

Új, zona incerta eredetű talamikus gátlópálya anatómiai és fiziológiai jellemzése

Doktori értekezés

dr. Barthó Péter

Semmelweis Egyetem
Szentágotthai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Acsády László, az MTA doktora

Hivatalos bírálók: Dr Ulbert István
Dr. Kamondy Anita

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Csillag András
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Karmos György
Dr Takács József

Budapest
2007

Bevezetés

A thalamusz a fő átkapcsoló állomás a szubkortikális struktúrák és az agykéreg között. Rajta halad át a szaglásokon kívül minden szenzoros modalitás, a cerebellumból és a törzsdúcokból motoros információ, az emlékezetekből helyzeti információ, magasabbrendű magvai ezenkívül távoli kéregterületeket kapcsolnak össze egymással. Részt vesz a kéregi EEG kialakításában, szabályozza az információátvitel minőségét az alvás-ébrenlét ciklusnak megfelelően, kiterjedt léziója végleges tudatvesztést idéz elő.

Két fő magtípust különböztetünk meg a thalamuszban, az elsőrendű és a magasabbrendű magokat. Az előbbieket irányító bemenetüket a perifériáról kapják, míg az utóbbiak a periféria mellett az agykéreg V. rétegéből.

Hagyományos felfogás szerint a thalamusz gátló rendszerét a thalamikus retikuláris mag (nRt) sejtjei, illetve a helyi GABAerg interneuronok alkotják. Előkísérleteink során egy GABAerg terminálistípust találtunk a thalamusz egyes, magasabbrendű magjaiban, mely sem az nRt terminálisok (F1), sem az interneuronok posztszinaptikus dendritjeinek (F2) jellegzetességeit nem viselte. Retrográd jelöléses előkísérletek alapján valószínűsítettük, hogy e terminálisok eredete a zona incerta.

A zona incerta, a nRt-hoz hasonló fejlődéstani szempontból (P2-es prozoméra), valamint jórészt GABAerg sejtek alkotják. Kiterjedt kapcsolatokkal rendelkezik több agyi régióval, többek között a magasabbrendű thalamusmagokat innerváló V. rétegi agykéregi, és perifériás axonok is innerválják.

Célkitűzések

Korábbi retrográd kísérletek igazolták, hogy a zona incerta sejtjei vetítenek a thalamuszba. Nem volt azonban ismert, hogy pontosan mely

talamusz magvakat innervál a zona incerta, mi a ZI-talamusz pálya transzmittere, milyenek az incerto-thalamikus terminálisok ultrastrukturális jellemzői illetve milyen célelemeken végződnek. Továbbá nem voltak ismertek a különböző zona incerta sejtek tüzelési tulajdonságai illetve aktivitásuk szinkronitása a különböző frekvenciájú agykérgi oszcillációhoz..

Célkitűzéseink:

- Feltérképezzük az incerto-talamikus pálya magok szerinti végződési mintázatát.
- Karakterizáljuk az incerto-talamikus pályát terminálméret, posztszinaptikus célelem, aktív zónák és egyéb ultrastrukturális bélyegek szempontjából.
- Megvizsgáljuk a pálya GABAerg jellegét beágyazás utáni GABA immunfestéssel.
- Meghatározzuk a zona incerta sejtek tüzelési tulajdonságait altatott állatban, különböző éberségi szinteken.
- Meghatározzuk a zona incerta sejtek aktivitásának kapcsoltságát az agykérgi aktivitáshoz és összevetjük ezt a talamokortikális sejtekével.
- Meghatározzuk a zona incerta agykérgi kontrolljáért felelős kortiko-incertális pálya fény és elektronmikroszkópos jellegzetességeit.

Módszerek

Anatómiai módszerek

BDA és PHAL pályajelölés

Tizenhét hím Wistar patkány zona incertájába (250-350 g) injektáltunk biotinilált dextrans amint (BDA, 3000MW, Molecular Probes, Leyden, Hollandia, cc. 10% fiziológiás sóoldatban), hétbe pedig Phaseolus vulgaris leucoagglutint (PHAL, Vector, USA, 2.5% 0.01M pH 8.0 foszfát pufferben), mély Equitezin altatás alatt. A jelölőanyagot üvegapillárison keresztül juttattuk be. A zona incerta beadási koordináták: anteroposterior 3.7-4.5 mm (Bregmától kaudálisan), medio-laterál 2.4-2.6 mm (középvonaltól), dorzo-ventrál 6.9-7.1 mm voltak. Tizenhat állat kapott kétoldali, hat egyoldali beadást. Hat-nyolc nap túlélés után az állatokat megperfundáltuk, és a metszeteken immuncitokémiai reakciót végeztünk.

