thakur és mtsai, 2012), de kiterjedtek kisebb sűrűséggel a nem szomszédos ujjak reprezentációira is. Az *áreák közötti* kapcsolatok a jeleloszlás *anteroposterior* tengelyét képezik. Br3b és Br1 ujjbegy reprezentációjának neuronjai interáreálisan a szomszédos áreák **homotóp** területeivel létesítenek kapcsolatot. Br3b a szomszédos somatosensoros kérgi részekkel alkotott kapcsolatai – leginkább Br1-el – kis területre fókuszálódtak és főleg a beadási helyek reprezentációival homotóp régiókra szorítkoztak. Br1 és Br3b kapcsolatának szorosságát bizonyítva Br1 is preferáltan Br3b-vel létesített kapcsolatot, ezen belül is Br1 beadási helyével homotóp régiókban.

Két área közti különbségek. Br1 beadások esetén a retrográd sűrűség térképeken a közepes- és az alacsony sűrűségű régiók a szomszédos áreákban kiterjedtebbek voltak, mint Br3b beadásoknál, ahol Br1-re lokalizálódott a retrográd jel. Ezek a nagy sűrűségű régiók körül helyezkedtek el. A felszíni receptorokból (SAI) érkező taktilis információ eredményeink szerint Br3b-ból nagyrészt Br1-en keresztül juthat tovább a szomszédos áreákba (Br3a, Br2). Ami az intraáreális kapcsolatokat illeti, a terminálisok eloszlása rostrocaudalis és lateromedialis irányba is kiterjed Br1 beadásoknál. Br1 beadásoknál az intra- és interáreálisan több ujjra kiterjedő retrográd és anterográd jeleloszlás Br1 több ujjra kiterjedő receptív mezőtulajdonságaival függhet össze. Összehasonlítva a Br3b beadásoknál kapott eredményekkel az ujjbegyet képviselő neuronok Br1-ben a proximális ujjrészekkel is jelentős kapcsolatot létesítenek mind az intraáreális, mind az interáreális kapcsolatokat tekintve.

6.5 Br3b és Br1 hierarchikus viszonya

6.5.1.1 Rétegeloszlás, SLN, SLP

Egyrészt az előre-és a visszacsatolt kapcsolatok eloszlásának ismerete segítségével lehet meghatározni a hierarchikus viszonyokat a kéregben. Felleman és Van Essen összefoglalásából kiderül, hogy a kérgi kapcsolatok eloszlása fontos a hierarchia meghatározásában. Azok az áreák, amelyek leszálló, visszacsatolt terminálisokat kapnak, a hierarchiában alsóbb szintet képviselnek (Felleman és Van Essen, 1991; 6. ábra). A felszálló kapcsolatokra jellemző a neuronok supra-és infragranularis dominanciája és a granularis rétegbeli terminálisok, míg a visszacsatolt projekcióra döntően az infragranularis sejtek (5. rétegbeliek) valamint az infra és supragranularis rétegekben végződő (főleg az első és 6. rétegben levő) terminálisok dominanciája. Jelen tanulmányunkban a két área lamináris kapcsolatai szimmetrikusak; mind a neuronok, mind a terminális arborizációk supragranularis dominanciát mutattak. Ezek az eredmények alátámasztják a két área közötti lateralis, reciprok kapcsolat meglétét, melyet a 2. és 3. rétegbeli neuronok képeznek. Az SLN és az SLP arányok alátámasztják a két área között levő reciprocitást.

6.5.1.2 Kérgi nagyítási faktor

Eredményeink alátámasztják a korábbi vizsgálatokat (Sur és mtsai, 1983; Chen és mtsai, 2003; Friedman és mtsai 2008), miszerint ugyanakkora bőrfelület reprezentációja Br3b-ben nagyobb, mint Br1-ben. A konvergencia egyre jelentősebb a hierarchiában felfelé haladva az egyes kérgi régiókban. A kérgi nagyítási faktor a receptívmező mérettel fordítottan arányos, s a CMF Br3b-ben nagyobb, mint Br1-ben (Friedman és mtsai, 2008). Ugyanakkora bőrterületről származó információ kisebb kérgi területre konvergál Br1-ben, mint Br3b-ben és ez a jelenség a hierarchiában felfelé haladva nő. A konvergencia során több neuronból érkezik információ, ami összeadódik Br1 neuronjaiban.

6.5.1.3 Moduláris szerkezet

A perifériáról érkező különböző vibrotaktilis (SAI, RA, PC) információt PS-ben elkülönült funkcionális kérgi domének dolgozzák fel. A postcentralis somatosensoros kéreg első állomásában, Br3b-ben jól elkülönülnek a modalitás specifikus domének (Sur és mtsai, 1984, Chen és mtsai, 2001). Bár Br1-ben is megmarad a modalitásspecifitás, de

a különböző szubmodalitások egyetlen idegsejten is konvergálhatnak (Iwamura és mtsai, 1985), s a komplexebb ingerek integrációjával csökken a specifikusság. Br3b és Br1 moduláris szerkezetének anatómiai hátterét vizsgáltuk a BDA-val legsűrűbben jelölt retrográd területtel arányos legkisebb Voronoi cellák eloszlását ábrázolva a beinjektált terület függvényében. Az eloszlásban különbség adódott a két beadás között: Br3b beadás esetén egy bizonyos távolságban a kisebb méretű Voronoi cellák csoportosulását figyeltük meg, mely a szomszédos ujjbegynek a beinjektált ugyanazon szomatotóp területére esett. Br1-ben diffúz módon oszlott meg a mért paraméter. Ez a különbség abból adódhatott, hogy a specifitás Br3b-ben kifejezettebb és Br1 neuronjai receptívmező tulajdonságai összetettebbek. Habár magasabbrendű PS áreák elektromos stimulálása is modalitásspecifikus érzést vált ki (Uematsu és mtsai, 1992; Hernandez és mtsai, 2000) a specifitás csökkenése kifejezettebbé válik a hierarchián felfelé haladva az összehangoló funkció megnőtt szerepével párhuzamosan. Érdekes azonban, hogy mi lehet az anatómiai háttere annak, hogy a submodalitások (pl. vibráció) érzékelése mégis elkülönült marad a taktilis feladatokban, amelyek magasabb agykérgi feldolgozást igényelnek (tanulás, memória, diszkrimináció; Harris és mtsai, 2001).

6.5.1.4 Szinaptikus szerveződés, óriásboutonok

Az axonterminálisok anatómiai tulajdonságai alapján jellemezni lehet neuronális hálózatokat, de a corticocorticalis kapcsolatok szinaptikus tulajdonságairól keveset tudunk. A kéregben a glutamáterg útvonalak kapcsolatai két csoportra válnak. Az első csoportba tartozó nagy szinaptikus terminálisok szinaptikus válaszai nagy kezdő EPSP-vel, valamint párosított depresszióval rendelkeznek, amely ionotróp glutamát receptorokat aktivál (1B csoport; Covic és Sherman, 2011; DePasquale és Sherman, 2011). A másik csoportra jellemző a kisebb kezdeti EPSP-k, párosított facilitáció és metabotróp glutamát receptort aktiválnak kis szinaptikus terminálisokkal (De Pasquale és Sherman, 2011; Liu és Sherman, 2014).

