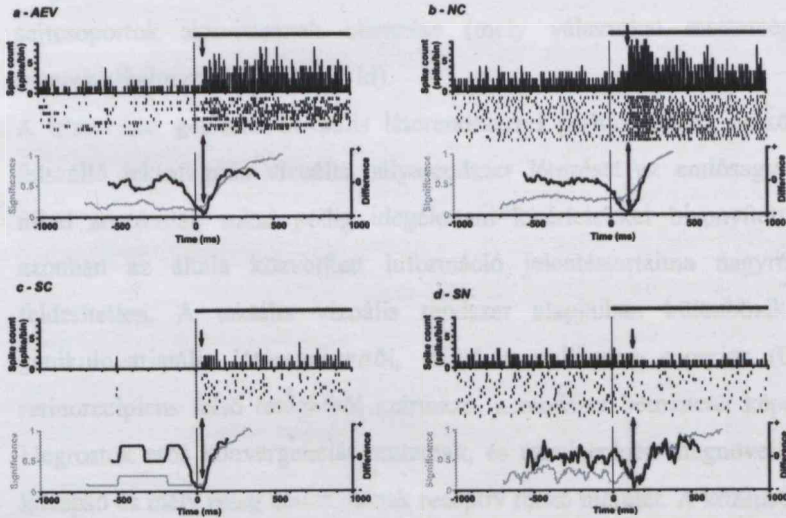


A felszálló tektofugális vizuális rendszer információ- feldolgozásának spaciális és temporális elemzése

Ph.D. értekezés tézisei



Dr. Berényi Antal

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar

Élettani Intézet

Szeged

2009

Bevezetés

Az idegrendszer fő funkciója, hogy adekvát motoros válaszokra fordítsa le a környezet fontos és érdektelen tulajdonságait egyaránt tükröző szenzoros információt, a korábbi tapasztalatok és az aktuális állapot figyelembevételével. Az agy információkódolási algoritmusainak megértéséhez az egyik leghatékonyabb eszköz az egyes idegsejtek vagy sejtcsoportok aktivitásának elemzése (mely válaszokat mesterséges ingerek alkalmazásával váltjuk ki).

A klasszikus genikulo-striális látórendszerrel párhuzamosan működő felszálló tektofugális vizuális pályarendszer létezését az emlősgyaban mind anatómiai, mind pedig ideglettani kísérletekkel bizonyították, azonban az általa közvetített információ jelentésértalma nagyrészt felderítetlen. A tektális vizuális rendszer alapjaiban különbözik a genikulo-striális látórendszertől, mivel a colliculus superior (CS) retinorecipiens felső rétegeiből származó, a rendszer bemenetét képező idegrostok erős konvergenciát mutatnak, és ezzel erősen megnövelik a középső és mély réteg neuronjainak receptív mező méretét. A középső és mély CS rétegekből eredő axonok részben közvetlenül a posterior thalamus irányába sugároznak, részben pedig indirekt módon, a substantia nigra pars reticularisán (SNr) keresztül érik el a diencephalon nucleus suprageniculatusát (Sg). A nucleus caudatus (NC) felé szintén a felszálló tektofugális pályarendszer juttatja el a vizuális információt.

A tektofugális rendszer neuronjainak jellegzetes tulajdonsága, hogy túlnyomóan mozgó ingerekre mutatnak érzékenységet, az álló, statikus objektumok nem, vagy csak kis mértékben módosítják aktivitásukat. További érdekességük, hogy nagyméretű receptív mezejük ellenére

kisméretű, egy meghatározott irányban nagy sebességgel mozgó ingereket preferálnak. A térbeli és időbeli érzékenységük alkalmassá teszi ezeket az idegsejt-csoportokat arra, hogy a motoros viselkedést a folyamatosan változó vizuális környezettel összehangolják.

Egy adott területen található egységes neuroncsoportok együttműködésének megítélése általában a mezőpotenciálok (LFP-k) elemzése útján történik, mivel az egysejtaktivitás mérése nem alkalmas több idegsejt egyidejű működésének leírására, és nem tájékoztat működésük szinkronitásáról. Az LFP analíziséhez rendelkezésre álló eszközök korlátozottak, a mért eredmények értelmezése sokkal nehezebb és bizonytalanabb, mint az egysejtaktivitás esetében. A frekvencia- és populáció-kód mellett a szállított információ harmadik fontos jellemzője annak időbeni megjelenése (késése), az ún. látencia-kód.

