

A szenzoros, illetve az azon belül is kiemelt jelentőséggel bíró nociceptív ingerületfeldolgozás folyamatában a gerincvelői hátsó szarv felületes lamináinak (I-IV. laminák) propriospinalis neuronjai alapvető szerepet töltenek be. Ezen laminákból szegmentális és interszegmentális neuronhálózatok, valamint különböző agytörzsi központokból leszálló gátló pályák által már alapvetően modulált információ kerül a supraspinalis központokba. Ezért a nociceptív ingerületfeldolgozásban és antinociceptív mechanizmusokban meghatározó szerepet játszó hátsó szarvi neuronhálózatok vizsgálata a neurobiológiai kutatások egyik fő célpontja. Mi ezen propriospinalis neuronok által kialakított hátsó szarvi neuronhálózatok vizsgálatát tűztük ki célunkul. A propriospinalis neuronokat a lumbalis gerincvelői hátsó szarv I-IV. lamináinak medialis, illetve lateralis részébe adott Phaseolus vulgaris leucoagglutinin (PHA-L), illetve biotinizált dextránamin (BDA) injekciókkal jelölve ipsilaterálisan (1) medio-medialis és (2) latero-lateralis rövid (csupán egy-két szegmentumot magába foglaló) interszegmentális projekciót, (3) egy azonos segmentumon belüli medio-lateralis projekciót, és (4) egy latero-lateralis hosszú (az egész lumbalis intumescentiát átérő) interszegmentális projekciót, ezek mellett pedig (5) a két hátsó szarv lateralis részeit összekapcsoló commissuralis összeköttetést találtunk. A jelen vizsgálati periódusban ezek közül néhány projekció részletes vizsgálatát végeztük el.

A lumbalis gerincvelő két hátsó szarva III-IV. lamináinak leglateralisabb részeit összekötő **commissuralis neuronok** terminalisainak szinaptológiai és neurokémiai vizsgálatai az alábbi új eredményeket hozták. A commissuralis neuronokat PHA-L-al, vagy BDA-val jelölve, a terminalisok glutamát tartalmát vesicularis glutamát transzporter 1, 2, 3 (VGLUT1, VGLUT2, VGLUT3), GABA szintézisét glutaminsav decarboxyláz 65/67 (GAD65/67), glycin tartalmát pedig glycin transzporter 2 (GLYT2) fluoreszcens immunhisztokémiai reakcióval mutattuk ki. Kettős és hármas fluoreszcens immunhisztokémiai jelöléseket alkalmazva konfokális mikroszkópos vizsgálatokat végeztünk. A met-enkephalin tartalmú végződéseket immunogold módszerrel tüntettük fel. Eredményeink azt mutatják, hogy a jelölt axonvégzések háromnegyede GAD65/67 és/vagy GLYT2 immunreaktívnek mutatkozott, VGLUT és met-enkephalin tartalmú jelölt végződést nem találtunk. Az eredményeket a jelölt terminalisok GABA és glycin tartalmának vizsgálatára végzett elektronmikroszkópos immunhisztokémiai elemzés is megerősítette. A jelölt axonvégzések háromnegyede szimmetrikus, a maradék aszimmetrikus szinapszist képezett jelöletlen dendriteken és somán is. Az eredmények arra utalnak, hogy a

lumbalis gerincvelő két hátsó szarva III-IV. lamináinak lateralis részei között jelentős reciprok commissuralis kapcsolat van, és ez a commissuralis rendszer elsődlegesen GABA és/vagy glycin mediált gátló mechanizmuson keresztül fejt ki hatását posztszinaptikus célsejtjeire (J. Comp. Neurol. 480:364-377, 2004).

A *medio-medialis* és *latero-lateralis rövid* interszegmentális projekciók, valamint a *medio-lateralis* intraszegmentális projekció természetének feltárására a fentiekhez hasonló komplex elektronmikroszkópos és immunhisztokémiai vizsgálatokat végeztünk.

A jelölt axon terminalisokat postembedding immunogold technikával GABA-ra és glycinre reagáltatva szinaptológiai és neurokémiai elemzést végeztünk. Azt találtuk, hogy a medio-medialis rövid projekcióban a terminalisok 67,9%-a, a latero-lateralis rövid projekcióban 87,3%-a, a medio-lateralis projekcióban 90,5%-a aszimmetrikus szinapszist képezett a posztszinaptikus targetekkel, melyek mintegy háromnegyede dendritörzs volt. A jelölt terminalisoknak csak kis hányada mutatkozott GABA (2,7-3,6%), vagy glycin (12,9-13,1%) immunreaktívnek. Az eredmények arra utalnak, hogy a jelölt propriospinalis neuronok többsége serkentő, csak kis hányada gátló.

A *medio-lateralis projekció* axonvégződéseinek többsége a célneuronok dendrit törzseivel (80,5%) és dendrit tüskéivel (19,5%) főleg aszimmetrikus szinapszist (90 %) képezett. A jelölt végződések és a posztszinaptikus struktúrák GABA és glycin immunreaktivitását vizsgálva, többségüket negatívnak találtuk mindkét gátló transzmitterre. A jelölt végződések kevesebb mint 16%-a mutatott pozitív GABA és glycin immunreakciót, és a posztszinaptikus struktúrák is hasonlóan alacsony immunreakciót mutattak. A jelölt terminálisoknak csak kis hányada (11,3 %) létesített axo-axonikus kontaktust.