A két csoport hierarchiában elfoglalt helyére vonatkozó anatómiai vizsgálatok a thalamus és a kéreg kapcsolataira vonatkozóan történtek. Ebből az ismeretből tudunk kiindulni, ahol a magasabbrendű thalamikus magok kéreggel alkotott kapcsolatai kevesebb nagy, meghajtó jellegű terminálissal rendelkeznek, mint a thalamus alacsonyabbrendű magjai (Lee és Sherman, 2008). A glutaminerg intracorticalis útvonalak meghajtó jellegű, fő projiciáló axonvégződéseinek fiziológiai tulajdonságai

óriásterminálisokra jellemző (De Pasquale és Sherman, 2011; Liu és Sherman, 2014). Eredményeink azt a tendenciát mutatják, hogy a kérgi kapcsolatok a feedforward és feedback merev kategóriáknál bonyolultabb rendszert alkotnak. Az óriásterminálisok között találtunk olyan axonvégződéseket, amelyek célterületüket még nem determinálták, strukturális jellegük plasztikus folyamatokra utalhat. A hierarchiai vonatkozásban ezek az eredmények nem diszkriminálhatóak. Érdekes módon összességében Br1 beadás esetén több óriásboutonszerű struktúrát találtunk Br3b-ben, mint Br3b beadásakor, mely utóbbiak egy részéről kiderült az ultrastruktúrális vizsgálatokból, hogy nem axonvégződés, és néhány más végződésről pedig, hogy nem differenciált axonterminális. Br3b területén mindkét beadáskor több óriásboutonszerű struktúrát számoltunk. Az intracorticalis meghajtó jellegű, glutaminerg terminálisok anatómiai leírása, szerepe és eloszlása kevésbé tisztázott. Fontos megjegyezni az óriásboutonszerű struktúrák fénymikorszkópos elemzéseire vonatkozóan, hogy az óriás terminálisok rétegeloszlásának eredményeit befolyásolhatta az a tény, hogy a sorozatból több metszet hiányzott (lásd Módszerek).

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok analíziséből kiderült, hogy az azonosított óriásboutonok intraáreálisan fordulnak elő inkább, ugyanakkor érdekes, ugyanolyan eséllyel képeznek szinapszist a környező sejtekkel, mint a kisboutonok. A nagy boutonok eloszlása és ultrastruktúrája az előre- és visszacsatolt kapcsolatok tükrében még további tisztázásra vár. Az óriásboutonok intraáreális lokalizációja, ezek nagysága, komplex morfológiája esetleg áreán belüli plasztikus folyamatokra is utalhat. A taktilis feladatoktól függően, s ezek megváltozásával összefüggően az PS kéregben plasztikus változások mennek végbe az ujjak reprezentációs területeiben (Merzenich és Jenkins, 1993) és a gerincvelői léziók után az egyujjas ingerléskor a kérgi reorganizáció következtében egy ujjon belül tolódik el az aktiváció centruma (Yang és mtsai, 2014).

6.6 Új nézetek a Br 3b és a Br1 kézreprezentációik funkcionális integrációjáról

Újabb elektrofiziológiai tanulmányok komplex tér-időbeli receptívmező-struktúrát tulajdonítanak Br3b és Br1-nek (Sripati és mtsai, 2006; Reed és mtsai, 2010; 2012; Thakur és mtsai, 2012). Ezek anatómiai bizonyítékai az intrinszik és interáreális kapcsolatok a distalis ujjbegy területén belül, mind Br3b, mind területén.

6.6.1 Br3b kapcsolati mintázata

Az elterjedt nézet Br3b organizációjáról az, hogy a sejtek egyszerű ingerre válaszolnak, s egy ujjra korlátozott, jól körülhatárolt receptív mezővel rendelkeznek (pl. Sur és mtsai, 1985; DiCarlo és mtsai, 1998). Ezzel szemben a jelen elektrofiziológiai tanulmányok jelentős ujjak közötti integráció meglétére világítottak rá Br3b-ben (Reed és mtsai, 2008, 2010a; Lipton és mtsai, 2010). További tanulmányok felvetik, hogy a legerősebb interakció a szomszédos ujjbegyrégiók között valósul meg (Thakur és mtsai, 2012). A taktilis tölcsérillúzióról készült optical imaging és fMRI tanulmányok megmutatták, hogy több ujjbegy stimulációja egy jól körülhatárolható corticalis terület aktivációját eredményezi Br3b-ben és Br1-ben is. Ez további bizonyíték az ujjak közötti integráció jelentőségére (Chen és mtsai, 2003, 2007; Friedman és mtsai, 2008). Ennek funkciója lehet a küszöb alatti ingerek felerősítése azon a területen, amely körül a lateralis gátlás felerősödik (Friedman és mtsai, 2008). Az elektrofiziológiai és imaging megfigyelésekkel egybehangzóan neuroanatómiai eredmények jelzik, hogy erős kapcsolat van a distalis ujjbegy reprezentációk területén Br3b-ben (Krubitzer és Kaas, 1990; Burton és Fabri, 1995; Manger és mtsai, 1997; Fang és mtsai, 2002). A komplex kérgi neuronális hálózatok elősegítik a többujj-integrációt. Mindemellett a terminális axonarborizációk eloszlása Br3b-ben és Br1-ben indikálja, hogy az ujjak közötti taktilis információ integrálása már a kérgi feldolgozás kezdeti szakaszában, Br3b-ben elkezdődik. Feltételezzük, hogy Br3b Br1-ből való visszacsatolás révén kiemelt szerepet játszik a tárgyak globális taktilis tulajdonságainak több ujjreprezentációban való feldolgozásában, az ujjak közötti taktilis információ továbbításában (Kappers, 2011), valamint a többujjas feladatokban és haptikus explorációban (Dijkerman és de Haan, 2007).

Az interáreális kapcsolatokra való tekintettel ez a tanulmány létező nézeteket támaszt alá. Br1 a felszálló bemeneteinek zömét az Br3b-ből kapja (Shanks és Powell, 1981; Jones, 1983) ennek megfelelően Br3b kézreprezentáció specifikus részeinek az irtása Br1 megfelelő kézreprezentációs területeinek inaktivációját okozza (Garraghty és mtsai, 1990), s korábbi tanulmányok is felvetik a mai nézet szerint nyilvánvaló hierarchikus kapcsolatot Br3b és Br1 között (pl. Powell és Mountcastle, 1959; Sur és mtsai, 1985).

6.6.2 Br1 kapcsolati mintázata

Az intrinszik kapcsolatok a szomszédos ujjak között jelentősek, és az interáreális kapcsolatok a homotóp reprezentációkra lokalizálódnak. Bár összehasonlítva Br3b-vel, Sripati és mtsai (2006) azt találták, hogy a nemlineáris tulajdonságok erősebbek (a tulajdonságok szuperadditívak, nem csak összeadódnak) Br1 receptív mezőstruktúrájában, és arra következtetett, hogy az ilyen feldolgozás részben felelős lehet olyan tulajdonságokért, mint a komplexebb térbeli- és kisebb sebességszelektivitás. Br3b-hez viszonyítva nagyobb kiterjedésűek az intrinszik és interárális kapcsolatai, ami anatómiai alapja lehet a neuronjai komplexebb választulajdonságainak. Specifikusan a környező gátlást, mely Br1-ben megnő Br3b-hez viszonyítva (Spirati és mtsai, 2006) hosszú intracorticalis interakciók révén (Angelucci és Bressloff, 2006; Shushruth és mtsai, 2009) részben közvetíti. Az intrinszik horizontális kapcsolatok egy további lehetséges funkcionális szerepét írta le Reynaud és mtsai (2012), akik feltárták V1 látókéreg lateralis kapcsolatait. Lokális bemenet normalizálásával számoltak: fontos lépés ez a környezeti modulációban. Azaz a környezet ingereihez igazítja, skálázza a lokális input intenzitását. Az idegrendszer nem abszolút értéket kódol, hanem a környezethez viszonyít.

Br1-ben ilyen lateralis corticalis kapcsolatok játszhatnak szerepet az invariáns választulajdonságokban, mint a sebesség, textúra, forma, sebesség és intenzitás (Sinclair és Burton, 1991; Pei és mtsai, 2010) az intrinszik kapcsolatokkal szemben. Ez utóbbiak esetén az előrecsatolt bemenet Br3b-ből lineárisabban integrálódhat Br1-be. Ahogy Pei és mtsai (2011) kimutatták, Br1 irányszelektivitása nagyobb, mint a Br3b lokális mozgást leíró (irány, sebesség) sejtek (detektorok) vektorátlagai.