A vizuális észlelés során az első szűrő szerepét anatómiai heterogenitásából adódóan a retina tölti be. A foveára eső tárgyak képe nagyságrendekkel nagyobb felbontással kerül továbbításra, mint a perifériás objektumoké. A periférián észlelt tárgyak képét az agy a szakkádikus szemmozgások segítségével a foveára irányítja, segítve ezzel a részletgazdag felismerést. A szakkádok vezérlésében szerepet játszó főbb struktúrák (frontális szemmozgató központ, NC, CS, SNr, okulomotor magok) közül számos a tektális vizuális rendszer része. Joggal vetődik fel, hogy ez a rendszer döntő szerepet játszik-e a periférián látott újszerű események kezdeti észlelésében.

Hikosaka és Wurtz 1983-ban éber viselkedő majmokon figyelte meg és írta le a SNr GABAerg sejteinek aktivitásváltozásait a szakkádok során. Munkájuk a szakkádiniciációs elmélet megalapozását jelentette, mely

szerint a SNr tónusosan aktív GABAerg sejtek gátló hatásának felfüggesztése a kezdeti lépés a szakkádikus szemmozgások engedélyezésében. Elképzelésük később az excitációval (kislézési-frekvencia fokozódással) válaszoló GABAerg sejtek leírásával bővült. Ahhoz hogy az idegrendszer megfelelő hatásfokkal tudja a váratlan eseményekre irányítani a tekintetet (és ezáltal a figyelmet), egy előrejelző rendszerre van szükség, amely megjósolja az objektum mozgásának várható pályáját, és így kiküszöböli a szemmozgás kivitelezéséből eredő idővesztéseket.

Célkitűzések

Kísérleteink célja a felszálló tektofugális pályarendszeren belüli információáramlás vizsgálata volt, annak érdekében, hogy jobban megérthessük a mozgások elemzésében és a kapcsolódó vizuomotoros folyamatokban betöltött szerepét. A konkrét célok az alábbiak voltak:

1. A felszálló tektofugális vizuális rendszer különböző struktúráiban egysejtaktivitás regisztrálása
2. Egy megbízható és automatizálható látencia meghatározó eljárás kifejlesztése és validálása
3. A talamo-kortikális és kortiko-talamikus összeköttetések mentén látencia mérés, temporális moduláció és receptív mező analízissel meghatározni az információáramlás irányát
4. Tanulmányozni a SNr neuronok mozgó ingerekre mutatott vizuális válaszkészségét
5. Modellezni a felszálló tektofugális rendszer szerepét az okulomotor feladatokban.

Anyagok és Módszerek

Extracelluláris egysejt-regisztrálást végeztünk wolfram mikroelektrodával, altatott, immobilizált, mesterségesen lélegeztetett házimacszkákon. Sztereotaxiás célzással és vertikális megközelítéssel értük el a SN-t (Horsley-Clark koordináták: anterior 4-7, lateral 4-6, 4 és 7 közötti mélységben). A GABAerg SNr sejteket fiziológiai tulajdonságaik alapján választottuk ki. Neuronális aktivitást regisztráltunk továbbá a NC-ből (A:12-16, L:4-6.5, D:12-19), az anterior ectosylvius vizuális areából (AEV) (A:11-14, L:12-14, D:13-19) és a posterior thalamus Sg magjából: A:4.5-6.5, L:4-7, D:10-13. Az általunk fejlesztett látencia-meghatározási módszer validálásához 681 idegsejt aktivitását használtuk, melyeket korábbi kísérleteinkben rögzítettünk, számos különböző területről.

Az idegsejtek vizuális receptív mezejének kiterjedését kézilámpa segítségével, szubjektív becsléssel határoztuk meg. A GABAerg SNr neuronok válaszkarakterisztikájának meghatározásához mozgó fényfoltot vetítettünk egy ernyőre, a kísérleti állat látóterébe. Az ingerelt terület lefedte az ellenoldali szem teljes látóterét. A fényfolt átmérője 1 illetve 5 fok volt, melyet 4 tengely mentén, 8 irányban ($0-315^\circ$ 45° -os lépésként), 5 különböző sebességgel mozgattunk (5, 20, 40, 80 és $160^\circ/s$). A neuronok válaszainak temporális moduláció vizsgálatához fényességben szinuszoidálisan modulált rácsmintát mozgattunk a látóterben, mintázatára merőleges irányban. A receptív mezőkön belüli válaszkészség-eloszlás kvantitatív leírásához a látóteret részekre osztottuk, és az idegsejt által leginkább preferált paraméterekkel