Beágyazás előtti immunfestés

Egyszeres immunfestéshez a metszeteket patkány anti-m2 (1 : 300; Chemicon International Inc., Temecula, CA, USA), nyúl anti-parvalbumin, nyúl anti-kalbodin (mindkettő 1 : 2000; Baimbridge & Miller, 1982) vagy nyúl anti-calretinin (1 : 5000, gers, 1989) antitesttel kezeltük 2 napig 4 °C fokon. A második fázis biotinilált anti-patkány IgG (1 : 300, Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA) vagy biotinilált anti-nyúl IgG (1 : 300, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) inkubáció volt 2 óráig, melyet 2 óra avidin-biotin peroxidáz komplex (ABC, Vector Laboratories, 1 : 300) követett. Az összes mosás és antiszérum hígítás pH 7.4-es, 0.05 mólos Tris-pufferelt sóoldatban (TBS) történt.

Az immunperoxidáz reakciót 3,3-diaminobenzidin (DAB, vagy DAB-nikkel) kromogénnel végeztük. A metszeteket 1% ozmium-tetroxiddal kezeltük 45 percig, dehidráltuk felszálló alkoholsorban és propilén-oxidban, majd Durcupan-ba (ACM,

Fluka, Buchs, Switzerland) ágyasztuk be. A dehidráció során a metszeteket 1% uranyl-acetáttal (70% alkoholban) kezeltük.

A PHAL-lal injektált állatok szeleteit biotinilált anit-PHAL antitesttel (Vector 1:200) inkubáltuk 2 napig. A következő lépés ABC (1:600) volt 2 óráig. A jelölt struktúrákat DAB kromogénnel vizualizáltuk. A BDA-val injektált állatok metszeteit ABC-vel (1:600) inkubáltuk, és hasonlóképp vizualizáltuk.

Beágyazás előtti kettős immunfestés

Kettős immunfestés esetén az első a jelölőanyagot DAB helyett nikkell-intenzifikált DAB-bal (DAB-Ni) vizualizáltuk. Ez fekete reakcióterméket eredményez, és megkülönböztethető a második reakció barna csapadékától (DAB). A jelölőanyag előhívását DAB-Ni-vel követően a metszeteket 2 napig nyúl anti-kalbinnel inkubáltuk (1 : 2000 Bainbridge and Miller, 1982) majd kecske anti-nyúl IgG-vel (1:2000 Sterberger Monoclonals Inc., Luthervill, MD) 2 óráig, végül nyúl peroxidáz-antiperoxidáz komplexszel (1 : 400 Sternberger) egy éjszakán át, és DAB-bal vizualizáltuk.

Beágyazás utáni GABA immunjelölés

A magas glutáros fixálóval perfundált állatokból különböző talamuszmagvakat tartalmazó blokkokat ágyasztunk át. Ultramikrotómmal ultravékony (60 nm) metszeteket vágunk, és nikkell gridre vettünk fel. A beágyazás utáni GABA reakciót (Somogyi et al., 1985) protokollja szerint végeztük. Azokat a profilokat tekintettük GABA pozitívnak, amelyek a szomszédos aszimmetrikus (feltehetően glutamáterg) terminálisoknál legalább ötször több jelölést tartalmaztak, legalább 3 egymást követő metszeten. A metszeteket egy Hitachi 7100 elektronmikroszkópon vizsgáltuk.

In vivo elektrofiziológia

A kísérleteket uretán altatás alatt végeztük (20% uretán, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, 0.12-0.15 g/100 g, n=30), Wistar (n=15), vagy Sprague-Dawley (n=14). A lassú EEG hullámok fokozására alkalmanként ketamint (10 mg/kg) adagoltunk.