Br3b kis receptív mezőivel szemben Br1 neuronjai nagy bőrterületről integrálják az információt és magasabbrendű kérgi tulajdonságokkal bírnak, mint a mintázat, a durvaság, vagy a mozgás érzékelése és feldolgozása (Bensmaia és mtsai, 2008, Pei és mtsai, 2010; Tremblay és mtsai, 1996). A konvergencia a magasabbrendű agykérgi területeken egyre kifejezettebb. Br1 magasabbrendű tulajdonságai között szerepel az afferenseinek Br3b-nél nagyobb fokú konvergenciája (Iwamura, 1998). Br1 receptív mezői nagyobbak és több ujjat áthidalnak. Bár megfigyelték, hogy Br1 egy kérgi columnájában (600 μm) a neuronok receptív mezője méretben és formában is különbözik. Fontos, hogy ezek részesednek minden egyes kis áreából a bőrön (Favorov és Whitsel,

1988). Így amikor egy populációs választ vizsgálnak 2-dezoxiglükóz (Juliano és mtsai, 1993) vagy optical imaging tanulmányokkal (Chen és mtsai, 2003; Friedman és mtsai, 2008), kis fokális aktivációs hely lesz látható egy ujjbegy stimulálásakor. Anatómiai tanulmányaink további kontextusba helyezik ezeket a megfigyeléseket. Feltételezzük, hogy míg Br1 területek neuronjainak méret és forma receptívmező-tulajdonságainak diverzitásához az intraáreális kapcsolatok járulnak hozzá, addig az egy ujj reprezentációjában (Br1-ben) megjelenő receptívmező átfedések (hotspot) interáreális kapcsolatok, mégpedig a Br3b-ből Br1-be való divergencia eredménye.

6.7 Funkcionális összefüggések

6.7.1 A mozgásfeldolgozás PS-ben

Br1 mozgásérzékeléssel, kapcsolatos szerepével egybecseng, hogy a populációs válaszok az ingerre invariábilisak. Ennek magyarázata, hogy Br1 „mozgásfeldolgozó" área és következetesen a gyorsan adaptálódó sejtek túlsúlya jellemzi (Pei és mtsai, 2010). Ellenben az orientációszelektív neuronok lassan adaptálódnak, mely inkább jellemző Br3b-re, mint Br1-re (Bensmaia és mtsai, 2008). E tanulmány eredményei tovább pontosítják ezt a nézetet, mely erősen Br3b és 1 homológ ujjbegy reprezentációi közötti interakcióra vagy a homológ bőrreprezentációkra szorítkozik. Így Br3b-ben levő többujj-integrációval szemben a funkcionális transzformáció Br3b és Br1 között a kéz régióban inkább ujjspecifikus, de leginkább ujjbegyspecifikus. A látókérgi áreák közötti interakciók segíthetnek megérteni, hogy a somatosensoros kérgi hálózatok hogyan működnek. Kinoshita és munkatársai (2009) összefoglalták, hogy a hosszú terjedelmű aktiváció V1 intrinszik horizontális kapcsolataiban kapuhatást gyakorolnak a leszálló (top-down) hatások révén, melyek a perceptuális tanulás és plaszticitás neurobiológiai mechanizmusaiban játszanak szerepet. Br3b intrinsic horizontális kapcsolatainak aktivációjára hatással van Br1 működésére, mely felelős lehet hasonló funkciókért.

6.7.2 Braille írás

A somatosensoros kéreg plasztikus, melyet számos tanulmány alátámasztott (Jones és mtsai, 2000; Godde és mtsai, 2003; Wolters és mtsai, 2005; Fox és mtsai, 2009). Pl. a vak alanyok agyában, akik egy ujjukat használták a Braille olvasáshoz, kiterjedt ezen ujjreprezentációs területe a somatosensoros kéregben (Sathian és Stilla, 2010). Ellenben

ha az alany több ujját használta a Braille olvasáshoz, akkor a kérgi reprezentációk átrendeződtek, s az ujjstimuláció lokalizációs képességének csökkenése lépett fel (Sterr és mtsai, 1998). Eredményeink alapján Br3b intraáreális kapcsolatai legalább részben biztosítják a neuroanatómiai alapjait a használatfüggő plaszticitásnak. A több-ujjas Braille olvasókban a Br3b ujjreprezentációk közötti kapcsolatok megerősödnek, s ez lehet leginkább a térbeli diszkrimináció csökkenésének magyarázata. A további corticalis feldolgozást illetően a taktilis információ térbeli integrációja Br3b-ben az itt leírt ujjspecifikus, interáreális kapcsolatai révén valósul meg, és a többujjas információt továbbítja egy ujjtól, független módon, a somatosensoros rendszer többi áreáiba és talán a motoros kérgi rendszer felé is.

7. Következtetések

A célterületek közül a terminális axonarborizációkban jelentek meg a legnagyobb sűrűséggel a jelölt boutonszerű struktúrák, mely alátámasztja a korábbi feltevést, miszerint a terminális foltok képezik az ujjbegy reprezentáció specifikus célterületeit a postcentralis somatosensoros kéregben.

Az illesztett retrográd és anterográd térképek alapján a terminális foltok (kimenet) és neuronális sejttestek (bemenet) legsűrűbb területei átfedednek, mely arra utal, hogy a Br3b és Br1 egymással és más áreákkal alkotott kapcsolatai *reciprok* módon szerveződnek.

Kvalitatív eredményeink alapján feltételezhető, hogy a szomszédos ujjbegyreprezentációk között megvalósuló **intraáreális** anatómiai összeköttetések lehetővé teszik az ujjreprezentációk közötti integrációt és alapja lehet a haptikus észlelés folyamatának. A Br1 beadások esetén azonban a retrográd sűrűségtérképeken megjelenő áreán belüli kapcsolatok Br3b beadásokhoz képest nagyobb területre terjedtek ki, mely neuroanatómiai szempontból magyarázatot adhat az *átfedő receptívmezők* kialakulására Br1-ben. A sűrűségtérképeken az alacsonyabb sűrűségű régiók alkothatják a nem szomszédos ujjbegyek reprezentációjából konvergáló bemeneteket, mely magyarázat lehet *a több ujjra kiterjedő receptív mezőkre*.

Br3b és Br1 **interáreális** kapcsolatai a beadási helyek reprezentációival *homotóp* régiókra lokalizálódott. Ez eredményünk arra utalhat, hogy a somatosensoros információfeldolgozás a két área szoros és parallel együttműködésében valósul meg.

A hierarchikkus kapcsolatot támasztják alá egyrészt a *moduláris kapcsolateloszlás*ra vonatkozó eredményeink, miszerint Br3b-ben Br1-el ellentétben a kapcsolatok moduláris módon szerveződnek A Br3b és Br1 közötti **hierarchikus** kapcsolatot bizonyítják továbbá a lokális kapcsolatokra vonatkozó eredményeink, miszerint a *kérgi nagyítási faktor* nagyobb Br3b-ben, mint Br1-ben. Ebből is következik, hogy Br1 neuronjai nagyobb konvergencia révén rendelkezhetnek összetettebb receptívmező tulajdonságokkal. Az előre- és visszacsatolt kapcsolatokra vonatkozó vizsgálatainkban a kapcsolatok rétegeloszlását tanulmányoztuk és eredményeinkben mind a jelölt neuronok sejttestjei, mind a jelölt terminális arborizációk supragranularisan jelentek meg többségben. Ezek az eredmények a két área közötti laterális kapcsolatot és Br3b-ből Br1-be való előrecsatolt vetületet jelenthetik.

Az **elektronmikroszkópos** vizsgálatok analíziséből kiderült, hogy az azonosított óriásboutonok komplex morfológiával rendelkeznek, ugyanakkor érdekes, hogy a kis boutonokkal összehasonlítva a többi paraméterben (mitokondriumok és poszszinaptikus denzitások száma és mérete) nem különböztek. Folyamatban levő további analízis és mintagyűjtés eredményei további érdekes következtetésekhez vezethetnek.

8. Összefoglalás

A somatosensoros kérgi Br3b és Br1 alapvető szerepet játszik a tapintásban. Szoros anatómiai és funkcionális kapcsolatban állnak egymással, de Br1 magasabb szintet képvisel a taktilis jelfeldolgozásban, mint Br3b.