rendelkező ingert vetítettük a látótérrészekbe. A használt szinuszoidálisan modulált rácsminták térbeli frekvenciája 0,025 és 0,4 ciklus/fok ($^\circ$) között, időbeli frekvenciája 0,07 és 37,24 ciklus/s (Hz) között mozgott. Az analízis során a neuronok relatív modulációs indexe (MI) is meghatározásra került. Minden egyes stimulust legalább 10 alkalommal mutattuk be, pseudo-random sorrendben. A prestimulus intervallum során az idegsejtek alapaktivitását, a peristimulus időszakban pedig a stimulusra adott válaszokat rögzítettük. A spontán aktivitás hossza a peristimulus időszakon belül definiálja az idegsejt válaszának látenciáját.

A válaszlátencia meghatározása

Az általunk kifejlesztett kettős-csúszóablak eljárás két meghatározott szélességű virtuális időablakot mozgat az idegsejt aktivitásának frekvencia-hisztogramján. A referenciaablak kiválasztja azt a peristimulus aktivitás szegmenst, amely a legnagyobb választ tartalmazza. A második, ún. mintaablakot a peristimulus aktivitás elejétől kezdve lépésenként végigcsúsztatjuk a hisztogramon, és a tartalmát minden lépésben összehasonlítjuk a referenciaablakéval kétmintás t-próba segítségével. A hasonlóság mértékének (p-érték) alakulása jellegzetes szigmoid lefutást mutat. A görbe felszálló szárának első pontja megmutatja a neuronális válasz kezdetét.

A SNr idegsejtek ingerpreferenciájának vizsgálata

A GABAerg SNr neuronok válaszait keskeny, átlapolts időablakokban vizsgáltuk. Minden egyes 100 ms hosszú szegmens (50% átfedéssel) kislülei frekvencia mintázatát Kolmogorov-Smirnov (KS) teszttel

hasonlíttuk össze az alapaktivitással. A stimulált aktivitás erősségének számszerűsítéséhez azon 100 ms hosszú aktivitás darabok nettó tüzelési rátáit összegeztük, ahol a KS teszt szignifikáns eltérést mutatott a spontán aktivitás mintázatától. A SNr neuronokat 8 különböző hangolási osztályba soroltuk egy mesterséges neuronhálózat segítségével, mely rugalmas visszaáramoltatási modellt használt öntanulási módszerként.

Eredmények

A vizuális receptív mezők tulajdonságai

A vizuális receptív mezők mérete mind a Sg-ben, az AEV-ben, a NC-ban, mind pedig a SNr-ben következetesen nagyobb volt 1,8 szteradiánnál. A vizuális receptív mezők mindig magukban foglalták az area centralist. Retinotopikus szerveződésre utaló jelet nem találtunk. A sejtek képesek voltak válaszolni a receptív mezejükön belüli bármilyen pozícióból érkező ingerre, azonban mindegyikük rendelkezett egy-egy kitüntetett hellyel, ahonnan a legerősebb válasz volt kiváltható. Megfigyeltük, hogy ezen maximumhelyek eloszlása egyenletes volt, az idegsejt-populációkon belül a látótér minden szegmense közel azonos súllyal reprezentálódott.

A kettős-csúszóablak módszer és alkalmazása

Összesen 681 idegsejt válaszait analizáltuk a kettős-csúszóablak technika, valamint a Poisson spike-train analízis, a CUSUM eljárás és annak Falzett-féle kiterjesztése által. A szubjektíven megállapított és a különböző mérési technikák által számított látencia-értékek közötti különbséget a mérési eljárás becslési hibájaként (EE) definiáltuk. A technikák közül a kettős-csúszóablak módszer bizonyult a

leghatékonyabbnak, mivel átlagos EE értéke (átlag: 35,98 ms; N = 681; SD: $\pm 58,48$ ms) szignifikánsan kisebb volt (minden esetben $p < 0,01$), mint a Poisson spike-train analízis (átlag: 154,41 ms; N = 576; SD: $\pm 141,81$ ms), a CUSUM eljárás (átlag: 85,26 ms; N = 681; SD: $\pm 120,11$ ms), valamint a Falzett módszer (átlag: 62,87 ms; N = 681; SD: $\pm 99,98$ ms) pontatlansága.