Megvizsgáltuk a propriospinalis neuronok és a primer afferensek közötti kapcsolatokat is. A propriospinalis neuronokat az I-IV. laminák lateralis részébe adott, retrograd jelölő rhodamin-jelzett bitinizált dextránammal (RBDA), a peptiderg primer afferenseket CGRP, a nem-peptidergeket *Bandeiraea simplicifolia* isolectin B4 (BSI-B4) immunfluoreszcens reakcióval tüntettük fel. A konfokális mikroszkópos vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a felszínes laminák (I-II. lamina) RBDA-jelölt propriospinalis neuronjai bemeneteik többségét peptiderg primer afferensektől kapják. Neuronként mintegy 8-10 szoros appozíció látható egy 10x1 µm vastagságú konfokális szeletben. Kevesebb bemenetet (3-4 szoros appozíció/neuron) kapnak a nem-peptiderg primer afferensektől.

Eddigi eredményeink arra utalnak, hogy a medio-lateralis propriospinalis projekciós rendszer alapvetően serkentő hatást gyakorolhat a gerincvelői hátsó szarv szenzoros információ feldolgozást végző neuronhálózataira, bár gátló komponensei is vannak. Az I-II. laminában lévő propriospinalis neuronok főleg peptiderg nociceptív primer afferensektől kapnak közvetlen bemenetet és erős projectiót küldenek a hátsó szarv felületes lamináinak lateralis részébe.

A *medio-lateralis* és a *medio-medialis rövid projectio* propriospinalis neuronjainak további neurokémiai elemzésére újabb vizsgálatokba kezdtünk. A propriospinalis neuronokat a hátsó szarv medialis részébe adott PHA-L-al jelöltük, majd a lateralis areában található jelölt végződéseken, illetve a szomszédos szegmentum medialis areájában található jelölt végződéseken fluoreszcens immunocyto-kémiai jelölést végeztünk. A neuronok GABA termelését GAD65/67, a terminálisok glicin tartalmát GLYT2, glutamát tartalmát VGLUT1 és VGLUT2 fluoreszcens immunhisztokémiai reakcióval mutattuk ki. Kettős és hármas immunfluoreszcens jelöléseket alkalmazva konfokális mikroszkópos elemzést végeztünk. Ezen vizsgálatok jelenleg is folyamatban vannak. Az eddigi eredmények szerint a két rövid projectióban a jelölt terminálisok alapvetően glutamátergnek, vagyis serkentőnek bizonyulnak. A medio-lateralis és medio-medialis projekciók eredményeiről beszámoló közlemények készülöben vannak (befejezés előtt állnak).

A fenti eredmények alapján úgy gondoljuk, hogy a gerincvelő hátsó szarvának felületes lamináiban az ingerületfeldolgozás a következőképpen történhet. Az extero- és interoceptorokból érkező információk a hátsó szarv felületes lamináinak medialis és lateralis részeit egyformán eléri. Mindkét területen lokális neuronkörökön keresztül a rövid projekciót adó interneuronokra tevődnek át. Ezen interneuronok döntő többsége serkentő, de van közöttük kevés gátló is. Csak a szomszédos szegmentumokkal létesítenek kapcsolatot, és ez a kapcsolat reciprok. Az aktivált sejtoszlopban az ingerület nagy valószínűséggel felerősödik. Ha az aktivált sejtoszlop izgalmi szintje elég magas, az impulzusok a rövid propriospinalis rendszerekről áterjednek a latero-lateralis hosszú projekció sejtjeire, valószínűleg a medio-lateralis projekción keresztül. Hogy a hosszú projekcióban pontosan mi történik, azt még nem tudjuk, de feltehetően itt a szenzoros információk további feldolgozáson mennek át. Minthogy a lateralis hosszú projekció 5-7 szegmentumra is kiterjed, távolabbi szegmentumok is bevonódnak az ingerületfeldolgozásba, melyekkel az információt felvevő szegmentum oda-vissza kapcsolatban van. A commissuralis összeköttetéseken keresztül pedig a kétoldali hátsó szarv kölcsönösen befolyásolni képes

egymást. Végül is a rövid, a hosszú és a commissuralis propriospinalis rendszereken keresztül a lumbalis gerincvelő mindkét hátsó szarva teljes terjedelmében résztvehet a szenzoros szignálok feldolgozásában és modulálásában.

Ha ezen komplex információfeldolgozás eredményeként a hátsó szarv lateralis részének izgalmi szintje meghalad egy küszöböt, projekciós neuronok aktiválódhatnak, melyek aztán az ipsi- és contralateralis mellső szarvba vetítenek, motoros válaszokat kiváltva, mások pedig supraspinalis agyi központokba vetítenek, ahol a szenzoros imputok további feldolgozáson mennek át és végül különféle motivációs-affektív viselkedési mintákat generálhatnak, ide értve a fájdalmat és egyéb szenzoros modalitásokat is.

Bár terveztük, a supraspinalisan projiciáló neuronok vizsgálatát a menet közben felmerült műtét- és jelöléstechnikai nehézségek miatt ebben a vizsgálati periódusban nem sikerült elvégezni, ezért ez a következő évek feladata marad.