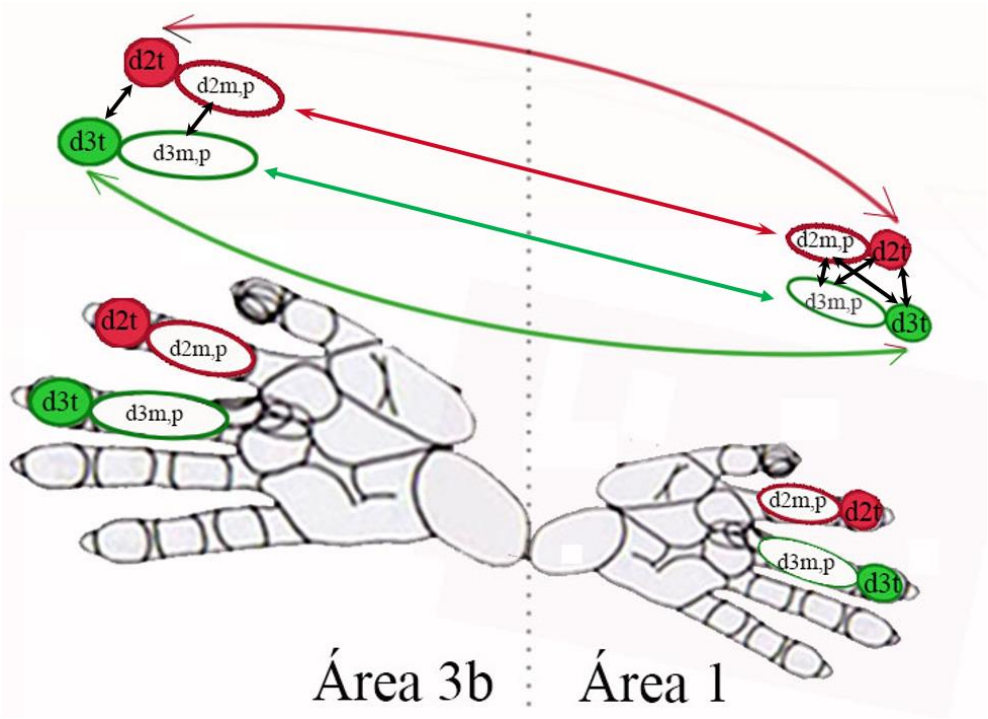
Munkánk során az áreákon belüli és áreák közötti kapcsolatok tangenciális mintázatait és irányultságát tanulmányoztuk a két áreában funkcionálisan meghatározott ujjbegy reprezentációkra beadott bidirekcionális pályajelölőanyag segítségével mókusmajmokban. Vizsgálataink kiterjedtek Br3b és Br1 funkcionális hierarchiai kapcsolatának hátterében húzódó anatómiai tulajdonságokra is.

Az intra- és interáreális kapcsolatok retrográd és anterográd struktúrái mediolateralis és rostrocaudalis eloszlást alkottak a két área esetében reciprok módon. Br3b és Br1 közötti reciprok kapcsolatok az injektált ujjbegy homológ reprezentációnak határain belül maradtak. Ez vizsgált áreák közötti erős kapcsolatot jelenti. Azonban a lokális kapcsolatok a szomszédos ujjbegy reprezentációkra is kiterjedtek Br3b és Br1-ben.

A retrográd és az anterográd jel rétegeloszlása leginkább a superficialis rétegekre lokalizálódott, ami a két área szoros parallel együttműködését erősítette meg Br3b és Br1 között. Br1 intrinszik kapcsolatai térben jobban kiterjedtek, mint Br3b-ben (35. ábra). Ez alátámasztja, hogy az ujjbegyek reprezentációi közötti integráció kifejezettebb Br1-ben. Br3b intrinszik kapcsolatai moduláris eloszlást mutattak több csúcssűrűséggel, amíg Br1-ben a lokális kapcsolatok legsűrűbb területei a beadási hely környékére lokalizálódtak és a beadási helytől való távolsággal fokozatosan csökkentek. Ez a megfigyelés alátámasztja, hogy Br3b összeköttetései moduláris, míg Br1-ben a moduláris jellegek más formában vannak jelen.

A retrográd jel legsűrűbb területei kisebbek voltak, mint Br3b-ben. A publikált kérgi nagyítási faktorból számolt értékek alapján megállapítottuk, hogy a legsűrűbben jelölődött kérgi területekhez tartozó bőrfelület mérete hasonló volt a két áreában. Eredményünk alátámasztja a korábbi megfigyeléseket, miszerint a taktilis információ konvergenciája jelentősebb Br1 neuronjain, mint Br3b-ben. Továbbá az áreák közötti információáramlás a homológ reprezentációkra szorítkozik, pl. párhuzamos módon szerveződött, amíg az ujjak közötti kapcsolatok főleg intrinszik módon valósulnak meg.

Ez lehet az alapja a globális információfeldolgozásnak, mely Br3b-ben és Br1-ben parallel módon megy végbe.



35. ábra. *Összefoglaló ábra: az Br3b és Br1 intra- és interáreális input és célpreferenciái.*

Az ábra alsó felén a két áreában reprezentált kéz van illusztrálva az ujjbegyek kihangsúlyozásával. Az ábra felső részén az ujjrészek közötti kapcsolatokat ábrázoltam. Az ábra illusztrálja az erős reciprok kapcsolat meglétét a két vizsgált áreában. Lokálisan a szomszédos ujjbegyek között kölcsönös kapcsolat. Továbbá feltételezzük csupán, hogy a szomszédos ujj medialis, proximális részei között is fennállhat reciprok kapcsolat. Interáreálisan az injektált ujjbegy és ugyanazon ujj medialis és proximális részeinek homotóp régiói között van erős reciprocitás. Br1 esetén továbbá feltételezhető a proximálisabb ujjrészek és ujjbegyek közötti kapcsolat. d2t, d3t: 2-3 ujjbegy, d2m, p, d3m, p: 2-3 ujj medialis és proximális része. Pontozott vonal: áreahatár.

9. Irodalom jegyzék

Abraira VE, Ginty DD. (2013) The sensory neurons of touch. *Neuron,* 79: 618-39.

Ahmed B, Anderson JC, Douglas RJ, Martin KA, Nelson JC. (1994) Polyneuronal innervation of spiny stellate neurons in cat visual cortex. *J Comp Neurol,* 341: 39-49.

Allison T, McCarthy G, Wood CC, Jones SJ. (1991) Potentials evoked in human and monkey Cereb Cortex by stimulation of the median nerve. A review of scalp and intracranial recordings. *Brain,* 114 (Pt 6): 2465-503.

Angelucci A, Bressloff PC. (2006) Contribution of feedforward, lateral and feedback connections to the classical receptive field center and extra-classical receptive field surround of primate V1 neurons. *Prog Brain Res,* 154: 93-120.

Angelucci A, Levitt JB, Walton EJ, Hupe JM, Bullier J, Lund JS. (2002) Circuits for local and global signal integration in primary visual cortex. *J Neurosci,* 22: 8633-46

Barone P, Batardiere A, Knoblauch K, Kennedy H. (2000) Laminar distribution of neurons in extrastriate areas projecting to visual areas V1 and V4 correlates with the hierarchical rank and indicates the operation of a distance rule. *J Nneurosci,* 20: 3263-81.

Bartlett EL, Stark JM, Guillery RW, Smith PH. (2000) Comparison of the fine structure of cortical and collicular terminals in the rat medial geniculate body. *Neuroscience,* 100: 811-28.

Bartlett EL, Smith PH. (2002) Effects of paired-pulse and repetitive stimulation on neurons in the rat medial geniculate body. *Neuroscience,* 113(4):957-74.

Belmonte C, Viana F. (2008) Molecular and cellular limits to somatosensory specificity. *Mol Pain,* 4: 14.

Bensmaia SJ, Denchev PV, Dammann JF, 3rd, Craig JC, Hsiao SS. (2008) The representation of stimulus orientation in the early stages of somatosensory processing. *J Neurosci,* 28: 776-86.

Bodegard A, Geyer S, Grefkes C, Zilles K, Roland PE. (2001). Hierarchical processing of tactile shape in the human brain. *Neuron,* 31: 317-28.