Monopoláris wolfram elektródákat (impedancia 0.8-1.2 M Ω , FHC, Bowdoinham, ME) implantáltunk a primer szomatoszenzoros kéreg V. rétegébe, melyen a kéri EEG-t és soksejt aktivitást mértük. Referencia elektródként egy rozsdamentes acélsavart ültettünk be a cerebellum fölé.

Az extracelluláris jelet 1000x erősítés után 0.1 Hz és 5 kHz között szűrtük (BioAmp, Supertech, Pécs, HU), és 16.6 Khz-en digitalizáltuk (micro 1401 mkII; Cambridge Electronics Design, Cambridge, UK). A kéri soksejt aktivitást a 800 Hz és 5 kHz jel 3.5 standard deviációt meghaladó értékeiként detektáltuk.

A juxtacelluláris elvezetéshez 20-60 M Ω ellenállású boroszilikát kapilláris elektródát használtunk (1.5 mm külső átmérő, 0.86 mm belső átmérő, Sutter Instruments, Novato, CA), melyet 0.5 mólos NaCl, vagy 0.5 mólos CH₃COONa oldatban 1.5-3% Neurobiotin (Vector Laboratories, Burlingame, CA), vagy 2-3% biocitin (Sigma-Aldrich) oldattal töltöttünk meg.

Az juxtacell elektródákat a talamuszba, illetve a zona incertába helyeztük (3.6-4.3 mm bregmától poszterior, 2.5 mm laterális, 4-6.2 mm (talamusz) és 6.8-7.2 (zona incerta) mélyen) egy piezoelektromos mozgató segítségével (6000 ULN; EXFO Burleigh, Quebec, Quebec, Canada). A sejtaktivitást egy aDC erősítővel (Axoclamp 2B; Molecular Devices, Foster City, CA) ezerszeresére erősítettük, 0.1 Hz és 5 kHz közt szűrtük, majd digitalizáltuk. A mérést „extracell” pozícióban végeztük 30 perctől 2 óráig, majd „juxtacell” pozícióba közeledtünk (Pinault, 1996). A jelöléshez depolarizáló áramlépéseket (0.5-8 nA) adtunk 2-10 percig.

Adatanalízis

Az akciós potenciálokat MATLAB-ban (MathWorks, Natick, MA) detektáltuk és analizáltuk. A frekvenciaspektrumokat Welch módszerével közelítettük (Matlab pwelch függvény), 2.44 Hz felbontásban. Az auto- és keresztkorrelációkat 10 ms időablakokban számoltuk. Az akciós potenciál-kiváltott kérgi LFP átlag (spike triggered average, STA), és a ZI sejt-kérgi soksejt keresztkorreláció analízisben (MUA-CCG) az akciós potenciálok száma 43-15826-ig, illetve 239-49344-ig terjedt.

A zona incerta sejtek kérgi modulációjának erősségét kétfajta mérőszámmal határoztuk meg, a ZI (vagy TC) akciós potenciál által triggerelt KÉRGI LFP átlag (STA index), és a ZI (vagy TC) – kérgi multiunit keresztkorreláció index (MUA index). Az STA index a normalizált STA középű csúcsának mérete, a MUA index a simított és normalizált keresztkorrelogram standard deviációja volt. E mérőszámok relevanciáját az adja, hogy az STA és a ZI-kérgi MUA keresztkorrelogram csúcsának mérete 0 ms-nál az alapvonaloz képest a kéreg és a zona incerta szinkronizációjától függ.

Eredmények

Anterográd pályajelölés a zona incertából

A zona incertára korlátozó dó beadások után nagy, varikózus jelölt rostokat találtunk a talamusz magasabbrendű magvaikban. A következő magok kaptak afferens rostokat: a poszterior mag (Po), anguláris, ethmoid, retroethmoid, és poszterior trianguláris magvak (magasabbrendű szomatoszenzoros magvak), szuprageniculátus, poszterior limitáns, valamint kisebb mértékben a mediális genikulátus mag mediális része (magasabbrendű hallómag), a laterodorzális mag ventrális és medialis részei, valamint néhány rost erejéig

a laterális poszterior mag mediorosztrális és dorzális része (magasabbrendű látómagvak). Az intralamináris magok közül a centrolaterális, paracentrális, centromediális, parafaszceikuláris, és poszterior intralamináris magvak tartalmaztak jelölt rostokat, míg a középvonali magvak közül egyedül a reuniens mag jelölődött.