Annak eldöntésére, hogy a Sg és az AEV közötti vizuális információ-áramlásban a kortiko-talamikus vagy a talamo-kortikális irány az elsődleges, 35 Sg és 32 AEV neuron válaszának látenciáit hasonlítottuk össze. A vizsgált Sg sejtek látenciaértékei szignifikánsan rövidebbek voltak az AEV területén mért értékeknél ($p = 0,011$). Az átlagos látenciaérték a Sg neuronok esetében 59,4 ms (N = 35; SD: $\pm 26,28$ ms; tartomány: 35–130 ms), míg az AEV esetében 81,7 ms (N = 32; SD: $\pm 42,48$ ms; tartomány: 35–185 ms) volt, azonban a legrövidebb látencia érték mindkét terület esetében egyaránt 35 ms-nak bizonyult.

A válaszok temporális frekvencia modulációja

A vizsgált 89 NC idegsejt közül 64 (MI > 0,5; 72%) mutatott modulált választ az alkalmazott szinuszoidális rácsmintára. Az átlagos MI 1,12 (N = 64, SD: $\pm 0,79$, tartomány 0,38–5,1) volt. 28 NC sejt választ erősen moduláltak találtak, MI > 1,0 értékkel. Hasonló megoszlást mutattak moduláció tekintetében az AEV neuronok, itt az átlagos MI 1,25-nek (N = 28, SD: $\pm 0,99$, tartomány 0,55–3,94) bizonyult.

A SNr idegsejtek irány- és sebességérzékenysége

Összesen 312 GABAerg SNr neuron vizuális válaszai kerültek feldolgozásra, melyek spontán tüzelési frekvenciája átlagosan 27 spike/s (SD: ± 13 spike/s) volt. Az idegsejtek többsége nagy sebességű ($>40^\circ/s$) ingerekre mutatott érzékenységet. Nem találtunk olyan kitüntetett mozgásirányt, amelyet a populáció összességében előnyben részesített volna. A vizsgált neuronok közül 132 domináns módon excitációval (tüzelési frekvencia fokozódással) válaszolt az ingerekre, ezek átlagos tüzelési rátája a válaszok időtartama alatt 34 spike/s (SD: ± 17 spike/s) volt, amely 21,1%-os frekvencianövekedést jelent. A többi 180, túlnyomóan inhibícióval (tüzelési frekvencia csökkenéssel) válaszoló SNr neuron átlagosan 20 kistűlést (SD: ± 11 spike/s) generált másodpercenként válaszként, amely 18,5%-kal kevesebb az alapaktivitásnál. Tanulmányunk fő megállapítása, hogy a SNr neuronok egy nagy csoportja nem kizárólagosan csak excitációt vagy csak inhibíciót mutatott, hanem az alkalmazott vizuális inger paramétereitől függően mindkét típusú válasz kiváltható volt. A SNr neuronok többsége (61%, $N = 190$) (*egyszerű idegsejtek*), egyszerű stimuluspreferenciát mutatott, vagyis csak egy-egy adott paraméter-kombinációjú vizuális ingerre mutatott szignifikáns aktivitásváltozást. 81 sejt elsődlegesen excitációval, míg 109 neuron egyértelmű inhibícióval reagált. 57 regisztrált SNr idegsejt (*irányhangolt neuronok*) csak egy adott irányba mozgó ingert érzékelt, függetlenül annak sebességétől. Ezek közül 17 fokozta, míg 40 csökkentette aktivitását az inger hatására. 20 vizsgált sejt sebességérzékenységet mutatott (*sebességhangolt neuronok*). Ezen

sejtek közül 7 excitációval, 13 pedig inhibícióval válaszolt egy adott sebességgel mozgó ingerre, függetlenül annak irányától. A maradék 45 sejt (*koncentrikus neuronok*) komplex válasz-karakteristikával rendelkezett. 28 közülük egy adott paraméter-kombinációra aktivitásfokozódással reagált, míg a környező kondíciókra (mind irány, mind pedig sebesség tekintetében) csökkenéssel. Más szóval ezek a sejtek egy egyszerű excitációs hangolási mezővel rendelkeztek, melyet egy inhibitoros domén vett körül. 17 sejt ehhez képest inverz karakteristikával volt jellemezhető, ezek aktivitáscsökkenést kiváltó paraméter-kombinációját serkentő kombinációk vették körül. Nem találtunk korrelációt a sejtek anatómiai elhelyezkedése valamint sebesség- és iránypreferenciájuk között. A sejtek azonos hangolási típust mutattak az alkalmazott inger nagyságától függetlenül, azonban az inger átmérőjének 1° -ról 5° -ra növelésével arányosan csökkent a serkentő és nőtt a gátló válaszkomponensek aránya.