Bourassa J, Pinault D, Deschenes M. (1995) Corticothalamic projections from the cortical barrel field to the somatosensory thalamus in rats: a single-fibre study using biocytin as an anterograde tracer. *Eur J Neurosci,* 7: 19-30.

Burton H, Fabri M. (1995) Ipsilateral intracortical connections of physiologically defined cutaneous representations in areas 3b and 1 of macaque monkeys: projections in the vicinity of the central sulcus. *J Comp Neurol,* 355: 508-38.

Burton H, Sinclair RJ, Hong SY, Pruett JR, Jr., Whang KC. (1997) Tactile-spatial and cross-modal attention effects in the second somatosensory and 7b cortical areas of rhesus monkeys. *Somatosens Mot Res,* 14: 237-67.

Carlson M, Nystrom P. (1994) Tactile discrimination capacity in relation to size and organization of somatic sensory cortex in primates: I. Old-World prosimian, Galago; II. New-World anthropoids, Saimiri and Cebus. *J Neurosci,* 14: 1516-41.

Catania KC, Leitch DB, Gauthier D. (2011). A star in the brainstem reveals the first step of cortical magnification. *PloS One,* 6: e22406.

Cathala L, Holderith NB, Nusser Z, DiGregorio DA, Cull-Candy SG. (2005) Changes in synaptic structure underlie the developmental speeding of AMPA receptor-mediated EPSCs. *Nat Neurosci,* 8: 1310-8.

Chapman CE, Ageranioti-Belanger SA. (1991) Discharge properties of neurones in the hand area of primary somatosensory cortex in monkeys in relation to the performance of an active tactile discrimination task. I. Areas 3b and 1. *Exp Brain Res,* 87: 319-39.

Chen LM, Friedman RM, Ramsden BM, LaMotte RH, Roe AW. (2001) Fine-scale organization of SI (area 3b) in the squirrel monkey revealed with intrinsic optical imaging. *J Neurophysiol,* 86: 3011-29.

Chen LM, Friedman RM, Roe AW. (2003) Optical imaging of a tactile illusion in area 3b of the primary somatosensory cortex. *Science,* 302: 881-5.

Chen LM, Friedman RM, Roe AW. (2009) Area-specific representation of mechanical nociceptive stimuli within SI cortex of squirrel monkeys. *Pain,* 141: 258-68.

Chen LM, Turner GH, Friedman RM, Zhang N, Gore JC, Roe AW, Avison MJ. (2007). High-resolution maps of real and illusory tactile activation in primary somatosensory cortex in individual monkeys with functional magnetic resonance imaging and optical imaging. *J Neurosci,* 27: 9181-91.

Cohen RH, Vierck CJ, Jr. (1993) Population estimates for responses of cutaneous mechanoreceptors to a vertically indenting probe on the glabrous skin of monkeys. *Exp Brain Res,* 94: 105-19.

Coq JO, Qi H, Collins CE, Kaas JH. (2004) Anatomical and functional organization of somatosensory areas of the lateral fissure of the New World titi monkey (Callicebus moloch). *J Comp Neurol,* 476: 363-87.

Covic EN, Sherman SM. (2011) Synaptic properties of connections between the primary and secondary auditory cortices in mice. *Cereb Cortex,* 21: 2425-41.

Crick F, Koch C. (1998) Consciousness and neuroscience. *Cereb Cortex,* 97-107.

Cusick CG, Steindler DA, Kaas JH. (1985) Corticocortical and collateral thalamocortical connections of postcentral somatosensory cortical areas in squirrel monkeys: a double-labeling study with radiolabeled wheatgerm agglutinin and wheatgerm agglutinin conjugated to horseradish peroxidase. *Somatosens Res,* 3: 1-31.

Darian-Smith C, Tan A, Edwards S. (1999) Comparing thalamocortical and corticothalamic microstructure and spatial reciprocity in the macaque ventral posterolateral nucleus (VPLc) and medial pulvinar. *J Comp Neurol,* 410: 211-34.

De Pasquale R, Sherman SM. (2011) Synaptic properties of corticocortical connections between the primary and secondary visual cortical areas in the mouse. *J Neurosci,* 31: 16494-506.

De Pasquale R, Sherman SM. (2012) Modulatory effects of metabotropic glutamate receptors on local cortical circuits. *J Neurosci,* 32: 7364-72.

Debowy DJ, Ghosh S, Ro JY, Gardner EP. (2001) Comparison of neuronal firing rates in somatosensory and posterior parietal cortex during prehension. *Exp Brain Res,* 137: 269-91.

Diamond ME, Armstrong-James M, Budway MJ, Ebner FF. (1992) Somatic sensory responses in the rostral sector of the posterior group (POm) and in the ventral posterior medial nucleus (VPM) of the rat thalamus: dependence on the barrel field cortex. *J Comp Neurol,* 319: 66-84.

DiCarlo JJ, Johnson KO, Hsiao SS. (1998) Structure of receptive fields in area 3b of primary somatosensory cortex in the alert monkey. *J Neurosci,* 18: 2626-45.

Dijkerman HC, de Haan EH. (2007) Somatosensory processes subserving perception and action. *Behav Brain Sci,* 30: 189-201; discussion 01-39.

Duhamel JR, Colby CL, Goldberg ME. (1998) Ventral intraparietal area of the macaque: congruent visual and somatic response properties. *J Neurophysiol,* 79: 126-36.

Eke A. (2001) Szomatoszenzoros működés agyi elektromos tevékenység. Ébresztés, Ébrenlét-alvás. Szemmelweis Egyetem Klinikai Kísérleti Kutató- és Humán Élettani Intézet. *Egyetemi jegyzet* 2. elektronikus kiadása, 34.

Fang PC, Jain N, Kaas JH. (2002) Few intrinsic connections cross the hand-face border of area 3b of New World monkeys. *J Comp Neurol,* 454: 310-9.

Favorov O, Whitsel BL. (1988) Spatial organization of the peripheral input to area 1 cell columns. II. The forelimb representation achieved by a mosaic of segregates. *Brain Res,* 472: 43-56.

Feig S, Harting JK. (1998) Corticocortical communication via the thalamus: ultrastructural studies of corticothalamic projections from area 17 to the lateral posterior nucleus of the cat and inferior pulvinar nucleus of the owl monkey. *J Comp Neurol,* 395: 281-95.

Felleman DJ, Van Essen DC. (1991) Distributed hierarchical processing in the primate Cereb Cortex. *Cereb Cortex,* 1: 1-47.

Fox K. (2009) Experience-dependent plasticity mechanisms for neural rehabilitation in somatosensory cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,* 364: 369-81.

Frasnelli J, Collignon O, Voss P, Lepore F. (2011) Crossmodal plasticity in sensory loss. *Prog Brain Res,* 191: 233-49.

Friedman DP, Murray EA, O'Neill JB, Mishkin M. (1986) Cortical connections of the somatosensory fields of the lateral sulcus of macaques: evidence for a corticolimbic pathway for touch. *J Comp Neurol,* 252: 323-47.

Friedman RM, Chen LM, Roe AW. (2004) Modality maps within primate somatosensory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 101: 12724-9.

Friedman RM, Chen LM, Roe AW. (2008) Responses of areas 3b and 1 in anesthetized squirrel monkeys to single- and dual-site stimulation of the digits. *J Neurophysiol,* 100: 3185-96.

Gardner EP, Palmer CI. (1989) Simulation of motion on the skin. II. Cutaneous mechanoreceptor coding of the width and texture of bar patterns displaced across the optacon. *J Neurophysiol,* 62: 1437-60.

Garraghty PE, Florence SL, Kaas JH. (1990) Ablations of areas 3a and 3b of monkey somatosensory cortex abolish cutaneous responsivity in area 1. *Brain Res,* 528: 165-9.

Gergen JA, Maclean PD. 1964. The limbic system photic activation of limbic cortical areas in the squirrel monkey. *Ann N Y Acad Sci,* 117: 69-87.