Jelölt ZI rostok primér szenzoros magvakban nem fordultak elő.

Az incerto-talamikus pálya csak gyenge topográfiát mutatott. Egyik állatban (B39), a PHAL beadás a zona incertát a talamikus kommissúra szintjén érte. Bár a beadás kicsi volt (<1mm), a jelölt rostok az anterior talamusztól (ventrális anterior és reuniens magok) a a talamusz kaudális végéig terjedtek (trianguláris poszterior és poszterior limitáns magok). Kaudálisabb beadások után hasonlóan sok talamuszmag jelölődött, bár a rostok relatív sűrűsége megváltozott. Laterálisabb beadások több jelölt rostot eredményeztek a magasabb rendű látómagvakban. Kevés beadás korlátozódott kizárólag a dorzális vagy ventrális zona incertára. Dorzális ZI beadások után némileg kevesebb rost jelölődött a talamuszban.

Az incerto-talamikus rostok és a kalbindin pozitív sejtek eloszlása

A magasabb rendű magvakban a kalbindin pozitív sejtek nagyobb koncentrációban fordulnak elő, mint a primer magvakban. Kettős immunfestett szeleteket vizsgálva, az incerto-talamikus rostok eloszlása a jelentős átfedést mutatott az kalbindin-pozitív relésejtekével. BDA-, vagy PHAL jelölt incerto-talamikus terminálisok gyakran alkottak kapcsolatokat kalbindin pozitív sejtek proximális dendrintjeivel. A primer ventrolaterális magban az incerto-talamikus rostok sávja pontosan megegyezett a kalbindin pozitív sejtek sávjával, amely e mag teljes hosszán végigfut. Ezzel szemben a parafascicularis, laterodorsalis, és angularis magvakban, melyek kevés kalbindin-pozitív sejtet tartalmaznak, szintén előfordultak incerto-talamikus terminálisok. A kaudális talamuszban viszont, ahol kiterjedt területek kalbindin pozitívak, csak lokalizált rostcsoportokat találtunk. Tehát az incerto-talamikus pálya részleges átfedést mutat a kalbindin-pozitív relésejt populációval.

Az incerto-talamikus terminálisok fénymikroszkópos jellemzői

Az incerto-talamikus terminálisok erős heterogenitást mutattak, mind méretben, mind alakban. Többségük fuziform vagy hosszúkás volt, de kerek vagy szabálytalan alakúak is előfordultak. A boutonok többsége en passant volt, de sok rendelkezett rövid szárral. A terminálisok egyenlőtlenül oszlottak el az axonokon, hosszú terminálmentes szakaszok váltakoztak 4-8 terminálisból álló csoportokkal. Sok esetben a terminálisok mintegy kirajzoltak immunonegatív struktúrákat, melyek relésejtek proximális dendritjének tűntek. A legnagyobb incerto-talamikus terminálisok hosszabbik tengelyük mentén elérték a 9 μm -t, de általában a 2-7 μm (nagyobb tengely), és 1-3 μm (kisebb tengely) között voltak.

Az incerto-talamikus terminálisok ultrastruktúrája

Az incerto-talamikus axonok mérete, alakja, és szinaptikus organizációja változatos volt. A fénymikroszkópos képet megerősítve a boutonok egy része jelentős méreteket ért el (6-8 μm nagyobb tengely, 1-2 μm kisebb tengely). Az incerto-talamikus terminálisok szinte kizárólag többszörös szimmetrikus szinapszisokat alkottak. Sokszor találtunk perforált szinapszisokat, többszörös aktív zónával ugyanarra a posztszinaptikus elemre.

Az elektronmikroszkópos vizsgálat kiderítette, hogy a fénymikroszkóppal megfigyelt termináliscsoportosulások valóban egy posztszinaptikus elem körül helyezkednek el. Gyakran több, nagy incerto-talamikus terminális vett körül egy proximális relésejtdendritet, többszörös szinapszisokat alkotva rajta. Punctum adherens-szerű specializációk (úgynevezett filamentózus kontaktusok) gyakoriak voltak a szinapszisok szomszédságában.