Megbeszélés

A kettős-csúszóablak módszer összehasonlítása egyéb látenciabecslő eljárásokkal

A kettős-csúszóablak módszerünk gyors, reprodukálható, pontos és automatizálható neuronális válaszlátencia-meghatározást tesz lehetővé. Eredményeink szerint a kettős-csúszóablak módszer pontosabb meghatározást eredményez, mint a Poisson spike-train analízis, a CUSUM eljárás vagy a Falzett-féle módszer. További előnye, hogy alkalmas mind az excitációs, mind az inhibíciós válaszok kezdetének meghatározására, mivel csak konformitásváltozást keres a spontán és a stimulált aktivitások között, függetlenül annak irányától. A módszer megbízhatósága és ismételhetősége alkalmassá teszi a kettős-csúszóablak módszert az idegsejtek válaszlátenciájának rutinszerű analízisére.

Az információ áramlásának iránya a tektális látórendszeren belül

A Sg afferenciáját mind a CS középső és mély rétegeiből, mind pedig az AEV területéről kapja. A Sg neuronok átlagos válaszlátenciáját szignifikánsan rövidebbnek találtunk, mint az AEV idegsejtét, azonban a legrövidebb látenciák tekintetében (35 ms) nem mutatkozott különbség. Ezek az eredmények azt sugallják, hogy a vizuális információ elsősorban a Sg felől az AEV felé, talamo-kortikális irányban folyik, azonban a kortiko-talamikus útvonal is aktív.

A Sg, NC és AEV neuronok panoramikus lokátorként működnek. Ez azt jelenti, hogy különböző kislési frekvencia változással válaszolnak a nagy receptív mezőjük különböző részeiből érkező vizuális ingerekre. Így

aktivitásukban képesek kódolni a térbeli vizuális információ pontos helyét. A maximálisan preferált ingerlési helyek egyenletes eloszlást mutattak mindhárom képletben. Ez éles ellentétben áll a genikulo-striatális rendszer retinotopikus szerveződésével, ahol foveális/area centralis túlsúly figyelhető meg. Ezen megfigyeléseink a térbeli vizuális információ megosztott populációs kódjára utalnak a tektofugális felszálló vizuális rendszerben, amely az egyes idegsejtek panoramikusan lokátor képességén alapul. Ez a fajta szerveződés és információ kódolás teheti lehetővé a tektális vizuális rendszer számára a mozgások és újszerű események észlelését a teljes látótéren belül, hiszen ezek az események a perifériás látótérben azonos valószínűséggel fordulnak elő, mint a centrumban. Érdekes eredmény a NC neuronok temporálisan modulált válaszainak leírása. A jelenség megfigyelhető az AEV neuronok esetében is, azonban a két struktúra közvetlen összeköttetésére nincs anatómiai bizonyíték, az indirekt kapcsolatot biztosító Sg idegsejtjei pedig alig mutatnak válaszmodulációt. A moduláció (mint válaszkarakter) rendszeren belüli transzmissziójának felderítése további vizsgálatokat igényel.

A SNr szerepe a szakkádok iniciálásában és az újdonságészlelésben

A GABAerg SNr neuronok képesek mind excitációval, mind pedig inhibícióval válaszolni az alkalmazott vizuális inger paramétereitől függően. A dolgozatban a SNr neuronok vizuális válaszkarakterisztikán alapuló osztályozását mutatjuk be. A sebesség- és irányérzékeny neuronok jelenléte arra utal, hogy a SNr a felszálló tektofugális pályarendszer felől kapja vizuális bemenetét.