Gibson JJ. (1996). The senses considered as perceptual systems. In: Shekuler R, Blake R (szerk.): Észlelés. Osiris Kiadó, Budapest. 437-437.

Godde B, Ehrhardt J, Braun C. (2003) Behavioral significance of input-dependent plasticity of human somatosensory cortex. *Neuroreport,* 14: 543-6.

Grinvald A, Shoham D, Shmuel A, Glaser D, Vanzetta I, Shtoyerman E, Slovin H, Sterkin A, Wijnebergen C, Hildesheim R, Arieli A. (1999) In-vivo optical imaging of cortical architecture and and dynapics. *Mod Tech Neurosci*, Res 893-969.

Hallum L, Chen S, Cloherty S, Morley J, Suaning G, Lovell N. (2006) Functional optical imaging of intrinsic signals in Cereb Cortex. *Wiley Encyc Biomed Eng*, 2:2.

Harris JA, Harris IM, Diamond ME. (2001) The topography of tactile learning in humans. *J Neurosci,* 21: 1056-61.

Hernandez A, Zainos A, Romo R. (2000) Neuronal correlates of sensory discrimination in the somatosensory cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 97: 6191-6.

Hikosaka O, Tanaka M, Sakamoto M, Iwamura Y. (1985) Deficits in manipulative behaviors induced by local injections of muscimol in the first somatosensory cortex of the conscious monkey. *Brain Res,* 325: 375-80.

Hoogland PV, Wouterlood FG, Welker E, Van der Loos H. (1991) Ultrastructure of giant and small thalamic terminals of cortical origin: a study of the projections from the barrel cortex in mice using Phaseolus vulgaris leuco-agglutinin (PHA-L). *Exp Brain Res,* 87: 159-72.

Horton JC, Adams DL. (2005) The cortical column: a structure without a function. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,* 360: 837-62.

Hsiao SS, Lane J, Fitzgerald P. (2002) Representation of orientation in the somatosensory system. *Behav Brain Res,* 135: 93-103.

Hubel DH, Wiesel TN. (1977) Ferrier lecture. Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc R Soc Lond B Biol Sci,* 28;198(1130):1-59.

Huffman KJ, Krubitzer L. (2001) Area 3a: topographic organization and cortical connections in marmoset monkeys. *Cereb Cortex,* 11: 849-67.

Ichida JM, Casagrande VA. (2002) Organization of the feedback pathway from striate cortex (V1) to the lateral geniculate nucleus (LGN) in the owl monkey (Aotus trivirgatus). *J Comp Neurol,* 454: 272-83.

Iwamura Y. (1985) Representation of functional surfaces in the somatosensory cortex. *Nihon Seirigaku Zasshi,* 47: 55-64.

Iwamura Y. 1998) Hierarchical somatosensory processing. *Curr Opin Neurobiol,* 8: 522-8.

Johansson RS, Landstrom U, Lundstrom R. (1982) Responses of mechanoreceptive afferent units in the glabrous skin of the human hand to sinusoidal skin displacements. *Brain Res,* 244: 17-25.

Jones EG. (1983) Lack of collateral thalamocortical projections to fields of the first somatic sensory cortex in monkeys. *Exp Brain Res,* 52: 375-84.

Jones EG. (2000) Cortical and subcortical contributions to activity-dependent plasticity in primate somatosensory cortex. *Annu Rev Neurosci,* 23: 1-37.

Jones EG, Powell TP. (1969) Connexions of the somatic sensory cortex of the rhesus monkey. I. Ipsilateral cortical connexions. *Brain,* 92: 477-502.

Juliano SL, Code RA, Tommerdahl M, Eslin DE. (1993) Development of metabolic activity patterns in the somatosensory cortex of cats. *J Neurophysiol,* 70: 2117-27.

Juliano SL, Friedman DP, Eslin DE. (1990) Corticocortical connections predict patches of stimulus-evoked metabolic activity in monkey somatosensory cortex. *J Comp Neurol,* 298: 23-39.

Kaas JH, Nelson RJ, Sur M, Lin CS, Merzenich MM. (1979) Multiple representations of the body within the primary somatosensory cortex of primates. *Science,* 204: 521-3.

Kinoshita M, Gilbert CD, Das A. (2009) Optical imaging of contextual interactions in V1 of the behaving monkey. *J Neurophysiol,* 102: 1930-44.

Krubitzer L, Huffman KJ, Disbrow E, Recanzone G. 2004. Organization of area 3a in macaque monkeys: contributions to the cortical phenotype. *J Comp Neurol,* 471: 97-111.

Krubitzer LA, Kaas JH. (1990) The organization and connections of somatosensory cortex in marmosets. *J Neurosci,* 10: 952-74.

Lamme VA, Super H, Spekreijse H. (1998) Feedforward, horizontal, and feedback processing in the visual cortex. *Curr Opin Neurobiol,* 8: 529-35.

Lebedev MA, Nelson RJ. (1996) High-frequency vibratory sensitive neurons in monkey primary somatosensory cortex: entrained and nonentrained responses to vibration during the performance of vibratory-cued hand movements. *Exp Brain Res,* 111: 313-25.

Lee CC, Sherman SM. (2008) Synaptic properties of thalamic and intracortical inputs to layer 4 of the first- and higher-order cortical areas in the auditory and somatosensory systems. *J Neurophysiol,* 100: 317-26.

Li J, Guido W, Bickford ME. (2003) Two distinct types of corticothalamic EPSPs and their contribution to short-term synaptic plasticity. *J Neurophysiol,* 90: 3429-40.

Liao CC, Gharbawie OA, Qi H, Kaas JH. (2013) Cortical connections to single digit representations in area 3b of somatosensory cortex in squirrel monkeys and prosimian galagos. *J Comp Neurol,* 521: 3768-90.

Lipton ML, Liszewski MC, O'Connell MN, Mills A, Smiley JF, Branch CA, Isler JR, Schroeder CE. (2010) Interactions within the hand representation in primary somatosensory cortex of primates. *J Neurosci,* 30: 15895-903.

Liu T, Petrof I, Sherman SM. (2014) Modulatory effects of activation of metabotropic glutamate receptors on gabaergic circuits in the mouse cortex. *J Neurophysiol,* 1:111-11.

Lund JS, Yoshioka T, Levitt JB. (1993) Comparison of intrinsic connectivity in different areas of macaque monkey cerebral cortex. *Cereb Cortex,* 3: 148-62.

Malach R, Amir Y, Harel M, Grinvald A. (1993) Relationship between intrinsic connections and functional architecture revealed by optical imaging and in vivo targeted biocytin injections in primate striate cortex. *Proc Natl Acaad Sci U S A,* 90: 10469-73.

Manger PR, Woods TM, Munoz A, Jones EG. (1997) Hand/face border as a limiting boundary in the body representation in monkey somatosensory cortex. *J Neurosci,* 17: 6338-51.

Merzenich MM, Jenkins WM. (1993) Reorganization of cortical representations of the hand following alterations of skin inputs induced by nerve injury, skin island transfers, and experience. *J Hand Ther,* 6: 89-104.

Meyer HS, Egger R, Guest JM, Foerster R, Reissl S, Oberlaender M. (2013) Cellular organization of cortical barrel columns is whisker-specific. *Proc Natl Acaad Sci U S A,* 110: 19113-8.

Mountcastle VB, LaMotte RH, Carli G. (1972) Detection thresholds for stimuli in humans and monkeys: comparison with threshold events in mechanoreceptive afferent nerve fibers innervating the monkey hand. *J Neurophysiol,* 35: 122-36.

Mountcastle VB, Powell TP. (1959) Central nervous mechanisms subserving position sense and kinesthesis.Bull Johns Hopkins Hosp, 105: 173-200.

Murray EA, Mishkin M. (1984) Relative contributions of SII and area 5 to tactile discrimination in monkeys. *Behav Brain Res,* 11: 67-83.

Nelson RJ, Sur M, Felleman DJ, Kaas JH. (1980) Representations of the body surface in postcentral parietal cortex of Macaca fascicularis. *J Comp Neurol,* 192: 611-43.