Az incerto-talamikus terminálisok gyakran nagy, primer afferens terminálisok szoros közelségében helyezkedtek el. Esetenként az egész csoportot, azaz a primer afferens terminálist, incerto-talamikus terminálist, és proximális dendritet gliaburok borította, a klasszikus szinaptikus triádhoz hasonlóan. Az incerto-talamikus terminálisok azonban sosem voltak posztszinaptikus helyzetben a primer afferenshez képest. Kisebb incerto-talamikus terminálisok ritkábban alkottak többszörös szinapszisokat, mint nagy társaik.

Az incerto-talamikus terminálisok fő posztszinaptikus elemei a relésejtek vastag proximális dendritjei voltak, kivételes esetben a szómák. Összehasonítottuk 34 olyan dendrit kisebbik átmérőjét, melyek incerto-talamikus terminálisok posztszinaptikus

elemei voltak, 100 random választott dendrit átmérőjével. A két populáció szignifikánsan különbözött (Mann-Whitney U-teszt, $p < 0.01$). Az incerto-talamikus terminálisok szelektíven vastag dendriteket idegeztek be (átlag átmérő $1.34 \mu\text{m}$), és nagyrészt elkerülték az $1 \mu\text{m}$ -nél vékonyabb dendriteket (random minta átlaga $0.65 \mu\text{m}$ volt). Az $1 \mu\text{m}$ -nél vastagabb dendritek primer afferens szinapszisokat kapnak, és nagyrészt elkerüli őket a kérgi VI. rétegi bemenet.

Az incerto-talamikus terminálisok GABAergek

Anterograd beadás után jelölt incerto-talamikus terminálisokból származó random mintán 73 boutont vizsgáltuk meg három állatban GABA immunreaktivitásra posztembedding immunoarany módszerrel. Az első állatban, amely kiterjedt BDA beadást kapott, 25 megvizsgált jelölt terminálisból 20 (80%) bizonyult pozitívnak a poszterior magban. A második állatban, mely kisebb beadást kapott, ez az arány 29-ből 29 (100%) volt, szintén a poszterior magban. A harmadik állatban 19 PHAL-jelölt rostot vizsgáltunk meg a centrolaterális magban, melyből 17 volt pozitív (90.4%). A posztszinaptikus elemek minden esetben GABA-negatívak voltak.

Uretán altatás alatt többféle kérgi LFP fordul elő

Uretán anesztézia alatt az állat éberségi szintje spontán változásokat mutat, melyek bizonyos vonásaikban összehasonlíthatók a normál alvás-ébrenlét ciklussal. Három kérgi LFP állapotot különböztettünk meg.

Az első állapot általában felszínes anesztézia alatt fordult elő, alacsony amplitúdójú, magas frekvenciájú oszcillációk jellemzik, a béta és gamma tartományban. Ebben az állapotban a kéreg nem mutatott ritmikus aktivitást (a magas frekvenciáktól eltekintve).

A második állapot nagy amplitúdójú, irreguláris delta oszcillációk (1-4 Hz) jellemezték. A harmadik állapotot nagy amplitúdójú, ritmikus 3.5 Hz-es oszcillációk jellemezték, úgynevezett magas feszültségű orsók (HVS, high voltage spindle). Ez az állapot az állatok 20-30%-ában jelentkezett.

Zona incerta sejtek tüzelése különböző kérgi ritmusok alatt

Harmincöt zona incerta sejtéből vezetünk el uretán altatásban a kérgi LFP egyidejű regisztrációja mellett, majd azokat juxtacelluláris módszerrel megjelöltük.

A sejtek tüzelési frekvenciája jelentős heterogenitást mutatott (0.08 és 41.67 Hz között, átlag 10.58 ± 11.07 Hz).

Deszinkronizált kérgi LFP aktivitás alatt a sejtek általában egyedi akciós potenciálokat produkáltak, tonikus jelleggel. Tüzeléssorozatok igen ritkák voltak, és frekvenciájuk nem haladta meg a 70Hz-t. Ebben az állapotban a zona incerta sejtek tüzelése nem mutatott kapcsolatot a kérgi kérgi LFP, vagy multiunit aktivitással.