A figyelemnek a környezeti újdonságok irányába történő irányítása megköveteli, hogy a szakkádvezérlő rendszer a mozgások paramétereit elemezze. A SN pars compacta újdonságérzékelő dopaminerg neuronjainak funkcionális támogatásával a SNr idegsejteknek lehetőségük van a szakkádok megfelelő reflexes vezérlésére. Elképzelésünk szerint minden SNr neuron a neki megfelelő CS neuronnal áll összeköttetésben, és ezzel az adott CS neuron receptív mezéjében feltűnő ingerre irányítja a figyelmet. Az egyszerű hangolású SNr sejtek együttműködése úgy aktiválja/gátolja a szakkádokat, hogy a figyelem arra a pontra irányuljon, ahol a mozgó stimulus abban az időpontban várható, amikor a szemmozgás már megvalósult. Feltételezzük, hogy a CS okulomotoros neuronjai vektorszerű szemmozgásokat kódolnak, jól meghatározható amplitúdóval és iránnyal. A CS neuronok szubpopulációinak gátlása és serkentése közötti dinamikus kölcsönhatás formálja a végső szemmozgás profilját. A gátlást közvetítő nigrotektális pálya segít ennek az összegzett aktivitásnak az „élesítésében”, részben a SNr sejtek aktivitás-csökkenésével, amely a CS sejtek felszabadítását okozza; részben pedig a SNr tüzelési frekvencia fokozódás általi CS-ra gyakorolt GABAerg gátlás fokozásával. Véleményünk szerint a változatos irány- és sebességérzékenységgel rendelkező SNr sejtek vektorgeometriai alapú parancsokkal dinamikusan alakítják a CS középső és mély rétegeiben található motoros sejtek aktivitását. Az irány- és sebességhangolt, valamint a koncentrikus típusú SNr idegsejtek a szerveződés egy magasabb szintjét képviselik. Abban az esetben, ha nem definiálható a figyelmet felkeltő objektum pontos helye, akkor a kivitelezendő szakkád sem határozható meg egyértelműen. Ennek

eredményeként a SNr több egymáshoz hasonló profilú szakkádot fog engedélyezni, melyet alátámaszt megfigyelésünk, miszerint az inger méretének növelése esetén a SNr sejtek aktivitása következetesen csökkent. Valószínűsítjük, hogy a SNr a nigrotektális pályán keresztül képes a CS aktivitását befolyásolni, és ezzel egy időben gátolni és/vagy elősegíteni a komplex és pontos szakkádok kivitelezésének megindítását.

Köszönetnyilvánítás

Megkülönböztetett köszönettel tartozom Dr. Benedek György tanszékvezető egyetemi tanárnak és Dr. Nagy Attila egyetemi adjunktusnak, akik munkám során mind szakmai, mind emberi oldalról egyaránt egyengették pályámat. Köszönetem fejezem ki Prof. Jancsó Gábornak, aki lehetővé tette részvételemet az Idegtudományok Ph.D. programban. Külön köszönettel tartozom kollégáimnak, Dr. Márkus Zitának, Dr. Paróczy Zsuzsannának, Dr. Rokszin Alice-nak, Dr. Farkas Ágnesnek, Gombkötő Péternek, Dr. Eördegh Gabriellának és Braunitzer Gábornak az éjszakákba nyúló közös kísérleti munkában való segítségért. Tisztelettel köszönöm Dósai Gabriellának és Liszli Péternek a technikai asszisztenciában nyújtott kiváló munkájukat.

Hálás köszönettel tartozom feleségemnek, szüleimnek, testvéremnek és keresztszüleimnek szeretetükért és a biztos családi háttér megteremtéséért.

A tézis alapját képező közlemények jegyzéke

Berényi A., Benedek G., Nagy A. (2007) Double sliding-window technique: a new method to calculate the neuronal response onset latency. *Brain Res.* **1178**:141-148

Eőrdegh G., Nagy A., Berényi A., Benedek G. (2005) Processing of spatial visual information along the pathway between the supragenulate nucleus and the anterior ectosylvian cortex. *Brain Res. Bull.* **67**:281-289.

Nagy A., Paróczy Z., Márkus Z., Berényi A., Wypych M., Waleszczyk W.J., Benedek G. (2008) Drifting grating stimulation reveals particular activation properties of visual neurons in the caudate nucleus. *Eur. J. Neurosci.* **27**:1801-1808.

Egyéb közlemények

Waleszczyk W.J., Nagy A., Wypych M., Berényi A., Paróczy Z., Eőrdegh G., Ghazaryan A., Benedek G. (2007) Spectral receptive field properties of neurons in the feline superior colliculus. *Exp. Brain Res.* **181**:87-98.

Márkus Z., Berényi A., Paróczy Z., Wypych M., Waleszczyk W.J., Benedek G., Nagy A. (2009) Spatial and temporal visual properties of the neurons in the intermediate layers of the superior colliculus. *Neurosci. Lett.* In press.

A tézis alapját képező közlemények kumulatív impact faktora:
(ISI 2007): 7,834

Összes kumulatív impact faktor (ISI 2007): 11,946