Padberg J, Cerkevich C, Engle J, Rajan AT, Recanzone G, Kaas J, Krubitzer L. (2009) Thalamocortical connections of parietal somatosensory cortical fields in macaque monkeys are highly divergent and convergent. *Cereb Cortex,* 19: 2038-64.

Padberg J, Krubitzer L. (2006) Thalamocortical connections of anterior and posterior parietal cortical areas in New World titi monkeys. *J Comp Neurol,* 497: 416-35.

Pare M, Smith AM, Rice FL. (2002) Distribution and terminal arborizations of cutaneous mechanoreceptors in the glabrous finger pads of the monkey. *J Comp Neurol,* 445: 347-59.

Pei YC, Denchev PV, Hsiao SS, Craig JC, Bensmaia SJ. (2009) Convergence of submodality-specific input onto neurons in primary somatosensory cortex. *J Neurophysiol,* 102: 1843-53.

Pei YC, Hsiao SS, Craig JC, Bensmaia SJ. (2010) Shape invariant coding of motion direction in somatosensory cortex. *PLoS Biol,* 8:2.

Pei YC, Hsiao SS, Craig JC, Bensmaia SJ. (2011) Neural mechanisms of tactile motion integration in somatosensory cortex. *Neuron,* 69: 536-47.

Penfield W, Flanigin H. (1950) Surgical therapy of temporal lobe seizures. *AMA Arch Neurol Psychiatry,* 64: 491-500.

Peters JM, Harris JR, Kleinschmidt JA. (1991) Ultrastructure of the approximately 26S complex containing the approximately 20S cylinder particle (multicatalytic proteinase/proteasome). *Eur J Cell Biol,* 56: 422-32.

Phillips JR, Johnson KO, Hsiao SS. (1988) Spatial pattern representation and transformation in monkey somatosensory cortex. *Proc Natl Acaad Sci U S A,* 85: 1317-21.

Pons TP, Garraghty PE, Friedman DP, Mishkin M. (1987) Physiological evidence for serial processing in somatosensory cortex. *Science,* 237: 417-20.

Powell TP, Mountcastle VB. (1959) The cytoarchitecture of the postcentral gyrus of the monkey Macaca mulatta. *Bull Johns Hopkins Hosp,* 105: 108-31.

Price TJ, Dussor G. (2014) Evolution: the advantage of 'maladaptive' pain plasticity. *Curr Biol,* 24: R384-6.

Prud'homme MJ, Cohen DA, Kalaska JF. (1994) Tactile activity in primate primary somatosensory cortex during active arm movements: cytoarchitectonic distribution. *J Neurophysiol,* 71: 173-81.

Pruszynski JA, Johansson RS. (2014) Edge-orientation processing in first-order tactile neurons. *Nat Neurosci,* 17: 1404-9.

Pubols LM, Leroy RF. (1977) Orientation detectors in the primary somatosensory neocortex of the raccoon. *Brain Res,* 129: 61-74.

Reed JL, Pouget P, Qi HX, Zhou Z, Bernard MR, Burish MJ, Haitas J, Bonds AB, Kaas JH. (2008) Widespread spatial integration in primary somatosensory cortex. *Proc Natl Acaad Sci U S A,* 105: 10233-7.

Reed JL, Pouget P, Qi HX, Zhou Z, Bernard MR, Burish MJ, Kaas JH. (2012) Effects of spatiotemporal stimulus properties on spike timing correlations in owl monkey primary somatosensory cortex. *J Neurophysiol,* 108: 3353-69.

Reed JL, Qi HX, Zhou Z, Bernard MR, Burish MJ, Bonds AB, Kaas JH. (2010) Response properties of neurons in primary somatosensory cortex of owl monkeys reflect widespread spatiotemporal integration. *J Neurophysiol,* 103: 2139-57.

Reichova I, Sherman SM. (2004) Somatosensory corticothalamic projections: distinguishing drivers from modulators. *J Neurophysiol,* 92: 2185-97.

Reynaud A, Masson GS, Chavane F. (2012) Dynamics of local input normalization result from balanced short- and long-range intracortical interactions in area V1. *J Neurosci,* 32: 12558-69.

Robinson CJ, Burton H. (1980) Organization of somatosensory receptive fields in cortical areas 7b, retroinsula, postauditory and granular insula of M. fascicularis. *J Comp Neurol,* 192: 69-92.

Rockland KS, Knutson T. (2000) Feedback connections from area MT of the squirrel monkey to areas V1 and V2. *J Comp Neurol,* 425: 345-68.

Rockland KS, Lund JS. (1983) Intrinsic laminar lattice connections in primate visual cortex. *J Comp Neurol,* 216: 303-18.

Rollenhagen A, Lubke JH. (2006) The morphology of excitatory central synapses: from structure to function. *Cell Tissue Res,* 326: 221-37.

Romo R, Hernandez A, Zainos A, Brody CD, Lemus L. (2000) Sensing without touching: psychophysical performance based on cortical microstimulation. *Neuron,* 26: 273-8.

Romo R, Hernandez A, Zainos A, Salinas E. (1998) Somatosensory discrimination based on cortical microstimulation. *Nature,* 392: 387-90.

Rouiller EM, Welker E. (1991) Morphology of corticothalamic terminals arising from the auditory cortex of the rat: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin (PHA-L) tracing study. *Hear Res,* 56: 179-90.

Rouiller EM, Welker E. (2000) A comparative analysis of the morphology of corticothalamic projections in mammals. *Brain Res Bull,* 53: 727-41.

Sathian K, Stilla R. (2010) Cross-modal plasticity of tactile perception in blindness. *Restor Neurol Neurosci,* 28: 271-81.

Schneider RJ, Friedman DP, Mishkin M. (1993) A modality-specific somatosensory area within the insula of the rhesus monkey. *Brain Res,* 621: 116-20.

Shanks MF, Pearson RC, Powell TP. (1985) The ipsilateral cortico-cortical connexions between the cytoarchitectonic subdivisions of the primary somatic sensory cortex in the monkey. *Brain Res,* 356: 67-88.

Shanks MF, Powell TP. (1981) An electron microscopic study of the termination of thalamocortical fibres in areas 3b, 1 and 2 of the somatic sensory cortex in the monkey. *Brain Res,* 218: 35-47.

Sherman SM, Guillery RW. (2011) Distinct functions for direct and transthalamic corticocortical connections. *J Neurophysiol,* 106: 1068-77.

Shushruth S, Ichida JM, Levitt JB, Angelucci A. (2009) Comparison of spatial summation properties of neurons in macaque V1 and V2. *J Neurophysiol,* 102: 2069-83.

Sincich LC, Blasdel GG. (2001) Oriented axon projections in primary visual cortex of the monkey. *J Neurosci,* 21: 4416-26.

Sinclair RJ, Burton H. (1991) Neuronal activity in the primary somatosensory cortex in monkeys (Macaca mulatta) during active touch of textured surface gratings:

responses to groove width, applied force, and velocity of motion. *J Neurophysiol,* 66: 153-69.

Sporns O, Chialvo DR, Kaiser M, Hilgetag CC. (2004) Organization, development and function of complex brain networks. *Trends Cogn Sci,* 8: 418-25.

Sripati AP, Yoshioka T, Denchev P, Hsiao SS, Johnson KO. (2006) Spatiotemporal receptive fields of peripheral afferents and cortical area 3b and 1 neurons in the primate somatosensory system. *J Neurosci,* 26: 2101-14.

Sterr A, Müller MM, Elbert T, Rockstroh B, Pantev C, Taub E. (1998) Perceptual correlates of changes in cortical representation of fingers in blind multifinger Braille readers. *J Neurosci,* 18:4417-4423.

Sur M, Garraghty PE, Bruce CJ. (1985) Somatosensory cortex in macaque monkeys: laminar differences in receptive field size in areas 3b and 1. *Brain Res,* 342: 391-5.

Sur M, Merzenich MM, Kaas JH. (1980) Magnification, receptive-field area, and "hypercolumn" size in areas 3b and 1 of somatosensory cortex in owl monkeys. *J Neurophysiol,* 44: 295-311.