Szinkronizált kérgi LFP állapot alatt 20 zona incerta sejtet vizsgáltunk meg. A lassú hullámok megjelenésével a zona incerta sejtek többségének (16/20) tonikus tüzelését csoportokban való (klaszteres) tüzelés váltotta fel, a kérgi lassú hullámokkal korreláltnak. Ennek kérgi LFP általi modulációja sejtenként változott. Szinkronizált kérgi LFP mellett a zona incerta sejtek átlagos tüzelési frekvenciája alacsonyabb volt (-1.53 Hz), mint deszinkronizált kérgi LFP mellett ($6.33-4.79$ Hz). Mindazonáltal kis számú ($n=3$), különlegesen lassú zona incerta sejt növelte a tüzelési frekvenciáját szinkronizált állapotban.

Azon zona incerta sejtek, amelyek aktivitását a kérgi lassú hullámok modulálták, e hullámok mélységi-negatív fázisában tüzeltek. Ilyenkor a modulált zona incerta sejtek tüzelése megközelítette a deszinkronizált kérgi LFP alatti tüzelésüket (3.88 ± 2.79 Hz vs 6.33 ± 4.79 Hz).

Annak érdekében, hogy a zona incerta és a kéreg egymáshoz való időbeli viszonyát megvizsgáljuk, megmértük a zona incerta – kérgi multiunit keresztkorrelogram csúcsának időzítését. Átlagosan a csúcsok 1.09 ± 1.76 ms-nál helyezkednek el, ami a zona incerta sejtek direkt kérgi serkentését valószínűsíti.

A húsz, szinkronizált kérgi LFP alatt elvezetett zona incerta sejtéből négy nem változtatta meg tonikus tüzelését a lassú hullámok megjelenésével. Ezeket a sejteket lapos STA és ZI-kérgi MUA keresztkorrelogram jellemezte.

Kéreg által modulált, és modulálatlan zona incerta sejtek megtalálhatók voltak azonos elektródtrack mentén belül, egymástól kis távolságra, tehát a két populáció nem mutatott térbeli elkülönülést. Deszinkronizált kérgi LFP alatt a tonikus sejtek tüzelése szignifikánsan magasabb volt a ritmikus sejtekénél (19.8 ± 8.81 Hz vs. 6.33 ± 4.79) (p

<0.0001, kétmintás t-próba), és kevésbé csökkentették tüzelésüket a lassú hullámok megjelenésével (16.9% tonikus, 75.8% ritmikus sejtek).

Paroxizmusok hatása a zona incerta sejtekre

A tizennégy Sprague Dawley patkányból hat mutatott magasfeszültségű orsó aktivitást, vagy spontán, vagy ketamin beadása után, melynek során 7 zona incerta sejtől vezetünk el. A magasfeszültségű orsók erősen szinkronizált 3.5 Hz-es kérgi kisülések jellemzik, melyek között az aktivitás szünetel. A 7 elvezetett zona incerta sejtől 5 mutatott szignifikáns modulációt a magasfeszültségű orsók alatt, ebből 3 szignifikánsan növelte tüzelését, és tüzelt megbízhatóan az orsók negatív csúcsain. Két sejt aktívabb volt az orsók pozitív fázisán, míg a maradék két sejt nem modulálódott, annak ellenére, hogy a később visszatérő normál lassú oszcilláció által viszont igen.

Incertális és talamikus aktivitás lassú oszcilláció alatt

A talamokortikális sejtek szerepet játszanak sok kérgi ritmus kialakításában. Összehasonlításként elvezettünk 21 talamokortikális sejtől (különböző magvakból, többek között ventrális poszteromediális, poszterior, ethmoid magok) hasonló kísérleti körülmények között. Deszinkronizált kérgi LFP mellett a talamokortikális sejtek tonikusan tüzeltek (0.29 -16.72 Hz, átlag 11.51 \pm 4.92 Hz), a kérgi aktivitáshoz láthatólag nem kötődően. Tíz talamokortikális sejtet szinkronizált kérgi LFP alatt vezetünk el. Ilyenkor a talamikus sejtek kisüléssorozat (‘burst’) módban tüzeltek. A talamokortikális sejtek mérsékelten szinkronizálódtak a kérgi lassú hullámokhoz. Lassú oszcillációk alatt a tüzelési frekvencia 1.41 \pm 4.92 Hz-re csökkent.