Sur M, Nelson RJ, Kaas JH. (1982) Representations of the body surface in cortical areas 3b and 1 of squirrel monkeys: comparisons with other primates. *J Comp Neurol,* 211: 177-92.

Sur M, Wall JT, Kaas JH. (1984) Modular distribution of neurons with slowly adapting and rapidly adapting responses in area 3b of somatosensory cortex in monkeys. *J Neurophysiol,* 51: 724-44.

Talbot WH, Darian-Smith I, Kornhuber HH, Mountcastle VB. (1968) The sense of flutter-vibration: comparison of the human capacity with response patterns of mechanoreceptive afferents from the monkey hand. *J Neurophysiol,* 31: 301-34.

Tanji J, Wise SP. (1981) Submodality distribution in sensorimotor cortex of the unanesthetized monkey. *J Neurophysiol,* 45: 467-81.

Tommerdahl M, Delemos KA, Vierck CJ, Jr., Favorov OV, Whitsel BL. (1996) Anterior parietal cortical response to tactile and skin-heating stimuli applied to the same skin site. *J Neurophysiol,* 75: 2662-70.

Tononi G, Edelman GM, Sporns O. (1998) Complexity and coherency: integrating information in the brain. *Trends Cogn Sci,* : 474-84.

Torebjork HE, Ochoa JL. (1980) Specific sensations evoked by activity in single identified sensory units in man. *Acta Physiol Scand,* 110: 445-7.

Tremblay F, Ageranioti-Belanger SA, Chapman CE. (1996) Cortical mechanisms underlying tactile discrimination in the monkey. I. Role of primary somatosensory cortex in passive texture discrimination. *J Neurophysiol,* 76: 3382-403.

Ts'o DY, Gilbert CD, Wiesel TN. (1986) Relationships between horizontal interactions and functional architecture in cat striate cortex as revealed by cross-correlation analysis. *J Neurosci,* 6: 1160-70.

Ts'o DY, Roe AW, Gilbert CD. (2001) A hierarchy of the functional organization for color, form and disparity in primate visual area V2. *Vision Res,* 41: 1333-49.

Uematsu S, Lesser R, Fisher RS, Gordon B, Hara K, Krauss GL, Vining EP, Webber RW. (1992) Motor and sensory cortex in humans: topography studied with chronic subdural stimulation. *Neurosurgery,* 31: 59-71; discussion 71-2.

Vallbo AB. (1981) Sensations evoked from the glabrous skin of the human hand by electrical stimulation of unitary mechanosensitive afferents. *Brain Res,* 215: 359-63.

Vallbo AB, Johansson RS. (1984) Properties of cutaneous mechanoreceptors in the human hand related to touch sensation. *Human neurobiology,* 3: 3-14.

Van Horn SC, Sherman SM. (2004) Differences in projection patterns between large and small corticothalamic terminals. *J Comp Neurol,* 475: 406-15.

Van Horn SC, Sherman SM. (2007) Fewer driver synapses in higher order than in first order thalamic relays. *Neuroscience,* 146: 463-70.

Verrillo RT. (1966a) Effect of spatial parameters on the vibrotactile threshold. *J Exp Psychol,* 71: 570-5.

Verrillo RT. (1966b) Vibrotactile thresholds for hairy skin. *J Exp Psychol,* 72: 47-50.

Verrillo RT, Bolanowski SJ, Jr. (1986) The effects of skin temperature on the psychophysical responses to vibration on glabrous and hairy skin. *J Acoust Soc Am,* 80: 528-32.

Viaene AN, Petrof I, Sherman SM. (2011) Properties of the thalamic projection from the posterior medial nucleus to primary and secondary somatosensory cortices in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A,* 108(44):18156-61.

Warren S, Hamalainen HA, Gardner EP. (1986) Objective classification of motion- and direction-sensitive neurons in primary somatosensory cortex of awake monkeys. *J Neurophysiol,* 56: 598-622.

Welker E, Van der Loos H. (1986) Quantitative correlation between barrel-field size and the sensory innervation of the whiskerpad: a comparative study in six strains of mice bred for different patterns of mystacial vibrissae. *J Neurosci,* 6: 3355-73.

Wolters A, Schmidt A, Schramm A, Zeller D, Naumann M, Kunesch E, Benecke R, Reiners K, Classen J. (2005) Timing-dependent plasticity in human primary somatosensory cortex. *J Physiol,* 565: 1039-52.

Woolsey JH. (1942) War Soft Tissue Wounds and Their Complications. *Cal West Med,* 57: 130-6.

Yang PF, Qi HX, Kaas JH, Chen LM. (2014) Parallel functional reorganizations of somatosensory areas 3b and 1, and S2 following spinal cord injury in squirrel monkeys. *J Neurosci,* 34: 9351-63.

10. Saját publikációk jegyzéke

10.1 Az értekezésben felhasznált publikációk

Ashaber M, Pálfi E, Friedman RM, Palmer C, Jákli B, Chen LM, Kántor O, Roe AW, Négyessy L. (2014) Connectivity of somatosensory cortical area 1 form an anatomical substrate for the emergence of multifinger receptive fields and complex feature selectivity in the squirrel monkey (Saimiri sciureus). J Comp Neurol, doi: 10.1002/cne.23499.
PMID:24214200

Négyessy L, Pálfi E, **Ashaber** M, Palmer C, Jákli B, Friedman RM, Chen LM, Roe AW. (2013) Intrinsic horizontal connections process global tactile features in the primary somatosensory cortex: neuroanatomical evidence. J Comp Neurol, 521 (12):2798-817. doi: 10.1002/cne.23317.
PMID:23436325

10.2 Egyéb saját publikáció

Négyessy L, Xiao J, Kántor O, Kovács GG, Palkovits M, Dóczi TP, Renaud L, Baksa G, Glasz T, **Ashaber** M, Barone P, Fonta C. (2010) Layer-specific activity of tissue non-specific alkaline phosphatase in the human neocortex. Neuroscience; 172:406-18. doi: 10.1016/j.neuroscience.
PMID: 20977932

Mikics E, Tóth M, Varjú P, Gereben B, Liposits Z, **Ashaber** M, Halász J, Barna I, Farkas I, Haller J. (2008) Lasting changes in social behavior and amygdala function following traumatic experience induced by a single series of foot-shocks. Psychoneuroendocrinology, 33 (9):1198-210. doi: 10.1016/j.psyneuen.
PMID:18656313

11. Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok témavezetőmnek Dr. Négyessy Lászlónak szakmai kérdésekben nyújtott segítségéért, a dolgozat elkészítésében adott tanácsaiért, hogy mindig lehetett számítani rá, lelkesített és támogatott. Köszönettel tartozom az Anatómiai-, Szövet- és Fejlődésbiológiai Intézet volt igazgatójának, Dr Csillag Andrásnak a kutatás lehetőségéért. Külön köszönet jár amerikai kollaborátorainknak, Dr. Robert M. Friedman-nak, Dr. Anna W. Roe-nak és Dr Limin Chen-nek, akik a funkcionális vizsgálatokat végezték és Dr. Cory Palmer-nek aki a Voronoi számításokat készítette el. Sok köszönettel tartozom Dr. Kántor Orsolyának szakmai tanácsaiért és az immunihszokémiában való közreműködéséért, Pálfi Emese neurobiológusnak, aki a beadásoknál, a mikroszkopizálásban és az analízisben segített. Sokat köszönhetek Dr. Stuber Istvánnak, aki az elektronmikroszkópos munka elkészítéséhez tanácsaival és lelkesítésével hozzájárult, valamint Rigler László technikusnak az elektronmikroszkopizálás lehetőségéért. Köszönöm Kovács Tamás szoftverfejlesztő mérnöknek, hogy hozzájárult a háromdimenziós képek grafikai megjelenítéséhez. Magyar Tünde, Vidra Zsuzsa és Újvári Zoltánné asszisztenseknek köszönöm kedvességüket, tanításukat és a gördülékeny labormunkát, valamint az Anatómiai Intézet valamennyi munkatársának segítségét és kedvességét. Végül, de nem utolsó sorban szüleimnek sok hálával tartozom, hogy mindvégig támogattak.