A zona incerta (vagy talamusz) és a kéreg szinkronizációját két mérőszámmal határoztuk meg: a ZI (vagy TC) akciós potenciál által triggerelt kérgi LFP átlag (STA index), és a ZI (vagy TC) – kérgi multiunit keresztkorreláció index (MUA index) (ld. módszerek). A legalacsonyabb szinkronitási indexekkel a négy tonikus ZI sejt (ebben az analízisben a sejtek 20%-a) rendelkezett. A 16 modulált zona incerta sejtől (sejtek 55%-a) a talamokortikális sejtekhez hasonló mértékben szinkronizálódott a kéreggel, míg a maradék 5 (a sejtek 25%-a) nagymértékben meghaladta azokat. Ezek az adatok azt

mutatják, hogy a zona incerta sejtek jelentős része a talamokortikális sejtekhez hasonlóan, vagy azoknál jobban szinkronizálódik a kérgi lassú oszcillációhoz.

Következtetések

- A zona incerta projiciál a talamusz magasabbrendű magjaiba.
- Az incerto-talamikus terminálisok nagyméretűek, többszörös szimmetrikus szinapszist képeznek a talamokortikális sejtek proximális dendritjein.
- Az incerto-talamikus pálya GABAerg.
- A zona incerta sejtek tonikusan, kisüléssorozatok (burst-ök) nélkül tüzeltek, tüzelési frekvenciájuk változatos volt.
- A zona incerta kétfajta sejtípust tartalmaz, a fázikus sejtek hűen szinkronizálódnak a kérgi lassú hullámokhoz, a tonikus sejtek attól függetlenül tüzelnek.
- A fázikus sejtek szinkronizációja a kéreghez összemérhető, vagy meghaladja a talamokortikális sejtékét.
- A kortiko-incertális pálya a zona incerta sejtek dendritjeivel párhuzamosan halad, aszimmetrikus szinapszisokat képes a vastag dendriteken, és azok tüskéin.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Acsády Lászlónak, témavezetőmnek, akinek mérhetetlen türelme és integratív látásmódja nélkül nem jöhetett volna létre ez a dolgozat. Külön köszönet Slézia Andreának, aki a dolgozat fiziológiai részéhez egyenlően hozzájárult. Köszönet Buzsáki Györgynek, akinek laborjában a munka egy részét végeztem. Köszönet az MTA KOKI Talamusz kutatócsoportjának, különösen Bokor Hajnalkának, ezenkívül Bodor Ágnesnek, Faddi Krisztinának, Varga Viktornak, Hangya Balázsnak, és Lengyel Katalinnak.

Saját közlemények listája

az értekezés témájával összefüggő közlemények

Bartho P, Freund TF, Acsady L.

Selective GABAergic innervation of thalamic nuclei from zona incerta.

Eur J Neurosci. 2002 Sep; 16(6): 999-1014

Bartho P, Freund TF, Acsady L.

Differential distribution of the KCl cotransporter KCC2 in thalamic relay and reticular nuclei.

Eur J Neurosci. 2004 Aug;20(4):965-75.

Barthó P, Slézia A, Varga V, Bokor H, Pinault D, Buzsáki G, Acsády L.

Cortical control of zona incerta.

J Neurosci. 2007 Feb 14;27(7):1670-81.

az értekezés témájával össze nem függő közlemények

Csicsvari J, Henze DA, Jamieson B, Harris KD, Sirota A, Bartho P, Wise KD, Buzsaki G.

Massively parallel recording of unit and local field potentials with silicon-based electrodes.

J Neurophysiol. 2003 Aug; 90(2): 1314-23

Hirase H., Creso J., Singleton M., Bartho P., Buzsaki G.

Two-photon imaging of brain pericytes in vivo using dextran conjugated dyes

Glia. 2004 Apr 1;46(1):95-100.

Bartho, P., Hirase, H., Monconduit, L., Zugaro, M., and Buzsaki, G.

Characterization of neocortical principal cells and interneurons by network interactions and extracellular features

J Neurophysiol. 2004 Mar 31

Hirase H., Qian L., Bartho P., Buzsaki G.

Calcium dynamics of the cortical astrocytic network in vivo

PLoS Biol. 2004 Apr;2(4):E96. Epub 2004 Apr 13.

Luczak A, Barthó P, Marguet SL, Buzsáki G, Harris KD.

Sequential structure of neocortical spontaneous activity in vivo.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jan 2;104(1):347-52. Epub 2006 Dec 21.